

**Aus der Augenklinik und Poliklinik  
der Ludwig-Maximilians-Universität München  
Direktor: Prof. Dr. Siegfried Priglinger**

**Alterseffekt der zentralen und peripheren Autofluoreszenz  
am Augenhintergrund**

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

**vorgelegt von  
Martin Dreßler  
aus Weimar**

**- 2016 -**

**Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät  
der Universität München**

**Berichterstatter:**

**Prof. Dr. Aljoscha Steffen Neubauer**

**Mitberichterstatter:**

**Prof. Dr. Dr. Bernhard Lachenmayr**

**Mitbetreuung durch den  
promovierten Mitarbeiter:**

**PD Dr. med. Lukas Reznicek**

**Dekan:**

**Prof. Dr. med. dent. Reinhard Hickel**

**Tag der mündlichen Prüfung: 12.05.2016**

## Inhaltsverzeichnis

<b>1. FRAGESTELLUNG .....</b>	<b>1</b>
<b>2. GRUNDLAGEN.....</b>	<b>3</b>
2.1 AUFBAU UND FUNKTION DES AUGENHINTERGRUNDES .....	3
2.2 ALTERUNGSPROZESSE AM AUGENHINTERGRUND.....	5
2.3 AUTOFLUORESZENZ .....	6
2.4 AMD: ENTSTEHUNG, DIAGNOSTIK UND THERAPIE .....	8
2.5 NEUE BEMÜHUNGEN ZUR FRÜHDIAGNOSTIK.....	11
2.6 AUGENHINTERGRUND UND KARDIOVASKULÄRE RISIKOFAKTOREN .....	12
<b>3. MATERIAL UND METHODEN .....</b>	<b>15</b>
3.1 PROBANDEN .....	15
3.1.1 Einschlusskriterien .....	15
3.1.2 Ablauf .....	16
3.1.3 Fragebogen.....	16
3.2 OPTOMAP IMAGING .....	16
3.2.1 Entwicklung und allgemeine Anwendung .....	17
3.2.2 Prinzipien der Laseruntersuchung.....	17
3.2.3 Prinzipien der Autofluoreszenzmessung .....	19
3.3 OCT-UNTERSUCHUNG .....	20
3.3.1 Entwicklung und allgemeine Anwendung .....	21
3.3.2 Prinzipien der OCT .....	21
3.4 AUSWERTUNG .....	23
3.4.1 Bildanalyse .....	24
3.4.2 Auswertung Fragebogen.....	27
3.4.3 Statistische Auswertung .....	27
<b>4. ERGEBNISSE .....</b>	<b>28</b>
4.1 VERTEILUNG DER AF AM FUNDUS .....	28
4.1.1 Auswertung der Sektoren 1-8.....	28
4.1.2 Auswertung des Gesamtfeldes und der Papille.....	31
4.2 KORRELATION DER AUTOFLUORESZENZ MIT DEM ALTER .....	32
Lineare und quadratische Korrelation zwischen AF und Alter .....	32
Vergleich der FAF für die Gruppe unter und über 66 Jahren.....	41
Die Differenz aus zentraler und peripherer FAF und Korrelation der Papille .....	43
4.3 DIE KORRELATION DER FAF MIT KARDIOVASKULÄREN RISIKOFAKTOREN.....	45
<b>5. DISKUSSION .....</b>	<b>48</b>
<b>6. ZUSAMMENFASSUNG .....</b>	<b>60</b>
<b>ABBILDUNGSVERZEICHNIS .....</b>	<b>64</b>

<b>TABELLENVERZEICHNIS .....</b>	<b>66</b>
<b>LITERATURVERZEICHNIS .....</b>	<b>67</b>
<b>EIDESSTATTLICHE VERSICHERUNG .....</b>	<b>73</b>
<b>DANKSAGUNG.....</b>	<b>74</b>

## Abkürzungsverzeichnis

AF	Autofluoreszenz
AMD	Altersbedingte Makuladegeneration
AS	Aminosäure(n)
BMI	Body-Mass-Index
Bzw.	Beziehungsweise
CNV	choroidale Neovaskularisationen
CV	kardiovaskulär
CVE	kardiovaskuläre Erkrankung
d.h.	das heißt
DNS	Desoxyribonukleinsäure
FAF	Fundus-Autofluoreszenz
HNE	Hydroxynonenal
KHK	koronare Herzkrankheit
LF	Lipofuszin
LMU	Ludwig-Maximilians-Universität
MDA	Malondialdehyd
OCT	Optische Kohärenz Tomographie
PDT	Photodynamische Therapie
POS	Photoreceptor Outer Segments (Photorezeptoraußensegmente)
RF	Risikofaktor(en)
ROS	Reactive Oxygen Species (reaktive Sauerstoffverbindungen)
SD	Standard Deviation (Standardabweichung)
SD-OCT	Spectral Domain OCT
SLO	Scanning-Laser-Ophthalmoscope
u.a.	unter anderem
v.a.	vor allem
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor (vaskulärer endothelialer Wachstumsfaktor)
Z.n.	Zustand nach

## 1. Fragestellung

Die Spiegelung des Augenhintergrundes ist eine wichtige Untersuchung in der Ophthalmologie. Sie ermöglicht dem Augenarzt einen Überblick über den Zustand des Fundus zu erlangen und leistet einen wichtigen Beitrag für die Diagnostik einer Vielzahl von ophthalmologischen Erkrankungen. Dabei können elektronische Ophthalmoskope nicht nur ein semirealistisches Farbbild von der Netzhaut erzeugen, sondern auch deren Autofluoreszenz, nach Anregung mit einem Laser, bildlich wiedergeben. Der Augenhintergrund besitzt durch die Einlagerung verschiedener Moleküle, die als Fluorophore bezeichnet werden, Autofluoreszenzeigenschaften, die sich im Laufe des Älterwerdens verändern können.

Die Messung der Fundusautofluoreszenz (FAF) kann in der Augenheilkunde ergänzend genutzt werden, um die altersbedingte Makuladegeneration (AMD) zu diagnostizieren, denn diese geht in der Regel mit Veränderungen des FAF-Signals einher<sup>1,2</sup>. Einige Studien liefern Hinweise dafür, dass eine Erhöhung der FAF der klinischen Manifestation einer AMD sogar vorausgehen kann<sup>3</sup>. Dies lässt die Erfassung der Fundusautofluoreszenz (AF) als wertvolle Ergänzung für die Beurteilung von Alterungsprozessen der Netzhaut erscheinen. Möglicherweise könnte die Früherkennung degenerativer Erkrankungen wie der AMD hierdurch in Zukunft noch verbessert werden. Dies wäre ein wichtiger Beitrag für den Erfolg neuer Therapieansätze, wie etwa dem Einsatz von VEGF-Hemmern.

Jedoch gibt es bisher nur eine geringe Anzahl an Studien, in denen die FAF auch quantitativ erfasst wurde und in denen versucht wurde ein Profil für die physiologische Entwicklung der FAF mit dem Alter zu entwerfen. Dies wäre jedoch notwendig um Risikopatienten anhand von altersspezifischen Abweichungen zu identifizieren. Auch haben sich Studien über die FAF bei AMD-Patienten bisher meist auf den zentralen Bereich über der Makula fokussiert, wohingegen es nur sehr begrenztes Wissen über periphere FAF-Veränderungen gibt. Dies liegt auch daran, dass herkömmliche bildgebende Geräte nur einen eingeschränkten Einblick in periphere Fundusbereiche gewähren können. Durch das Weitwinkel Scanning Laser Ophthalmoskop „Optomap 200Tx“ können jedoch auch die peripheren Gebiete des Fundus bis über den Äquator hinaus in einer einzigen Aufnahme dargestellt werden<sup>4</sup>.

Dies macht das „Optomap 200Tx“ geeignet, um Autofluoreszenzeigenschaften der Netzhautperipherie zu erfassen und mit denen der Makula zu vergleichen.

Bisher ist weitgehend ungeklärt, wie sehr Alterungsprozesse der Netzhaut nicht nur den zentralen Bereich der Makula, sondern auch die Netzhautperipherie betreffen und wie sich zentrale und periphere FAF zueinander verhalten. Es gibt jedoch erste Hinweise dafür, dass auch die periphere FAF bei AMD-Patienten erhöht sein kann<sup>5</sup>. Dies könnte bedeuten, dass deren Erfassung für die retinale Diagnostik von Nutzen werden könnte.

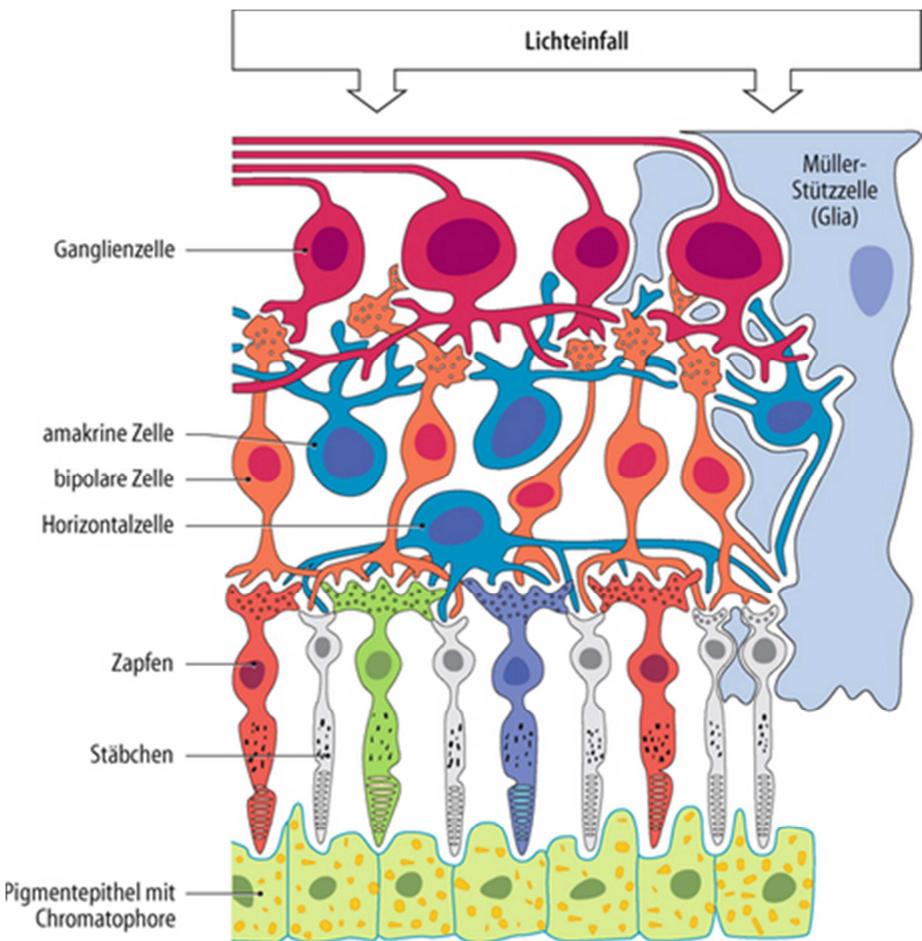
Ziel dieser Arbeit ist es daher, die Autofluoreszenz am Fundus über zentralen und peripheren Gebieten zu erfassen und miteinander zu vergleichen. Dabei soll insbesondere der Fragestellung nachgegangen werden, ob eine Alterung des retinalen Pigmentepithels darstellbar ist und wie sich die Fundusautofluoreszenz im Laufe des Alterns über peripheren und zentralen Netzhautabschnitten entwickelt. Eine hypothesengenerierende Nebenfrage dieser Studie ist, ob Risikofaktoren für Arteriosklerose einen Einfluss auf die Autofluoreszenz haben können. Mit diesem Ziel wurde die FAF älterer Probanden ohne AMD in einer Querschnittsstudie erfasst, um Hinweise auf die Normwerte einer alternden Bevölkerung zu erlangen. Diese sind notwendig um in Zukunft pathologische Abweichungen der FAF in Abhängigkeit vom Alter genauer erkennen zu können.

## 2. Grundlagen

### 2.1 Aufbau und Funktion des Augenhintergrundes

Das Auge ist mechanistisch gesehen am ehesten mit einem Fotoapparat oder einer Kamera vergleichbar. Während die vorderen Abschnitte (Kornea und Linse) der Bündelung der Lichtstrahlen dienen, enthält der hintere Augenabschnitt mit der Netzhaut den eigentlichen Ort, wo Lichtreize aufgenommen, weiterverarbeitet und an die Sehrinde des Gehirns übermittelt werden<sup>6</sup>. Somit kann die Netzhaut (Retina) in einem gewissen Sinne mit dem Fotofilm einer Kamera verglichen werden.

Die Retina ist entwicklungsgeschichtlich ein vorgeschobener Teil des Gehirns und ist komplex aus mehreren Schichten aufgebaut. Sie enthält Ganglienzellen, bipolare Zellen, amakrine Zellen und Horizontalzellen, die der Signalverarbeitung dienen; Stäbchen und Zapfen, die als Photorezeptoren der Lichtaufnahme dienen; Müllerzellen, die lichtleitende Funktion besitzen und als Gliazellen der Homöostase dienen<sup>7,8</sup> sowie Pigmentepithelzellen, die neben der Lichtabsorption vielfältige Aufgaben übernehmen, wie die Regenerierung von 11cis-Retinal (ein Aldehyd des Vitamin A<sub>1</sub>) und die Entsorgung abgestoßener äußerer Scheibchen der Photorezeptoren<sup>9,10</sup>. Die Axone der Ganglienzellen bilden den N. opticus.



**Abbildung 1: Schematischer Schnitt durch die Netzhaut. (Aus: Grehn F, 'Augenheilkunde' 2012, 31. Auflage, Springer Medizin Verlag Heidelberg, Abbildung 14.1, S. 216)**

Die inneren zwei Drittel der Retina werden von den Ästen der A. centralis retinae mit Blut versorgt, während das äußere Drittel, mit dem Pigmentepithel und den Photorezeptoren, von den Gefäßen der Aderhaut (Choroidea) ernährt wird<sup>11</sup>. Als Augenhintergrund wird dabei der in der Ophthalmoskopie sichtbare Teil der hinteren Innenwand des Auges bezeichnet. Er enthält die Netzhaut, den Sehnervenkopf (Papille), Gefäße und den gefäßfreien gelben Fleck (Makula lutea) mit seiner grubenförmigen Einsenkung (Fovea zentralis). Die Rotfärbung des Augenhintergrundes entsteht dabei durch das Durchscheinen des Blutes in den Gefäßen der Aderhaut<sup>12</sup>. Die Fovea zentralis enthält ausschließlich Photorezeptoren und ist der Ort des schärfsten Sehens. In ihr findet sich die höchste Dichte an Zapfen, jedoch keine Stäbchen. Während die Zapfen für die Farbwahrnehmung zuständig sind (photopisches Sehen, Tagsehen), können mit den Stäbchen nur Helligkeitsunterschiede wahrgenommen werden (skotopisches Sehen, Nachtsehen). Die höchste Dichte an Stäbchen befindet sich im parafovealen Bereich um dann

Richtung Peripherie kontinuierlich abzunehmen. Die Netzhaut besitzt etwa 6 Millionen Zapfen und 120 Millionen Stäbchen<sup>11</sup>.

## **2.2 Alterungsprozesse am Augenhintergrund**

Mit dem Älterwerden lässt auch das Sehvermögen natürlicherweise nach. Die Linse wird trüber und büßt an Elastizität ein, so dass die meisten Menschen über 50 Jahren eine Altersweitsichtigkeit (Presbyopie) entwickeln<sup>13</sup>. Doch auch am Augenhintergrund selbst finden charakteristische Altersveränderungen statt. So konnte gezeigt werden, dass der N. opticus ca. 4000 bis 5400 Nervenfasern pro Jahr verliert.<sup>14,15</sup> und dass die peripapillären und perifovealen Gefäße ab einem Alter von 40 – 55 Jahren in ihrer Anzahl kontinuierlich abnehmen<sup>16,17</sup>. Ein wesentlicher Alterungsprozess betrifft das retinale Pigmentepithel (RPE). Dort Akkumulieren im Verlauf des Lebens intrazelluläre Lipofuszingranula<sup>18,19</sup>. Ansammlungen dieser Granula im RPE können als ein Kennzeichen des Alterns betrachtet werden<sup>20,21,22</sup>. Lipofuszin (LF) wird deshalb auch als Alterspigment bezeichnet. Es wird in vielen Zellen des Körpers gebildet, besonders aber in stoffwechselaktiven, postmitotischen Zellen, wie Kardiomyozyten, bestimmten Neuronen und dem RPE. Es ist ein gelbbrauner Komplex aus oxidierten Proteinen und Lipiden, die in der Zelle nicht mehr abgebaut werden können. In vielen Zellen entsteht LF als Endprodukt der Autolyse verbrauchter Zellorganellen. Für das RPE hingegen ist die Phagozytose der Photorezeptoraußensegmente (POS) die Hauptquelle für die intrazelluläre Ansammlung von Lipofuszin<sup>23,24</sup>.

Die lebenslange Licht-Exposition ist für die permanente Peroxidation von mehrfach ungesättigten Fettsäuren in den Membranen der Photorezeptoren verantwortlich. Die oxidierten Fettsäuren sind sehr reaktiv und führen zu intrazellulären Protein-Veränderungen<sup>25</sup>. Durch Peroxidationsreaktionsketten entstehen toxische Endprodukte wie Malondialdehyd (MDA) und Hydroxynonenal (HNE). Diese sind reaktive elektrophile Aldehyde und erzeugen wiederum oxidativen Stress für die Zelle. Sie sind leicht dazu fähig, kovalente Verbindungen mit Proteinen einzugehen, indem sie mit deren Cystein-, Lysin- und Histidinresten reagieren. Dadurch verändern sie die Proteinstruktur und können deren Funktion behindern<sup>26,27</sup>. Deshalb ist die Phagozytose der abgestoßenen POS, mit ihrem hohen Anteil an MDA und HNE, eine

Hauptquelle für Materialresistenz in den Lysosomen des RPE, die schließlich zur Bildung von Lipofuszingranula führt<sup>28</sup>.

Es gibt Hinweise dafür, dass LF die normalen Zell-Funktionen im RPE hemmt und selbst zu einer Quelle für oxidativen Stress im RPE wird<sup>29,30,31</sup>. So konnte von einer Arbeitsgruppe um Florian Schutt im Jahr 2003 gezeigt werden, dass ein Großteil der Proteine in Lipofuszingranula des RPE durch kovalente Verbindungen mit MDA oder HNA modifiziert war<sup>32</sup>. Weiterhin konnte auch gezeigt werden, dass in LF-Ansammlungen durch Photoinduktion Superoxidanionen und Wasserstoffperoxid generiert werden. Diese sind reaktive Sauerstoffspezies (ROS) und können ungesättigte Fettsäuren peroxidieren. Dadurch ändert sich die Fluidität biologischer Membranen und die Aktivität der membranständigen Transportproteine. ROS können zudem die Peptidketten in Proteinen aufbrechen und mit den AS-Seitenketten reagieren. Viele dieser Veränderungen können in der Zelle nicht mehr rückgängig gemacht werden und der Anteil der modifizierten Proteine steigt auf diese Weise mit dem Alter an<sup>33,34,35</sup>. Die Generierung der ROS in LF ist auch von der Wellenlänge des einfallenden Lichtes abhängig. Besonders der Einfall von blauem Licht in einer sauerstoffreichen Umgebung begünstigt unter Anwesenheit von LF die Entstehung von ROS und MDA<sup>36</sup>! Es wird vermutet, dass diese Prozesse eine wichtige Rolle bei der Entwicklung der RPE-Dysfunktion spielen und letztlich zu DNS-Schäden und dem Zelltod führen<sup>37,38</sup>. Lipofuszin akkumuliert im RPE im Laufe des Lebens intrazellulär und kann schließlich bis zu 19% des Zytoplasmavolumens bei über 80-Jährigen ausmachen<sup>39</sup>.

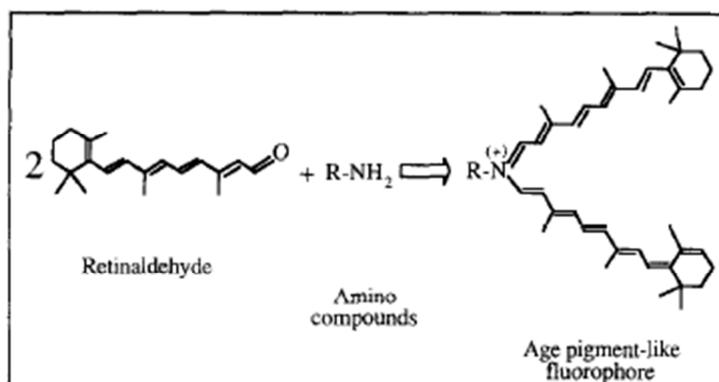
## 2.3 Autofluoreszenz

Als Autofluoreszenz bezeichnet man die natürliche Emission von Licht durch bestimmte Komplexe, nachdem sie durch eine äußere Lichtquelle angeregt worden sind. Die autofluoreszenten Strukturen enthalten verschiedene als Fluorophore bezeichnete chemische Moleküle, die nach ihrer Anregung Licht re-emittieren können. Fluorophore enthalten typischer Weise mehrere aromatische Gruppen. Werden ihre Elektronen durch Licht in geeigneter Wellenlänge angeregt, gelangen die Elektronen in der äußeren Atomhülle auf ein höheres Energieniveau. Wenn sie von diesem wieder auf den Ausgangszustand zurückfallen wird Energie frei, die

wiederum als abgestrahltes Licht sichtbar wird. Dieses ist in der Regel langwelliger als das Licht, durch welches die Fluorophore angeregt werden<sup>40</sup>.

Auch der Fundus des Auges verhält sich autofluoreszent und re-emittiert Licht zwischen 500 – 750 nm mit einem Maximum bei 590 – 630 nm<sup>41</sup>. Für die Induktion der AF wurde von Delori et al zunächst Laserlicht einer Wellenlänge von 510 nm empfohlen, da kurzwelliges Licht in stärkerem Ausmaß vom Fundus absorbiert wird<sup>42</sup>. Die Autofluoreszenz zeigt ein charakteristisches Verteilungsmuster am Fundus. So ist sie innerhalb der Fovea minimal und 7° bis 15° entfernt von der Fovea im paravofealen Bereich am stärksten ausgeprägt, um dann Richtung Peripherie wieder abzunehmen. Somit entspricht die topografische Verteilung der Fundus-AF der Verteilung der Stäbchen auf der Netzhaut. Die *in vivo* AF-Spektra des Augenfundus sind in Übereinstimmung mit denen, die *ex vivo* im RPE gemessen werden konnten. Das Spektrum der FAF, seine Korrelation mit dem Alter und seine topografische Verteilung lässt den Rückschluss zu, dass Lipofuszin hauptverantwortlich für die FAF des Auges sein muss<sup>43,44,45</sup>. LF re-emittiert Licht im Bereich von 500 – 640 nm (Gelb-Orange), wenn es mit UV-Licht oder blauem Licht angeregt wird<sup>45,46,47</sup>.

Ein Bestandteil des LF im RPE ist das Di-Retinoid A2E<sup>48</sup>, welches als wichtigstes Fluorophore in den LF-Aggregaten gilt. Der Name A2E leitet sich davon ab, dass dieses Molekül aus 2 Vitamin-A-Aldehyden und 1 Ethanolamin synthetisiert werden kann. A2E besitzt 2 Pyridin-Ringe und entsteht ursprünglich in den Außensegmenten der Photorezeptoren<sup>49,50</sup>.



**Abbildung 2: Synthese und Struktur des Moleküls A2E (Aus: Dazhong Yin. Biochemical basis of lipofuscin, ceroid and age pigment-like fluorophores. Free Radical Biology & Medicine, 1996;21(6):871-888)**

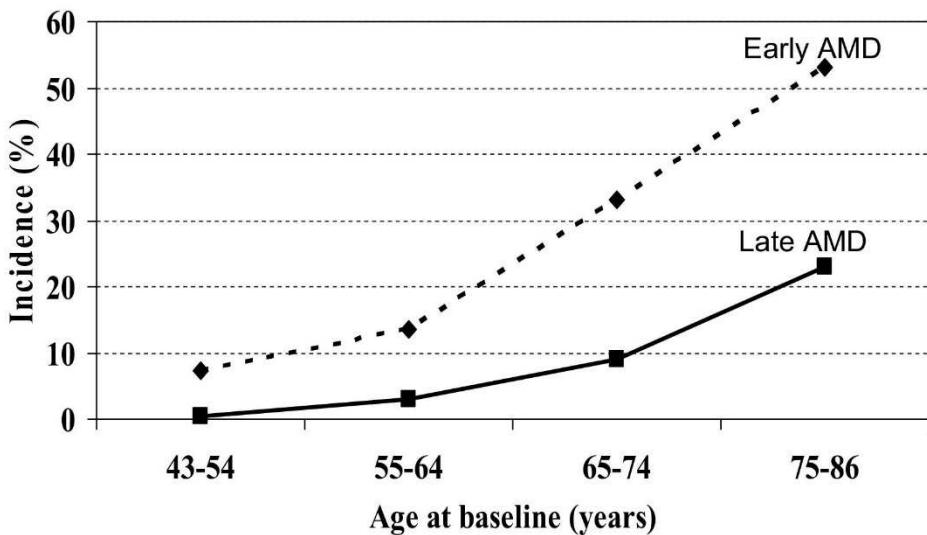
Jedoch lassen sich in der Netzhaut auch andere Moleküle mit Autofluoreszenzeigenschaften finden. Advanced Glycation End Products (AGE's) können durch Glykierung langlebiger Proteine wie Kollagen und Elastin entstehen. Sie besitzen ebenfalls AF-Eigenschaften und finden sich mit zunehmendem Alter häufig extrazellulär<sup>51,52</sup>. Ein weiterer Komplex mit Autofluoreszenzeigenschaften ist Melanofuszin. Dieses geht durch die Verbindung zwischen Melanin und Lipofuszin in den Zellen des RPE hervor. Melanin ist Hauptbestandteil der Melanosomen und verleiht dem RPE seine schwarze Farbe. Das LF befindet sich hingegen in den Phagosomen. Werden die RPE-Zellen jedoch durch eine Überladung mit POS gestresst, so fusionieren die Melanosomen mit den Phagosomen und es entsteht Melanofuszin. Dessen AF-Muster ist zwar nicht identisch mit dem von LF allein, da jedoch Überschneidungen auftreten, kann es auf FAF-Bildern schwierig voneinander zu unterscheiden sein<sup>53,54</sup>.

Spektrophotometrische Messungen haben gezeigt, dass die Autofluoreszenz im Alter von 65 Jahren 2,8x größer ist, als im Alter von 25 Jahren<sup>55</sup>. Die Tatsache, dass die FAF ab einem Alter von 70 Jahren tendenziell wieder abnimmt, kann den progredienten Verlust an RPE durch Apoptosevorgänge widerspiegeln<sup>56</sup>. Denn mit dem Verlust des RPE geht auch der Verlust des intrazellulären LF einher.

## **2.4 AMD: Entstehung, Diagnostik und Therapie**

In der westlichen Welt ist die Altersbedingte Makuladegeneration die häufigste Erblindungsursache bei Menschen über 65 Jahren. Sie ist definiert als eine Degeneration der Retina im Bereich des Gelben Flecks bei über 50-Jährigen. Ihre Inzidenz und Prävalenz steigt mit zunehmendem Alter an. Bei über 75-Jährigen sind AMD-typische Fundusveränderungen zu etwa 30% vorhanden, wobei beide Augen unterschiedlich schwer betroffen sein können. Die AMD ist eine chronische, multifaktorielle Erkrankung, deren Entstehung und Voranschreiten neben dem Alterungsprozess durch Rauchen, Bluthochdruck, falsche Ernährung und erhöhte Sonnenlichtexposition gefördert wird. Auch genetische Faktoren spielen eine Rolle. Es bestehen Unterschiede in der Prävalenz zwischen verschiedenen Ethnien sowie zwischen Männern und Frauen (Kaukasier sind häufiger betroffen als Schwarze, Frauen sind häufiger betroffen als Männer). Durch die Alterung unserer Bevölkerung

muss in Zukunft mit einer zunehmenden gesamtgesellschaftlichen Bedeutung der AMD gerechnet werden<sup>57,58,59</sup>.



**Tabelle 1: Vergleich der altersbezogenen Inzidenz für Frühformen und Spätformen der AMD**  
 (Aus: Ronald Klein, Barbara E K Klein, Michael D Knudtson et al. Fifteen-Year Cumulative Incidence of Age-Related Macular Degeneration. *Ophthalmology* 2007;114:253–262)

Frühe klinische Symptome, die dem Erscheinen einer AMD vorangehen sind eine herabgesetzte Farbkontrastwahrnehmung und eine verringerte Lichtempfindlichkeit im zentralen Gesichtsfeld<sup>60,61,62</sup>.

Man geht heute davon aus, dass der Entwicklung einer AMD Funktionseinschränkungen des RPE vorangehen, die möglicherweise durch die Akkumulierung von LF induziert werden<sup>63</sup>. Frühformen der AMD sind gekennzeichnet durch Pigmentverschiebungen und durch das Auftreten von Drusen. Drusen sind hyaline Ansammlungen extrazellulären Materials, die viel LF enthalten und sich zwischen RPE und Bruch-Membran bilden, sobald das RPE die POS nicht mehr adäquat verarbeiten kann. Mit dem Fortschreiten der Krankheit treten häufig Gebiete der RPE-Atrophie und nachfolgende Degeneration der Photorezeptoren auf<sup>64</sup>. Bei etwa 10% der Patienten kommt es durch Lücken in der Bruch-Membran und im RPE erst zum Eindringen von Flüssigkeit (Ödembildung) und später zum Einwachsen choroidaler Gefäße, welche die Tendenz zu Einblutungen aufweisen (feuchte AMD). Bei 90% der Patienten bleibt die trockene Form der Erkrankung ohne Ödembildung bestehen (trockene AMD)<sup>65</sup>. Während die subjektive visuelle Wahrnehmung bei den Frühformen der Erkrankung nicht beeinträchtigt sein muss, nehmen die Patienten

später einen grauen Schatten im zentralen Gesichtsfeld wahr. Dadurch fällt das Erkennen von Gesichtern schwer. Die Sehschärfe ist deutlich reduziert, was u.a. das Lesen stark beeinträchtigt. Bei der feuchten AMD kann das Sehvermögen auch plötzlich durch eine zentrale Einblutung absinken, die einen ophthalmologischen Notfall darstellt<sup>65</sup>.

Die Diagnose „AMD“ kann durch die Klinik und verschiedene Untersuchungen, wie den Amsler-Gitter-Test, die Ophthalmoskopie, die Fluoreszenzangiographie und die optische Kohärenztomographie gestellt werden. Ziel der Therapie ist es, Komplikationen zu vermeiden und das Fortschreiten der Erkrankung zu verhindern oder zu verlangsamen. Für die Behandlung der feuchten Makuladegeneration haben sich die therapeutischen Möglichkeiten seit der Einführung von VEGF-Inhibitoren deutlich verbessert. VEGF ist ein Botenstoff, dessen Freisetzung hauptverantwortlich für das Wachstum der choroidalen Neovaskularisationen ist. Zudem fördert VEGF die kapillare Membranpermeabilität und begünstigt so die Entstehung subretinaler Ödeme<sup>66</sup>. VEGF-Inhibitoren sind monoklonale Antikörper, die extrazelluläres VEGF binden und dadurch die Ödembildung und Neoangiogenese stoppen können. Allerdings müssen sie in der akuten Phase der Neovaskularisation angewendet werden und in der Regel 8x intravitreal im Abstand von jeweils 4-6 Wochen injiziert werden. Dieses vorgehen kann für den Patienten sehr unangenehm sein, ist jedoch notwendig um eine hohe Konzentration an der Netzhaut zu erreichen und systemische Nebenwirkungen zu vermeiden. Ein derzeit eingesetzter VEGF-Inhibitor mit Zulassung für die Therapie der feuchten AMD ist Ranibizumab (Lucentis®). In einigen Fällen kann durch die Anti-VEGF-Therapie das Sehvermögen erhalten oder sogar verbessert werden. Andere Therapieoptionen wie die PDT, Laserkoagulation oder subretinale Chirurgie dienen der Verödung/Entfernung der CNV und sind teils speziellen Fragestellungen vorbehalten<sup>65,67,68</sup>. Für die Behandlung der trockenen AMD sind bis heute keine effektiven Therapiemaßnahmen bekannt, da sich Altersveränderungen nicht umkehren lassen. Es gibt lediglich Empfehlungen, die ein Voranschreiten der trockenen AMD bremsen sollen. Dazu zählt das Rauchen aufzuhören, ein guter Sonnenschutz in Form von hochwertigen Sonnenbrillen und die Einnahme von Nahrungsergänzungsmitteln.

## **2.5 Neue Bemühungen zur Frühdiagnostik**

Die neuen Therapiemöglichkeiten tragen zu einer besseren Prognose für die feuchte Form der AMD bei. Dies bedeutet aber auch, dass erhöhte Ansprüche an eine gute Diagnostik gestellt werden müssen, denn zum einen ist der Therapieerfolg entscheidend davon abhängig, wie früh AMD-typische Veränderungen erkannt werden und zum anderen werden regelmäßige Therapiekontrollen im Verlauf der Behandlung notwendig<sup>1</sup>. Dieser Bedarf hat zur kontinuierlichen Verbesserung vieler Diagnoseverfahren geführt. Ein neuer Ansatz in der Früherkennung der AMD könnte die Beurteilung der Fundusautofluoreszenz sein.

LF ist hauptverantwortlich für die AF des Augenfundus und akkumuliert im Verlauf des Älterwerdens innerhalb der Netzhaut (siehe Kapitel 2.3 „Autofluoreszenz“). Es konnte gezeigt werden, dass Patienten mit bekannter Makuladegeneration eine signifikant stärkere LF-Akkumulation zeigen, als gesunde Kontrollpersonen in der gleichen Altersgruppe<sup>69</sup>. Von noch größerer Bedeutung kann jedoch sein, dass es Hinweise darauf gibt, dass erhöhte LF-Anreicherungen auch der Manifestation einer AMD vorangehen können. Dies würde bedeuten, dass die Messung der FAF nützlich sein könnte, Risikopatienten für die Entwicklung einer AMD zu identifizieren, noch bevor morphologische Korrelate der AMD, wie Drusen oder Pigmentverschiebungen auftreten<sup>3,70,71,72</sup>.

In bisherigen Studien wurde der Focus der FAF-Messungen auf den hinteren Pol gelegt. Mit der Entwicklung des Weitwinkel-Scanning-Laser-Ophthalmoskop (SLO) durch die Firma Optos ergibt sich jetzt auch die Möglichkeit, die Autofluoreszenz der Netzhautperipherie in die Messungen mit einzubeziehen, wie es z.B. durch Reznicek et al geschehen ist<sup>5</sup>. Dies könnte die Aussagekraft der FAF in Zukunft noch verstärken, wenn man zeigen kann, dass sich degenerative Prozesse im Bereich der Makula zu einem gewissen Grad auch in Veränderungen der Peripherie widerspiegeln.

Zusätzlich können bei Patienten mit bereits bestehender AMD verschiedene Autofluoreszenzmuster identifiziert werden, die mit dem klinischen Stadium der AMD in Verbindung stehen und somit von prognostischem Nutzen sein können<sup>73,74</sup>. So

sind Gebiete der geographischen Atrophie häufig von Gebieten mit erhöhter AF umgeben, was wiederum deren bevorstehenden Zelltod ankündigen kann<sup>75,76</sup>.

## **2.6 Augenhintergrund und kardiovaskuläre Risikofaktoren**

Gefäß- und Herzkreislauferkrankungen gehören heute in Deutschland zu den häufigsten Todesursachen und verursachen hohe Kosten im Gesundheitswesen. Zugrunde liegende pathologische Prozesse sind die Ausbildung von Mikroangiopathien und Makroangiopathien durch Atherosklerose. Für die Entwicklung kardiovaskulärer Erkrankungen sind verschiedene Risikofaktoren identifiziert worden, die in den folgenden beiden Tabellen gezeigt werden.

<b>Major Independent Risk Factors</b>
Cigarette smoking
Elevated blood pressure
Elevated serum total (and LDL) cholesterol
Low serum HDL cholesterol
Diabetes mellitus
Advancing age

**Tabelle 2: Hauprisikofaktoren für die Manifestation der Koronaren Herzkrankheit. (Aus: Grundy, Scott. Assessment of Cardiovascular Risk by Use of Multiple-Risk-Factor Assessment Equations. Circulation, Volume 100(13), 28 September 1999, pp 1481-1492)**

**TABLE 2. Other Risk Factors**

Predisposing risk factors
Obesity*†
Abdominal obesity†
Physical inactivity*
Family history of premature coronary heart disease
Ethnic characteristics
Psychosocial factors
Conditional risk factors
Elevated serum triglycerides
Small LDL particles
Elevated serum homocysteine
Elevated serum lipoprotein(a)
Prothrombotic factors (eg, fibrinogen)
Inflammatory markers (eg, C-reactive protein)

**Tabelle 3: Weitere Risikofaktoren für die Manifestation der Koronaren Herzkrankheit. (Aus: Grundy, Scott M. MD. Assessment of Cardiovascular Risk by Use of Multiple-Risk-Factor Assessment Equations. Circulation, Volume 100(13), 28 September 1999, pp 1481-1492)**

Bisher wurden verschiedene Risikoprofile entwickelt, die auf der Basis von Alter, Geschlecht, Blutdruck, Blutwerten, Raucherstatus und internistischer Grunderkrankungen, das persönliche Risiko für das Erleiden eines kardiovaskulären Ereignisses in den nächsten 10 Jahren errechnen. In Deutschland wird häufig der ESC-SCORE, der Framingham-Score und der PROCAM-Score für die kardiovaskuläre Risikoabschätzung angewandt. Mit diesen Systemen kann der Arzt Schätzungen für das individuelle Herzinfarktrisiko seiner Patienten in den kommenden Jahren erhalten. Bisher fließen nur internistische Grunddaten in diese Prognosescores ein. Es wäre jedoch denkbar, dass die Beurteilung des Augenhintergrundes eine zusätzliche Ergänzung für die kardiovaskuläre Risikoprädiktion sein kann und die Genauigkeit der Vorhersage für den Patienten hierdurch noch verbessert werden könnte. Kardiovaskuläre Prozesse wie Diabetes und Hypertonus spiegeln sich nämlich ebenso an den retinalen Gefäßen wieder wie am Herzen. Der Augenhintergrund bietet hier jedoch den Vorteil, dass er durch die Funduskopie direkt eingesehen werden kann und als eine Art „optisches Fenster der Gefäße“<sup>77</sup> genutzt werden kann.

In der Vergangenheit ist vor allem der Vorhersagewert der arterio-venösen (a.-v.) Ratio der retinalen Gefäße untersucht worden. So wurde durch Hubbard et al gezeigt, dass eine gute Korrelation der a.-v. Ratio mit dem Blutdruck besteht<sup>78</sup>. Auch direkte mikrovaskuläre Veränderungen werden am Fundus sichtbar und spiegeln den Schaden durch Bluthochdruck und Atherosklerose wieder. Retinale Mikroaneurysmata, Einblutungen, Cotton-Wool-Flecken und harte Exsudate treten bei älteren Menschen mit Diabetes und Bluthochdruck auf und sind dann assoziiert mit einem erhöhten Risiko für die Folgeerkrankungen Schlaganfall, KHK, Herzinsuffizienz und Nephropathie<sup>79,80</sup>. Umgekehrt konnten neuere populationsbasierte Studien zeigen, dass frühe Zeichen der Retinopathie mit einem erhöhten Risiko für die Entwicklung von Diabetes und Bluthochdruck einhergehen, und zwar unabhängig von den klassischen kardiovaskulären Risikofaktoren<sup>81,82,83</sup>. Derzeit besteht die Herausforderung darin, dass klinische Zeichen der Retinopathie zwar einen hohen Vorhersagewert haben, dafür aber selten zu finden sind, während die a.-v. Ratio fast immer durchführbar ist, aber nur wenig zur Verbesserung der kardiovaskulären Risikoprädiktion beiträgt. In dieser Studie wurde deshalb als Nebenfrage untersucht, ob kardiovaskuläre Risikofaktoren ebenso mit Veränderungen der Autofluoreszenz am Fundus einhergehen können.

## 3. Material und Methoden

### 3.1 Probanden

#### 3.1.1 Einschlusskriterien

Ziel dieser Studie ist es gewesen, Probanden ab einem Alter von 50 Jahren zu erfassen, die aus dem Normalkollektiv der Bevölkerung stammen und keine bekannte AMD aufweisen. Eine Katarakt führte hingegen nicht zwangsläufig zum Ausschluss aus der Studie, sofern sie nicht so stark ausgeprägt war, dass sie die Darstellbarkeit der Retina beeinträchtigte. Die Papille und die Makula mussten hierbei noch deutlich am Augenhintergrund zu erkennen sein. Pigmentierte Veränderungen, wie Aderhautnävi oder maligne Melanome, führten dann nicht zum Ausschluss aus der Studie, wenn sie nicht das Auswertungsgebiet berührten.

Die Folgende Grafik zeigt die Altersverteilung in unserem Probandenkollektiv:

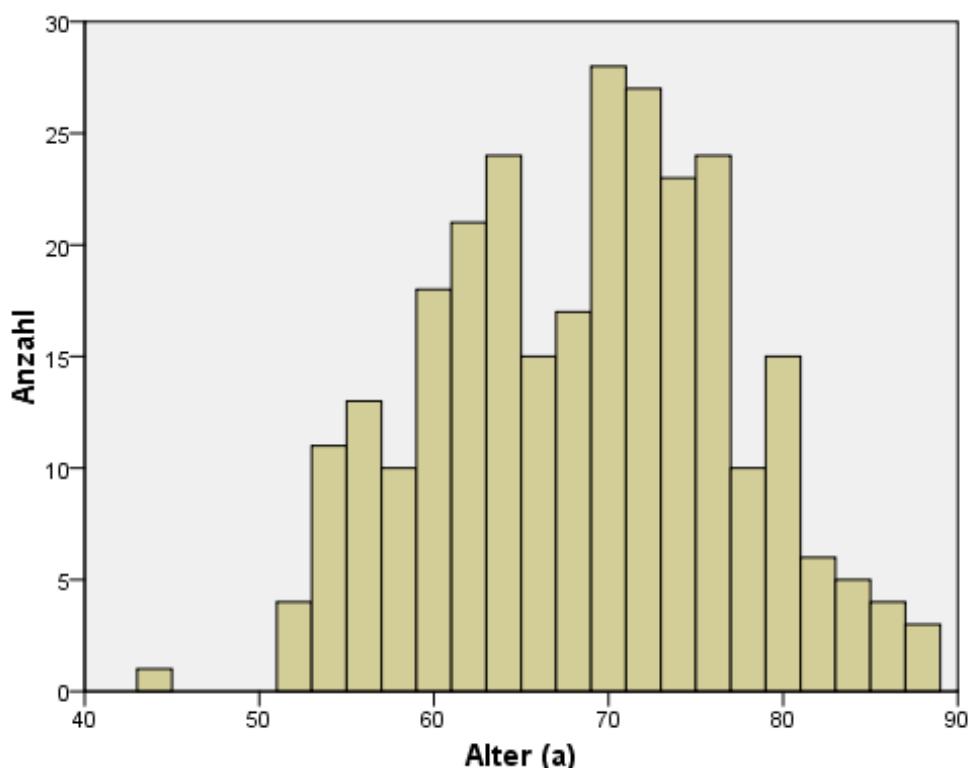


Abbildung 3: Anzahl und Altersverteilung der Probanden. Altersangabe in Jahren

### **3.1.2 Ablauf**

Nach der Erfassung internistischer Basisdaten, wurden beide Augen der Probanden mit dem Optomap 200Tx untersucht. Von jedem Auge wurde zuerst eine semirealistische Farbaufnahme des Augenhintergrundes durchgeführt. Anschließend erfolgte die Messung der Fundusautofluoreszenz mit dem Optomap 200Tx. Durch die Weitwinkelauflnahmetechnik war keine Pupillendilatation bei den Probanden nötig, die Untersuchung erfolgte non-mydiatisch und ohne Kontakt. Von beiden Augen der Probanden wurden in der Regel mehrere Bildaufnahmen angefertigt, von denen die beste ausgewählt wurde. Wenn das OCT zur Verfügung stand, wurde zusätzlich eine optische Kohärenztomografie mit Darstellung der einzelnen Netzhautschichten durchgeführt. Der OCT-Scann konnte dann als zusätzliches Kriterium dienen, um eine beginnende AMD in Zweifelsfällen mit noch größerer Sicherheit auszuschließen. Insgesamt dauerte die Befragung und Untersuchung eines Probanden etwa 15 -20 Minuten.

### **3.1.3 Fragebogen**

Vor jeder ophthalmoskopischen Untersuchung wurden grundlegende Daten wie Alter, Geschlecht und kardiovaskuläre Risikofaktoren erfragt. Hierfür wurden die Studienteilnehmer nach dem Vorhandensein eines bekannten Hypertonus, der Einnahme von blutdrucksenkenden Medikamenten, Rauchen, Größe, Gewicht, Diabetes, erhöhtem Gesamtcholesterin, einem Z.n. kardiovaskulären Ereignissen und dem Auftreten von kardiovaskulären Ereignissen unter Blutsverwandten befragt. Aus der angegebenen Größe und dem Gewicht wurde der BMI errechnet. Es erfolgte keinerlei klinische internistische Untersuchung, alle Angaben wurden ausschließlich anamnestisch erhoben.

## **3.2 Optomap Imaging**

In der Augenklinik der LMU wird ein Weitwinkel-Scanning-Laser-Ophthalmoskop der Firma Optos für die Aufnahme des Augenhintergrundes verwendet. Bei dem Modell handelt es sich um das Optomap 200Tx, mit welchem Farbbilder und Autofluoreszenzaufnahmen erstellt werden können. Das Optomap bildet ein größeres Gebiet der peripheren Netzhaut ab als andere Geräte für die retinale Bildgebung und

wird häufig für Screening-Zwecke eingesetzt<sup>84</sup>. Durch die Weitwinkelaunahmetechnik ist dieses Gerät besonders geeignet, um einen Vergleich der Peripherie mit dem Zentrum des Augenhintergrundes vorzunehmen.

### 3.2.1 Entwicklung und allgemeine Anwendung

Während mit der Untersuchung des Augenhintergrunds durch einen gewöhnlichen Augenspiegel nur ein Bereich von etwa 30° einsehbar ist, ist durch den Einsatz spezieller Spiegeltechniken im Optomap 200Tx ein Bereich von 200° und damit ca. 82% des Augenhintergrundes einsehbar<sup>4</sup>.



Abbildung 4: Sichtbereich in der einfachen Augenspiegelung (Aus: <http://www.optos.com/en/Professionals/General-ophthalmology/Product-description>; Stand: 24.07.14)

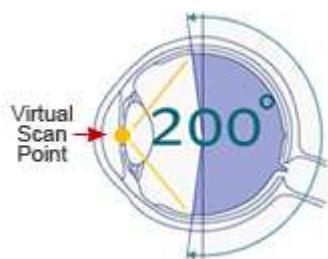
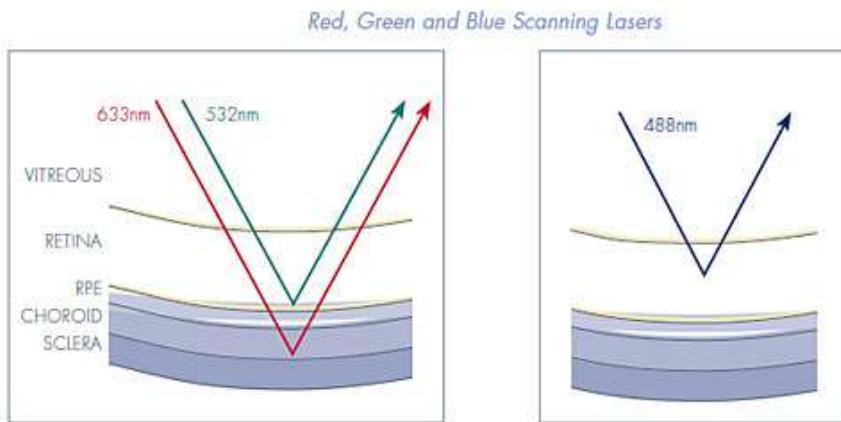


Abbildung 5: Sichtbereich mit dem Optomap 200Tx (Aus: <http://www.optos.com/en/Professionals/General-ophthalmology/Product-description>; Stand: 24.07.14)

### 3.2.2 Prinzipien der Laseruntersuchung

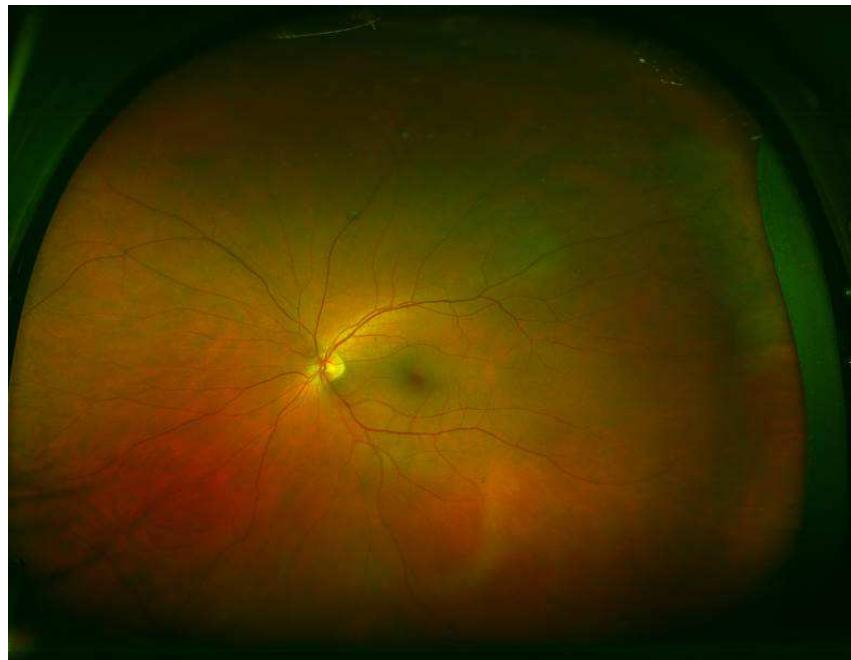
Das Optomap 200Tx besitzt einen grünen Niedrigenergielaser der Wellenlänge 532 nm und einen roten Laser der Wellenlänge 633 nm. Während der grüne Laser an der Grenzfläche zwischen Retina und RPE reflektiert wird und somit v.a. die sensorische Retina darstellt, dringt der rote Laser tiefer in den Augenhintergrund ein

und wird erst an der Grenzfläche zwischen Choroidea und Sklera vollständig reflektiert. Er ist somit geeignet um RPE und Choroidea darzustellen<sup>85</sup>. Zusammen kann durch die Kombination des Grün- und Rot-Lasers der Augenhintergrund semirealistisch dargestellt werden (Zwei-Laser-Wellenlängen-Untersuchung).



**Abbildung 6: Schematische Darstellung der Eindringtiefe des roten, grünen und blauen Lasers in die Netzhaut (Aus: <http://www.optos.com/en/Professionals/General-ophthalmology/Product-description>; Stand: 24.07.14)**

Das Optomap 200Tx benötigt für die Erstellung eines Bildes weniger als 1 Sekunde, so dass die Bilder in der Regel verwacklungsfrei entstehen. Die Aufnahmen können in Myosis erfolgen, selbst durch enge Pupillen bis zu einem Durchmesser von 2mm hindurch. Die optische Auflösung liegt bei  $14 \mu\text{m}^4$ . Das Optomap 200Tx erzeugt hochauflösende Bilder mit 3900X3072 Pixeln/Scann und 17-21 Pixeln/Grad. Mit einer speziellen dazugehörigen Software (Vantage V2) kann der Benutzer tief in das Bild hineinzoomen um auch kleine Läsionen besser zu beurteilen<sup>86</sup>.



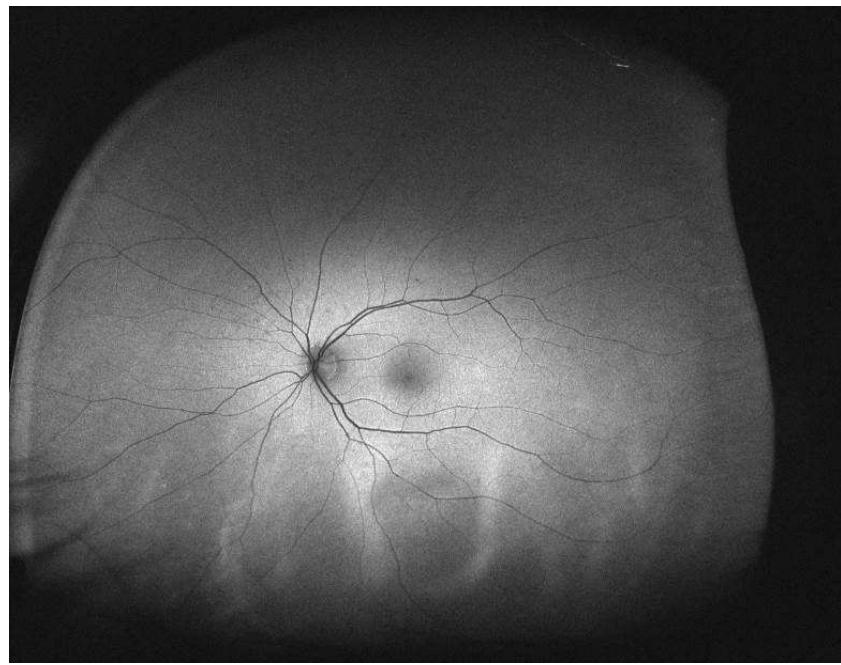
**Abbildung 7: Bildgebung mit dem Optomap 200Tx, semirealistische Darstellung des Augenhintergrundes, aus eigener Aufnahme**

### 3.2.3 Prinzipien der Autofluoreszenzmessung

Werden Lipofuszinablagerungen in der Retina durch Laserlicht angeregt, so fangen sie an zu fluoreszieren, d.h. sie emittieren ihrerseits wiederum Licht eines bestimmten Spektrums. Lipofuszin akkumuliert mit dem Alter in der Retina und ist u.a. mit der Entstehung der AMD assoziiert<sup>87</sup>. Es konnte gezeigt werden, dass die AF in Gebieten mit RPE-Dysfunktion erhöht ist, während sie in Gebieten mit bereits stattgefundenem Verlust der Photorezeptoren deutlich erniedrigt ist<sup>88</sup>.

LF akkumuliert vor dem Untergang der Zellen, hat jedoch kein sichtbares Korrelat in der gewöhnlichen Fundusaufnahme. Durch die Messung der Autofluoreszenz gibt es hingegen die Möglichkeit, diese metabolischen Veränderungen der Netzhaut sichtbar zu machen. Während FAF-Veränderungen bereits für Frühformen der AMD gezeigt wurden, konnten sie nicht notwendigerweise in Zusammenhang mit dem Auftreten von Drusen gebracht werden<sup>89</sup>. Dennoch kann die FAF-Bildgebung detaillierte Informationen über die Verteilung von Lipofuszin im RPE liefern und erlaubt die Dokumentation von Bereichen mit RPE-Verlust bei Patienten die von degenerativen Netzhauterkrankungen betroffen sind<sup>42,90,91</sup>.

Für das Optomap 200Tx wird zur Anregung der Fundusautofluoreszenz grünes Laserlicht der Wellenlänge 532 nm verwendet. Es konnte gezeigt werden, dass dieses gegenüber dem in anderen Geräten verwendeten blauen Laserlicht (488 nm) den Vorteil hat, dass es eine höhere Spezifität für Lipofuszin besitzt und somit weniger Interferenz durch die Kollagen-induzierte-Autofluoreszenz entsteht<sup>92</sup>. Auch wird der grüne Laser im Bereich der Makula nicht wie der blaue Laser vom Makulapigment absorbiert, was eine bessere Darstellung von zentralen Läsionen ermöglicht und vor einer Überbewertung schützt<sup>93</sup>. Durch den Breitband-Detektor des Optomap 200Tx wird das emittierte FAF-Signal zwischen 570 und 780 nm gemessen, was dem AF-Spektrum von Lipofuszin entspricht<sup>87</sup> und seine Intensität in unterschiedlichen Graustufen dargestellt. Niedrige Grauwerte (dunkel) entsprechen niedrigen FAF-Intensitäten, hohe Grauwerte (hell) entsprechen hohen FAF-Intensitäten.



**Abbildung 8: Bildgebung mit dem Optomap 200Tx, Autofluoreszenzaufnahme des gleichen Auges wie in Abb. 7**

### **3.3 OCT-Untersuchung**

Die Durchführung einer optischen Kohärenztomographie (OCT) ist für die Fragestellung nicht zwingend erforderlich gewesen. Dennoch wurde versucht bei möglichst vielen Probanden im Anschluss an die Bildgebung durch das SLO eine

zusätzliche OCT-Untersuchung beider Augen durchzuführen. Hierdurch sollte die Sicherheit erhöht werden, mit der Frühstadien von bereits bestehender AMD ausgeschlossen werden können. Trotz der hohen Auslastung des OCT-Scanners im klinischen Routine-Betrieb war es mir möglich bei 45% der Probanden zusätzlich eine OCT durchzuführen und so Netzhautpathologien sicher auszuschließen.

### **3.3.1 Entwicklung und allgemeine Anwendung**

Die optische Kohärenztomografie ist ein Verfahren, mit dem die einzelnen Schichten der Netzhaut (Nervenfaserschicht – Ganglienzellschicht - innere plexiforme Schicht – innere Körnerschicht – äußere plexiforme Schicht – äußere Körnerschicht – RPE) nicht invasiv dargestellt werden können. Da das Verfahren schnell durchzuführen ist und viele Informationen über die morphologische Beschaffenheit der Netzhaut liefert, wird es in der Klinik häufig angewandt, z.B. wenn es um die Beurteilung einer fraglichen Makuladegeneration geht<sup>94</sup>. Die ersten in vivo OCT-Aufnahmen der Retina wurden 1993 veröffentlicht<sup>95,96</sup>. Im OCT-Scanner können zusätzlich auch Fluoreszenz-Angiographien für die Darstellung von Neovaskularisationen oder vaskulären Lecks durchgeführt werden und die AF bestimmt werden (bei dem Modell Spectralis der Firma Heidelberg wird hierfür ein blauer Laser verwendet).

In der Augenklinik der LMU wird ein OCT-Scanner der Firma Heidelberg verwendet. Es handelt sich um das „Spectralis“-Modell.

### **3.3.2 Prinzipien der OCT**

Das Grundprinzip in der OCT beruht auf der so genannten „Niedrigkohärenz-Interferenzmessung“. Durch extrem stark gepulste Laser im Femtosekunden-Bereich kann Licht mit Interferenzeigenschaften im  $\mu\text{m}$ -Bereich erzeugt werden, während Interferenz bei normalem Licht nur auf Strecken im Bereich von Metern auftritt. Das Messprinzip der OCT beruht darauf, dass dieses gepulste Laserlicht an Strukturen der Retina reflektiert wird und in Interferenz mit Licht tritt, dass an einem Referenzarm durch einen Spiegel reflektiert wurde. Die Stärke der Interferenz wird im Scanner registriert. Gebiete der Netzhaut, die viel Licht reflektieren erzeugen größere Interferenz als solche, die wenig Licht reflektieren. Auf diese Weise kann eine Schichtaufnahme der Netzhaut erstellt werden<sup>97,98</sup>. Durch die OCT wird der

Augenhintergrund am hinteren Pol durch einen Laser im Nah-Infrarot-Bereich abgetastet, was eine Schädigung der Retina durch das geringe Energieniveau verhindert.<sup>99</sup> Die Auflösung der OCT-Bilder ist höher, als die von Ultraschallbildern, weil es auf Licht anstelle von Schallwellen basiert, und dieses durch deutlich niedrigere Wellenlängen gekennzeichnet ist. Mit der OCT ist gewissermaßen eine Art der „optischen in vivo Histologie“<sup>101</sup> möglich. Mit keiner anderen nicht-invasiven Bildgebungstechnik können derzeit höhere Auflösungen erzielt werden<sup>100</sup>. Die Technik kann biologisches Gewebe aber nur bis zu einer Eindringtiefe von 1-2 mm unter der Oberfläche darstellen, da in größeren Tiefen das reflektierte Licht auf seinem Weg zurück zu stark gestreut wird, um es noch verrechnen zu können.

Das in dieser Studie benutzte Spectralis-OCT der Firma Heidelberg verwendet die so genannte Spektral-Domänen-Technik für die Untersuchung. Hierfür werden die verschiedenen Wellenlängen des reflektierten Lichtes durch lichtbrechende Elemente auf einen Detektorstreifen verteilt, wodurch die Informationen des gesamten vorhandenen Lichtspektrums genutzt werden können. Diese Technik macht die OCT-Aufnahme schneller.

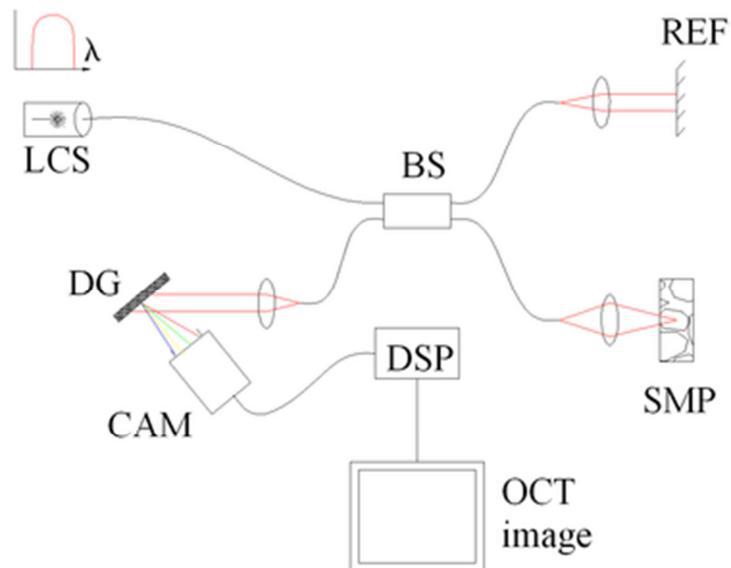
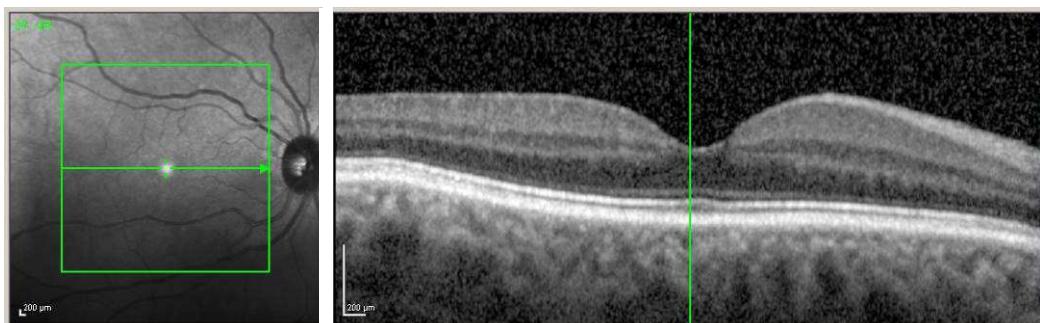


Abbildung 9: schematischer Aufbau des Spektral-Domänen-OCT (Aus: <http://en.wikipedia.org/wiki/File:Fd-oct.PNG>, Stand: 07/2014)

Im Spectralis wird die optische Kohärenztomographie zusätzlich mit einer Fundusbildgebung durch ein konfokales SLO kombiniert. In einem Modus der

„Active-Eye-Tracking“ genannt wird, tastet ein 2. Laser kontinuierlich den Fundus ab und erfasst kleinste Augenbewegungen. Er dient als Referenz um den 2. Strahl zur Aufnahme der Schnittbilder an der gewünschten Stelle zu halten und Bewegungsartefakte zu vermeiden. Diese Technik dient auch dazu in Folgeuntersuchungen exakt die gleiche Stelle am Fundus re-examinieren zu können. Wird ein bereits bekannter Patient wieder aufgerufen, so legt das Spectralis die Schnitte automatisch durch die gleiche Ebene, wie bei der Voruntersuchung. Der Fundus dient dabei als „Landkarte“ für die Orientierung<sup>101</sup>.



**Abbildung 10: Optische Kohärenz tomographie. Schnittbildgebung durch die Makula. (Spectralis-OCT, Heidelberg Engineering, Heidelberg, Deutschland). Eigene Aufnahme**

Die OCT erlaubt eine detaillierte Beurteilung der retinalen Binnenstruktur am hinteren Pol, während das Weitwinkel-SLO „Optomap 200 Tx“ den größten Teil des Fundus bis weit in die Peripherie hinein darstellen kann. Derzeit wird bei Visusstörungen unklarer Genese der kombinierte Einsatz eines SLO und der OCT empfohlen<sup>1</sup>.

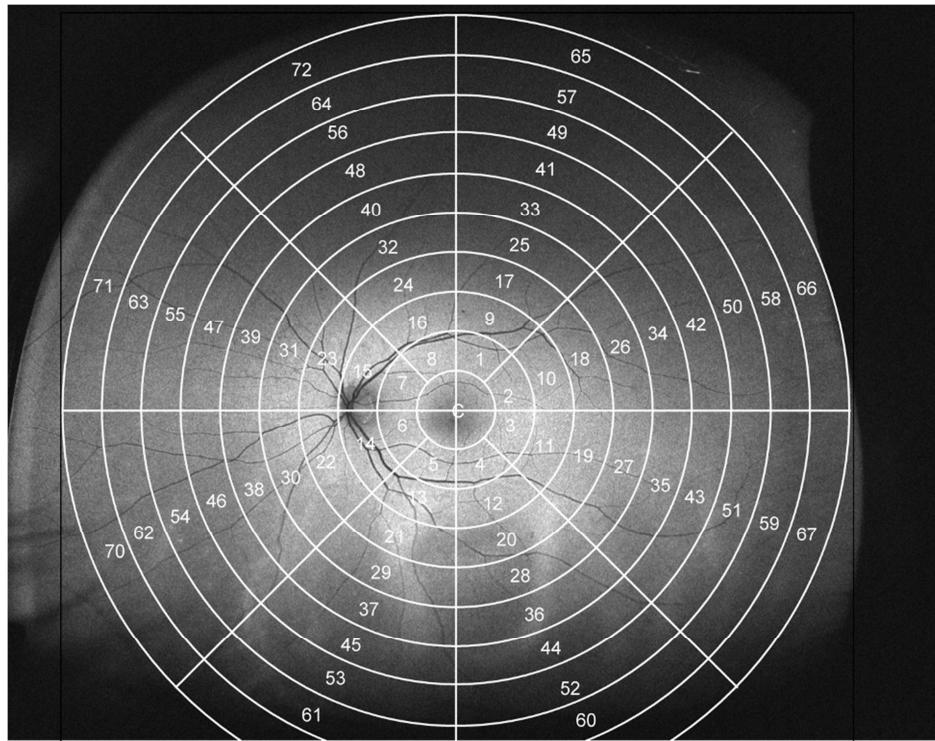
### **3.4 Auswertung**

Insgesamt haben 203 Probanden an dieser Studie teilgenommen. Ursprünglich konnten 358 Augen mit dem Optomap 200Tx untersucht werden (die Aufnahme beider Augen war nicht immer bei allen Probanden möglich). Von jedem Auge wurden Aufnahmen im Farbmodus und im AF-Modus durchgeführt, von denen jeweils die beste Aufnahme gespeichert wurde. Von insgesamt 161 Augen konnten zusätzliche OCT-Aufnahmen angefertigt werden, was einem Anteil von 45% entspricht. Nach dem Begutachten der Bilder wurden 33 Aufnahmen wegen schlechter Bildqualität verworfen, so dass noch 325 Fundusbilder (jeweils in Farb- und AF-Aufnahme) übrig blieben. Diese wurden eingehend auf Kennzeichen für eine

bestehende AMD untersucht, wie Pigmentverschiebungen und Drusen am hinteren Pol. Für die Einstufung wurde die semirealistische Farbaufnahme und das AF-Bild des Optomap 200Tx verwendet und sofern vorhanden zusätzlich die OCT-Bildgebung. Bei einfach zu beurteilenden Bildern (Aufnahmen ohne jegliche Pathologie oder mit ausgeprägter AMD) wurde die Zuordnung durch den Doktoranden übernommen, bei allen schwieriger zu beurteilenden Bildern erfolgte die Zuordnung durch Dr. med. Lukas Reznicek. Auf diese Weise konnten von den 325 Fundusaufnahmen 44 Augen mit einer Frühform der AMD diagnostiziert werden, so dass noch 281 Fundusbilder im AF-Modus übrig blieben, die der Auswertung zugeführt werden konnten.

### **3.4.1 Bildanalyse**

Die weiteren Schritte bestanden darin, die AF-Aufnahmen mit einem standardisierten Grid (erhältlich unter <http://www.aojournal.org>) zu überlagern. Dies wurde realisiert, indem die Bilder in Power Point 2010 geöffnet wurden und dann das Grid darüber gelegt wurde. Danach wurde das auf diese Weise neu entstandene Bild mit dem Grid als unkomprimierte Tiff-Datei gespeichert. Das Grid wurde dabei so über der Fundusaufnahme ausgerichtet, dass die Makula im Zentrum des Grids zum Liegen kam, während die Sehnervenpapille bei einem linken Auge in den Feldern 14 oder 15 zum Liegen kam und bei einem rechten Auge in den Feldern 10 oder 11. Vor dieser Studie haben bereits andere wissenschaftliche Autoren auf dieses Grid zur standardisierten Auswertung von Fundusbildern zurückgegriffen. So z.B. Reznicek et al in seinem 2012 erschienen Paper<sup>5</sup>.

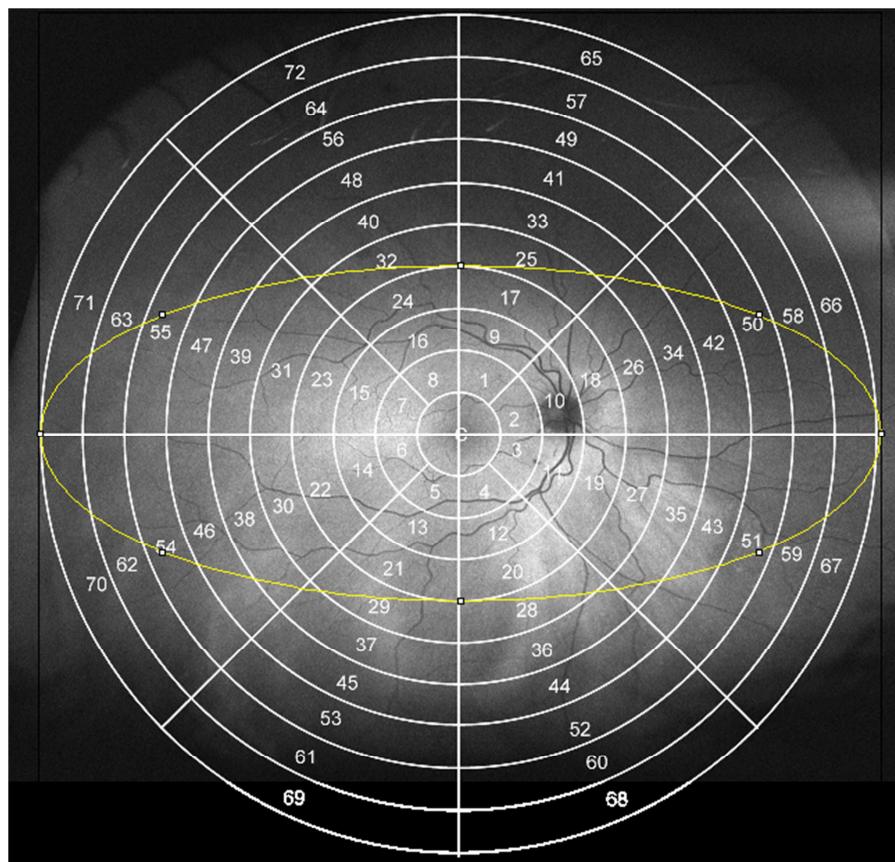


**Abbildung 11: Autofluoreszenz-Bildgebung am Augenhintergrund, Unterteilung in Felder durch ein Gitternetz (Grid), gleiches Auge wie in Abb. 7 und 8**

Die so entstandenen Bilder wurden mit ImageJ ausgewertet. ImageJ ist ein Bildbearbeitungsprogramm mit dem digitale Aufnahmen analysiert und editiert werden können (erhältlich auf der Internetseite der „National Institutes of Health“ unter <http://imagej.nih.gov/ij/>). ImageJ findet regelmäßig Anwendung bei wissenschaftlichen Bildanalysen. Mit dem Programm können quantitative Angaben über die Intensität der Pixelwerte eines ausgewählten Bereichs gemacht werden. Die Intensität kann dabei einen Wert von 0 (max. dunkel, schwarz) bis 255 (max. Helligkeit, weiß) annehmen. Wie in Kapitel 3.2.3 dargestellt wurde, werden Felder mit einer erhöhten AF-Intensität durch das Optomap 200Tx entsprechend heller dargestellt, während Gebiete mit erniedrigter AF-Intensität entsprechend dunkler dargestellt werden. Daher kann ImageJ für die relative Quantifizierung der FAF anhand der Graustufen im Bild genutzt werden. Die jeweiligen Grauwerte wurden in den 4 zentralsten Feldern im Grid (ohne Nummerierung) und in den peripheren Feldern 47; 46; 42 und 43 mit bestimmt. Dabei wurden folgende quantitative Werte für die Helligkeit der Graustufen in jedem Feld erhoben: vermessene Fläche, Mittelwert der Helligkeit, Standardabweichung, Modus, Minimum, Maximum, Intensitätsdichte und Median.

Diese 8 Messwerte wurden in allen 8 ausgewerteten Feldern erhoben und für jede Fundusaufnahme in einer Exceltabelle gespeichert. Bei den Messungen ist darauf geachtet worden, keine Blutgefäße oder Pigmentstörungen von ImageJ auszumessen, sondern nur homogene Flächen in den jeweiligen Feldern des Grid zu analysieren. Um einen denkbaren Linseneffekt auf die Detektion der AF abschätzen zu können erfolgte zudem die Auswertung der Papille mittels Image-J. Hierfür wurde der gefäßfreie, temporale Bereich der Papille erfasst und der Auswertung zugeführt.

In einem weiteren Schritt wurde die mittlere AF eines einzigen großen ellipsoiden Gebietes am Fundus bestimmt (im Folgenden „Gesamtfeld“ genannt). Das Gebiet reichte in der Horizontalen von Feld 71/70 bis 66/67 und in der Vertikalen von Feld 24/17 bis 21/20.



**Abbildung 12: Augenhintergrund, Autofluoreszenzaufnahme, Ausmessung eines großen ellipsoiden Feldes (Gesamtfeld)**

### **3.4.2 Auswertung Fragebogen**

Aus der Befragung der Probanden konnten die folgende Basisinformationen gewonnen werden: Alter, Geschlecht, Hypertonus, blutdrucksenkende Medikamente, Rauchen, BMI, Diabetes, erhöhtes Gesamtcholesterin, Z.n. kardiovaskulären Ereignissen und Verwandte mit Z.n. Myokardinfarkt oder Apoplex. Diese Daten wurden für jeden Probanden in die Excel-Tabelle mit den Bildanalysewerten der FAF-Messungen eingetragen. Wurde eine Frage verneint, so erfolgte der Eintrag „0“, wurde sie bejaht, so erfolgte der Eintrag „1“. Der BMI hingegen wurde aus der angegebenen Größe und dem Gewicht errechnet. Hierfür gilt die Formel:

$$\text{BMI} = \text{Körpergewicht [kg]} : (\text{Größe[m]})^2$$

### **3.4.3 Statistische Auswertung**

Für die statistische Analyse der Rohdaten wurde das Programm SPSS 20.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) verwendet. Verglichen wurden die AF-Mittelwerte der zentralen und peripheren Felder miteinander. Die AF-Werte wurden weiterhin in Abhängigkeit von Alter und kardiovaskulären Risikofaktoren graphisch dargestellt und einer Regressionsanalyse unterzogen. Ein p-Wert von < 0,05 wurde als statistisch signifikant betrachtet.

## 4. Ergebnisse

### 4.1 Verteilung der AF am Fundus

#### 4.1.1 Auswertung der Sektoren 1-8

Bei den Fundusaufnahmen wurden durch Verwendung des Grids jeweils 4 periphere und 4 zentrale Sektoren ausgemessen. Sowohl von den 4 peripheren, als auch von den 4 zentralen Sektoren waren jeweils 2 nasal gelegen und 2 temporal gelegen. Somit können auch 4 nasale und 4 temporale Sektoren voneinander unterschieden werden. Die Grenzlinie für die Unterscheidung in einen nasalen und einen temporalen Bereich wurde dabei durch die Mitte der Fovea centralis gezogen (vgl. Abbildung 11, Seite 25). Für die graphische Auswertung wurden die Mittelwerte der Graustufen in den Feldern als Korrelat der mittleren FAF in diesem Bereich verwendet. Durch die Anwendung der Studienkriterien blieben von ursprünglich 358 Fundusbildern noch 281 Bilder von altersentsprechenden Normalprobanden übrig, die dann ausgewertet werden konnten. Die durchschnittlichen Helligkeitsintensitäten aus den Ergebnissen aller Probanden kann der Leser aus Tabelle 4 entnehmen:

Bereich	Sektor	mittlere Intensität	Standard-Abweichung
peripher, temporal, superior	1	136,4	26,1
peripher, temporal, inferior	2	139,8	20,3
peripher, nasal, superior	3	137,8	21,0
peripher, nasal, inferior	4	140,8	17,6
zentral, temporal, superior	5	161,3	16,6
zentral, temporal, inferior	6	161,3	21,3
zentral, nasal, superior	7	159,6	16,7
zentral, nasal, inferior	8	159,4	23,1
zentral	5-8	160,4	16,2
peripher	1-4	138,8	12,0
gemittelt	1-8	149,7	11,3

Tabelle 4: Mittlere Autofluoreszenzintensität am Augenhintergrund in verschiedenen Bereichen

Die Auswertung der Sektoren erfolgte in folgenden Feldern des Grid, je nachdem, ob es sich um ein rechtes oder um ein linkes Auge gehandelt hat (vgl. Abbildung 11, Seite 25):

Feld, rechtes Auge	Sektor	Feld, linkes Auge
47	1	42
46	2	43
42	3	47
43	4	46
zentral, temporal, superior	5	zentral, temporal, superior
zentral, temporal, inferior	6	zentral, temporal, inferior
zentral, nasal, superior	7	zentral, nasal, superior
zentral, nasal, inferior	8	zentral, nasal, inferior

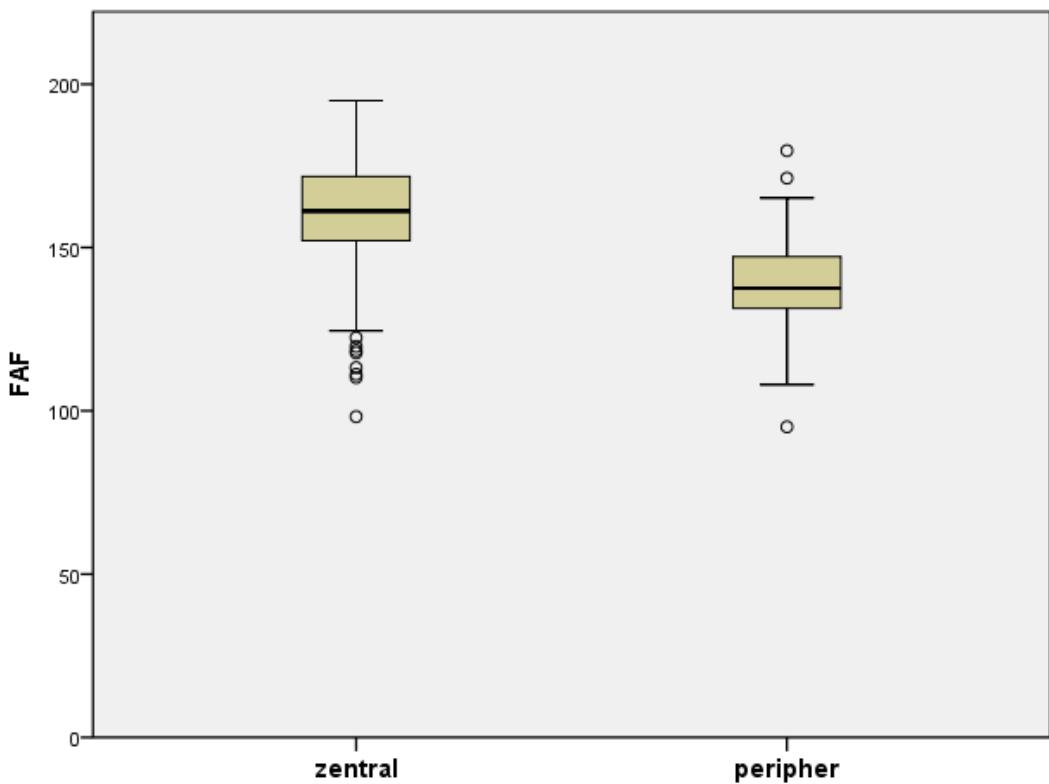
**Tabelle 5: Zuordnung der Sektoren zu den Feldern im Gitternetz (Grid), aufgetrennt nach rechtem und linkem Auge**

Die Sektoren 5-8 liegen zentral über der Makula lutea. Für diese 4 Felder gibt es im Grid keine Nummerierung. Sie wurden jedoch stets in der Reihenfolge temporal/superior → temporal/inferior → nasal/superior → nasal/inferior ausgewertet.

Der Mittelwert aller 8 Sektoren (1-8) zusammen beträgt im Probandenkollektiv 150 bei einer Standardabweichung (SD) von  $\pm 11$ .

Die zentralen Felder (5-8) zeigen eine mittlere FAF-Intensität von  $160 \pm 16$  mit einem Intensitätsmaximum bei 195 und einem Minimum von 98. Die peripheren Felder (1-4) zeigen eine mittlere FAF-Intensität von  $139 \pm 12$  mit einem Maximalwert von 180 und einem Minimalwert von 95.

Die folgende Graphik stellt den Vergleich zwischen der AF der zentralen und peripheren Fundusabschnitte dar:

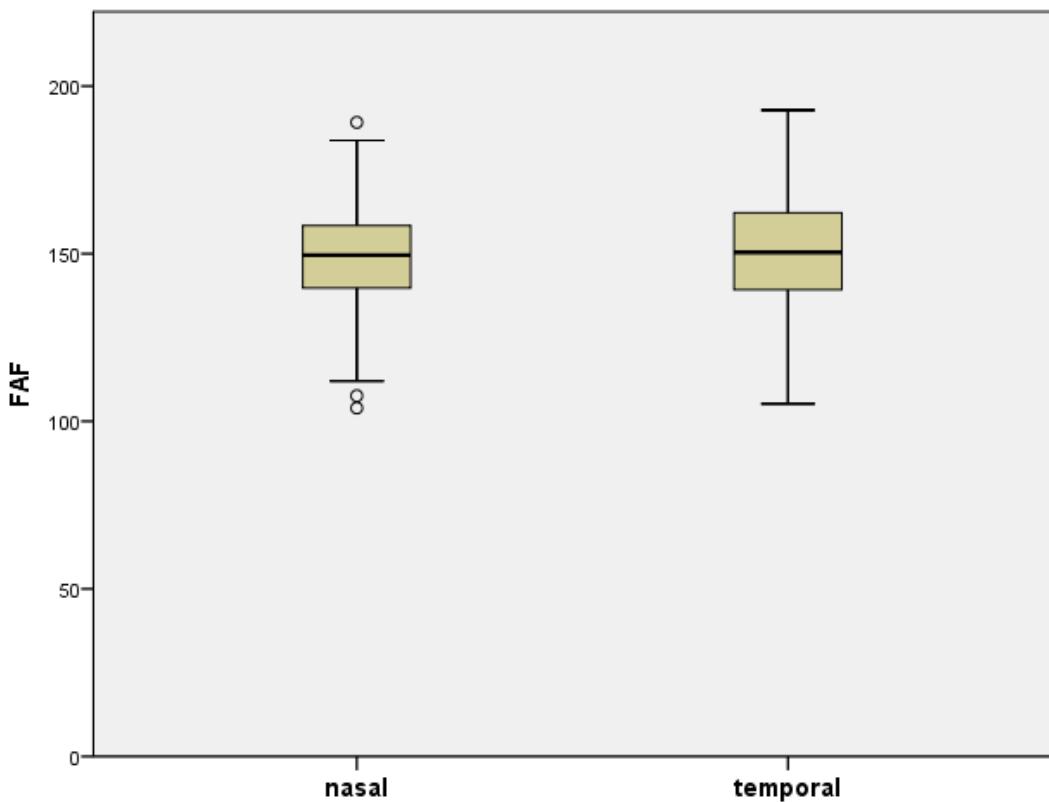


**Abbildung 13: Box-Plot-Darstellung, Vergleich zwischen zentraler und peripherer Fundusautofluoreszenz (FAF)**

Somit liegt die FAF-Intensität der peripheren Felder durchschnittlich unter derjenigen der zentralen Sektoren.

Die nasalen Felder (aus den Sektoren 3; 4; 7; 8) besitzen einen Mittelwert von 150 und eine  $SD \pm 14$ . Der Maximalwert in diesem Bereich beträgt 189 bei einem Minimalwert von 104. Die temporalen Felder (aus den Sektoren 1; 2; 5; 6) streuen ebenfalls um einen Mittelwert von 150 bei einer  $SD$  von  $\pm 16$ , einem Maximalwert von 193 und einem Minimalwert von 105.

Die folgende Graphik stellt die AF der nasalen und temporalen Fundusabschnitte im Vergleich miteinander dar:



**Abbildung 14: Boxplot-Darstellung, Vergleich zwischen nasaler und temporaler Fundusautofluoreszenz (FAF)**

Die FAF-Intensitäten der nasalen und temporalen Felder unterscheiden sich nicht signifikant voneinander.

#### 4.1.2 Auswertung des Gesamtfeldes und der Papille

Für die AF des ellipsoiden Gesamtfeldes der Probanden ergab sich ein Mittelwert von 152 bei einer SD von  $\pm 7$ . Der Maximalwert lag bei 169 und der Minimalwert bei 125. Die gemittelte FAF in dem Gesamtbereich streut demnach nicht so stark, wie bei der Vermessung der einzelnen Sektoren 1-8. Die Werte liegen hier näher beieinander.

Die Messung des gefäßfreien Bereichs der Papille ergab einen Mittelwert von 114 bei einer Standardabweichung von 18,5. Der Maximalwert liegt hier bei 180 und der Minimalwert bei 73. Die Autofluoreszenz der Papille ist demnach größeren Schwankungen unterworfen.

## **4.2 Korrelation der Autofluoreszenz mit dem Alter**

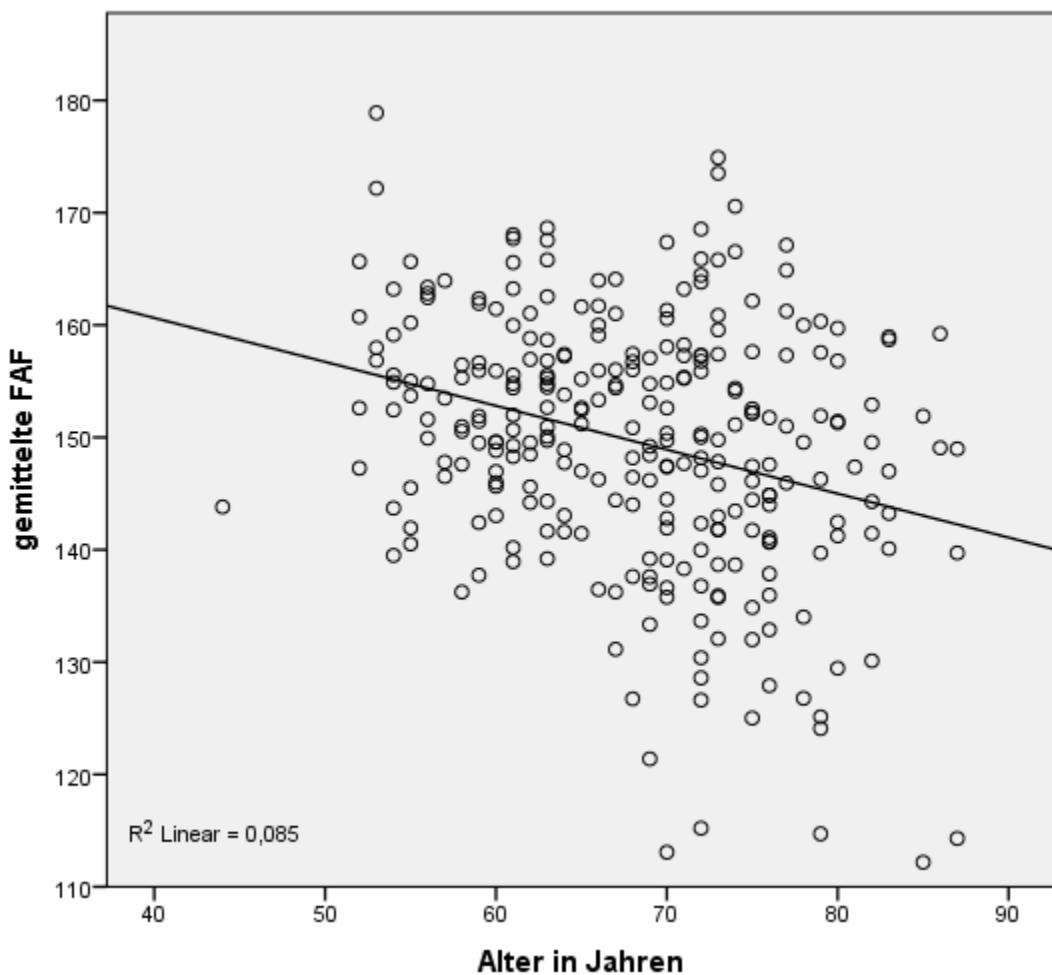
### **Lineare und quadratische Korrelation zwischen AF und Alter**

Es wurden vorwiegend ältere Personen in diese Studie aufgenommen. Die Mehrheit der Studienteilnehmer befand sich in der 6. und 7. Lebensdekade, der älteste Proband, der in die Studie eingeschlossen wurde, war 87 Jahre alt (vgl. Abbildung 3, Seite 15).

Die Auswertung zwischen FAF und Alter wurde für die periphere FAF aus den Sektoren 1-4, für die zentrale FAF aus den Sektoren 5-8 und für die gemittelte FAF aus den Sektoren 1-8 bestimmt. Außerdem wurde ein ellipsoides Gesamtfeld in den Grenzen von Abbildung 12 (Seite 26) vermessen. Auf diesen 4 Gebieten liegt der Schwerpunkt dieser Analyse, um das Verhalten der Autofluoreszenz von Netzhautperipherie und Netzhautzentrum zu erforschen. Die folgenden Grafiken zeigen jeweils eine lineare und eine quadratische Regression für jeden der 4 Bereiche:

#### Gemittelte Fundusautofluoreszenz

Die lineare Korrelation der gemittelten FAF (= Mittelwert der Sektoren 1-8) mit dem Alter zeigt Abbildung 15. Der Korrelationskoeffizient ( $r$ ) wurde nach Pearson bestimmt:



**Abbildung 15: gemittelte Fundusautofluoreszenz (FAF), lineare Korrelation mit dem Alter;  $r = -0,29$ ; p-Wert < 0,01 (hochsignifikant)**

Durch die Punktwolke lässt sich auch eine quadratische Funktion legen, die genauso gut mit der gemittelten FAF korreliert:

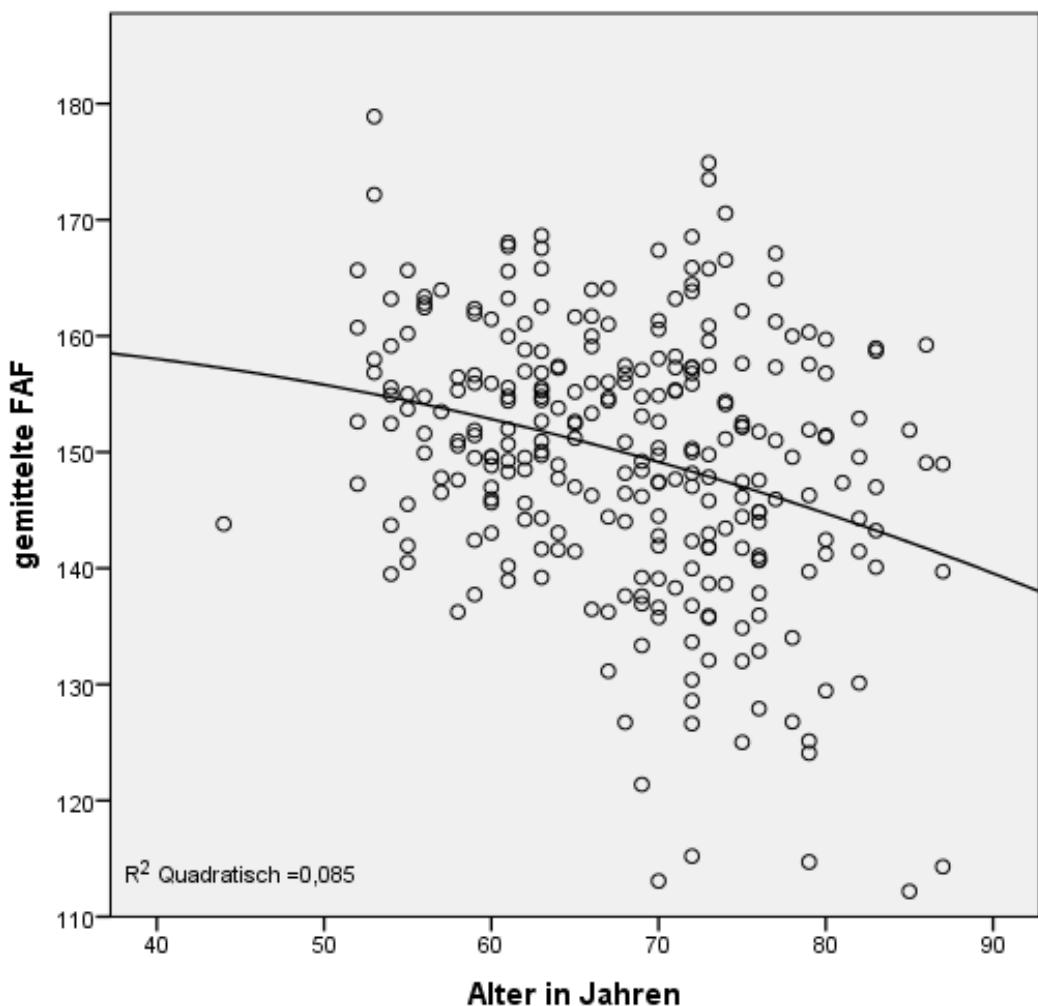
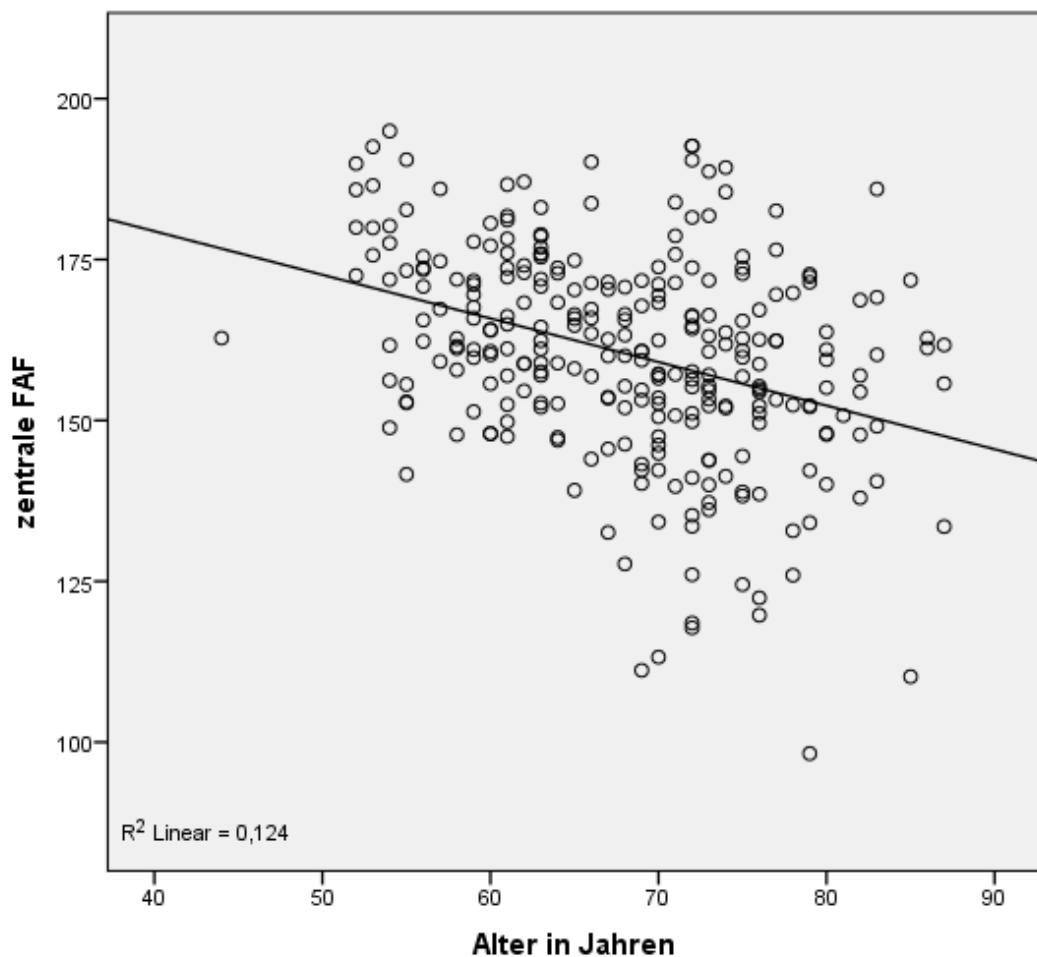


Abbildung 16: gemittelte Fundusautofluoreszenz (FAF), quadratische Korrelation mit dem Alter;  $r = -0,29$ ; p-Wert < 0,01 (hochsignifikant)

#### Zentrale Fundusautofluoreszenz

Die Korrelation der AF mit dem Alter für die zentralen Areale am hinteren Pol wird in Abbildung 17 und 18 dargestellt:



**Abbildung 17: zentrale Fundusautofluoreszenz (FAF), lineare Korrelation mit dem Alter;  $r = -0,35$ ;  $p$ -Wert < 0,01 (hochsignifikant)**

Die quadratische Funktion korreliert mit den zentralen FAF-Werten mit  $R^2 = 0,13$  sogar noch etwas stärker. Sie wird im Folgenden gezeigt:

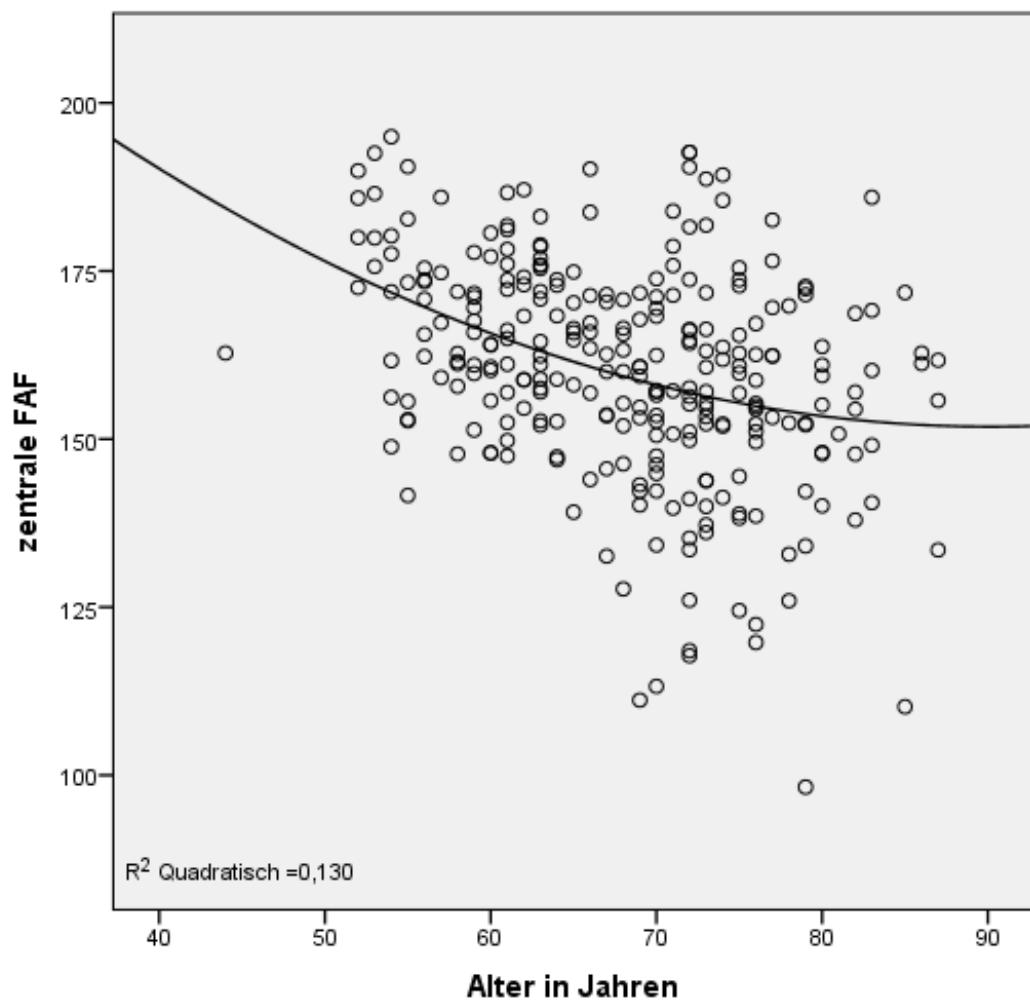
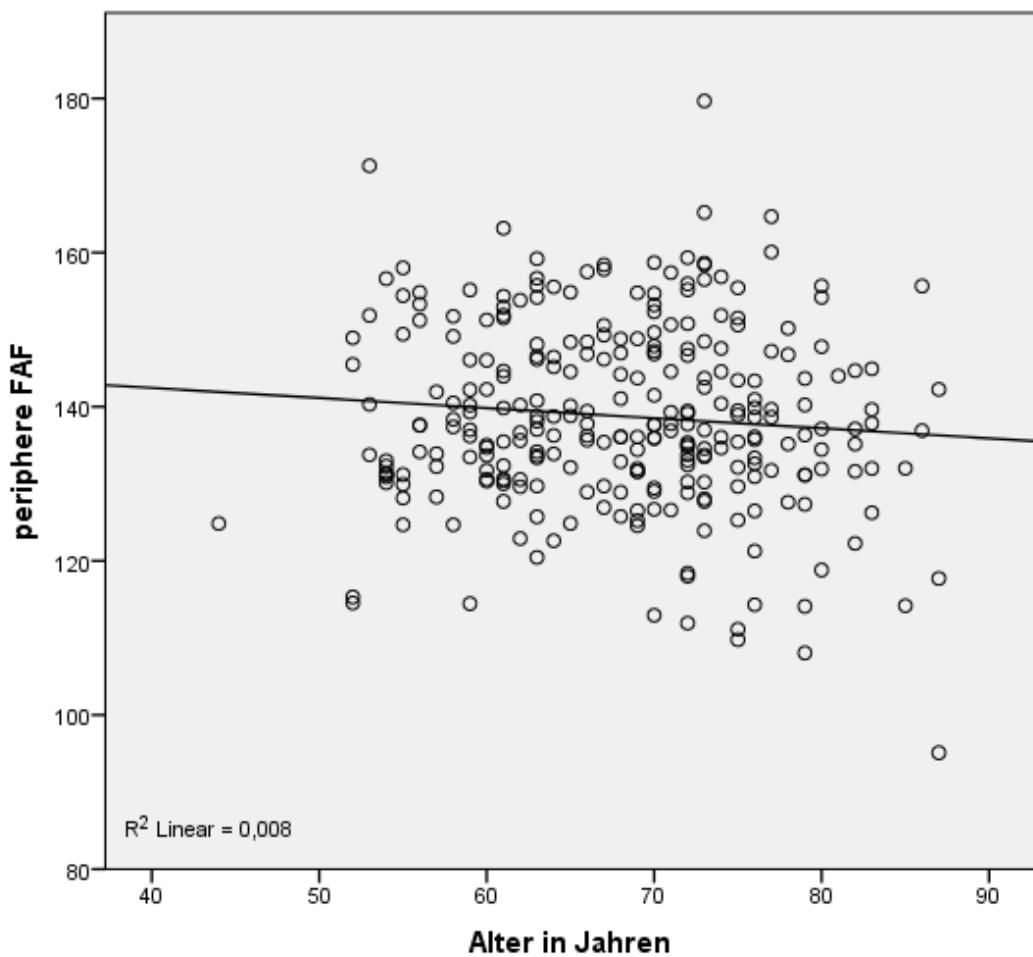


Abbildung 18: zentrale Fundusautofluoreszenz (FAF), quadratische Korrelation mit dem Alter;  $r = 0,36$ ; p-Wert < 0,01 (hochsignifikant)

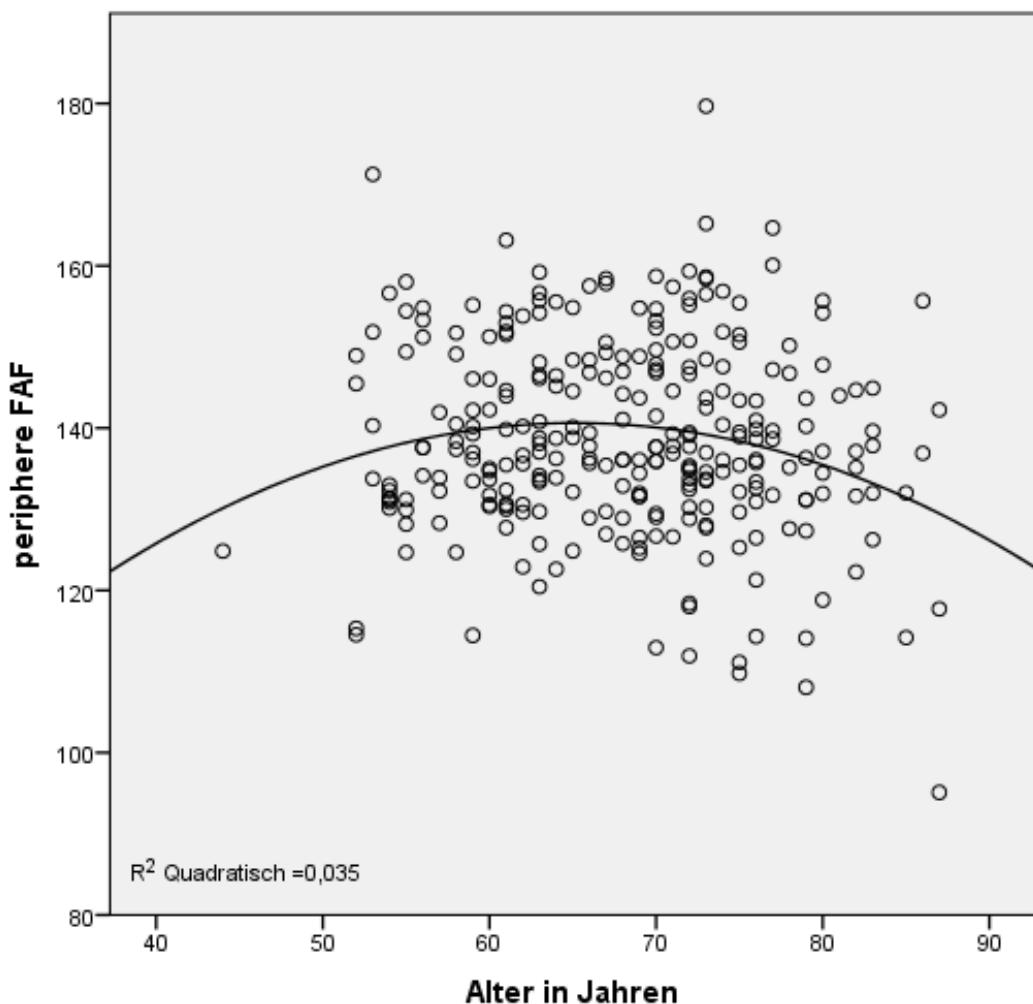
#### Periphere Fundusautofluoreszenz

Die peripheren Netzhautabschnitte lassen sich wie folgt darstellen:



**Abbildung 19: periphere Fundusautofluoreszenz (FAF), lineare Korrelation mit dem Alter;  $r = -0,09$ ; p-Wert = 0,125 (nicht signifikant)**

Die lineare Funktion korreliert auf dem 5%-Niveau nicht signifikant mit den Punktewerten, hier lässt sich nur ein Trend für die Abnahme der FAF mit dem Alter darstellen. Dafür korreliert die in Abbildung 20 dargestellte quadratische Funktion hochsignifikant mit der AF über der Netzhautperipherie:

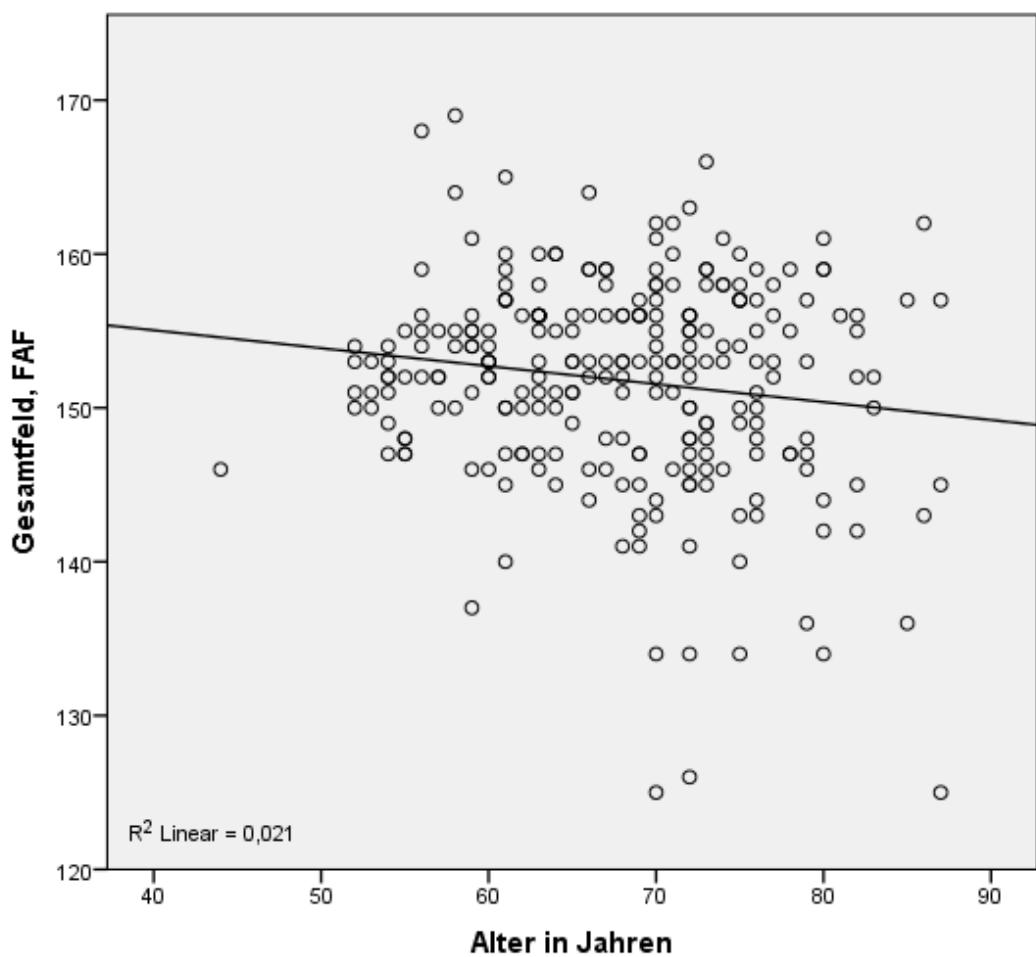


**Abbildung 20: peripherale Fundusautofluoreszenz (FAF), quadratische Korrelation mit dem Alter;  $r = -0,19$ ; p-Wert < 0,01 (hochsignifikant)**

Die Annäherung durch eine quadratische Kurve korreliert stärker mit den Werten der peripheren FAF als die Annäherung durch eine Gerade, die Anpassungsgüte liegt hier bei  $R^2 = 0,035$ . Der Scheitelpunkt der Parabel liegt bei 66 Jahren.

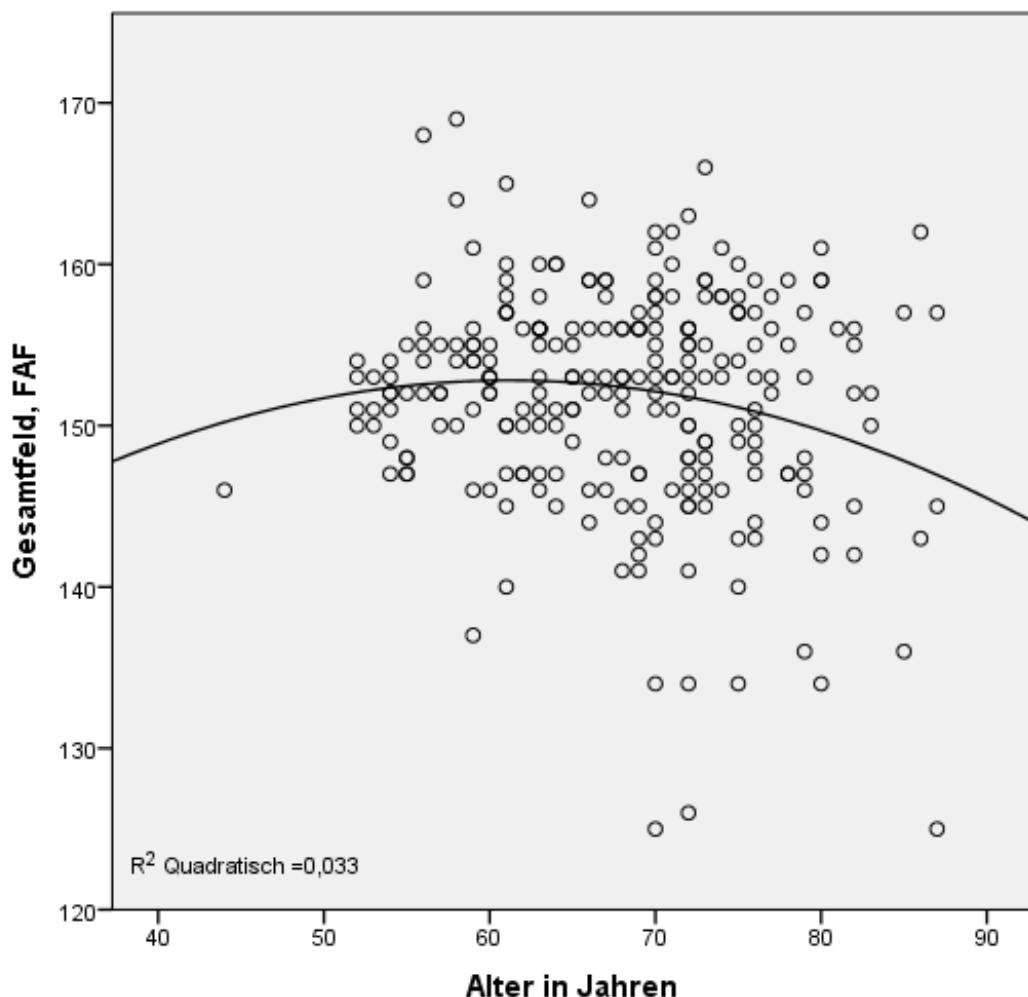
#### Das ellipsoide Gesamtfeld

Die Korrelation zwischen FAF und Alter für das Gesamtfeld zeigt Abbildung 21 und 22:



**Abbildung 21: Fundusautofluoreszenz (FAF) des Gesamtfeldes, lineare Korrelation mit dem Alter,  $r = -0,14$ ; p-Wert = 0,022 (signifikant)**

Für die quadratische Annäherung gilt hier:



**Abbildung 22: Fundusautofluoreszenz (FAF) des Gesamtfeldes, quadratische Korrelation mit dem Alter,  $r = -0,18$ ; p-Wert = 0,016 (signifikant)**

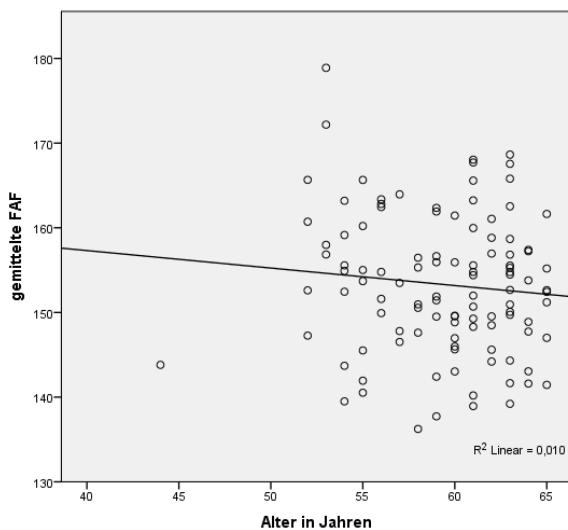
Somit korreliert die Parabel im Gesamtfeld ebenso stärker mit den Ergebnissen als die Gerade. Es ist ein Anstieg der FAF bis 66 Jahre zu verzeichnen und ein anschließender Abfall der FAF.

Generell ergeben sich in dieser Studie für alle Darstellungen eine negative lineare oder eine negative quadratische Funktion. Einzige Ausnahme ist die zentrale FAF, die sich durch eine positive quadratische Funktion in diesem Altersbereich beschreiben lässt. Die zentrale FAF korreliert in dieser Studie stärker mit dem Alter, als die periphere FAF. Letztere korreliert wenn sie als quadratische Funktion beschrieben wird stärker mit dem Alter, als wenn sie als lineare Funktion beschrieben wird (vgl. Abbildung 19, Abbildung 20 auf Seite 37/38).

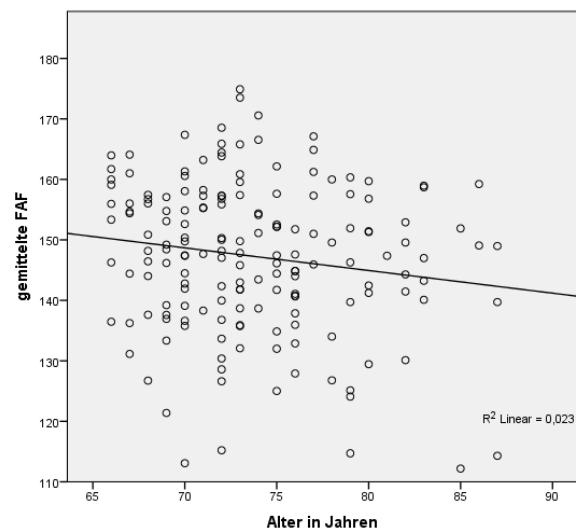
## Vergleich der FAF für die Gruppe unter und über 66 Jahren

Die Abbildung 15 – Abbildung 22 zeigen die Korrelation der FAF über das gesamte Altersspektrum der Studienteilnehmer. Wie man anhand der quadratischen Funktion in Abbildung 20 und Abbildung 22 sehen kann, liegt für die Peripherie jedoch der Trend nahe, dass die FAF zuerst mit dem Alter ansteigt und anschließend wieder abfällt. In seiner Arbeit aus dem Jahr 2001 beschreibt auch Delori et al einen linearen Anstieg der FAF bis etwa 70 Jahren mit einem anschließenden Absinken der Fundusautofluoreszenz<sup>55</sup>. In dieser Studie liegt der Scheitelpunkt der Parabeln bei 66 Jahren. Dies hat mich veranlasst, die Fundusautofluoreszenz der verschiedenen Netzhautabschnitte noch einmal getrennt für den Altersbereich unter 66 Jahre und ab 66 Jahre zu untersuchen:

Die gemittelte Autofluoreszenz (Mittelwerte der Sektoren 1-8)



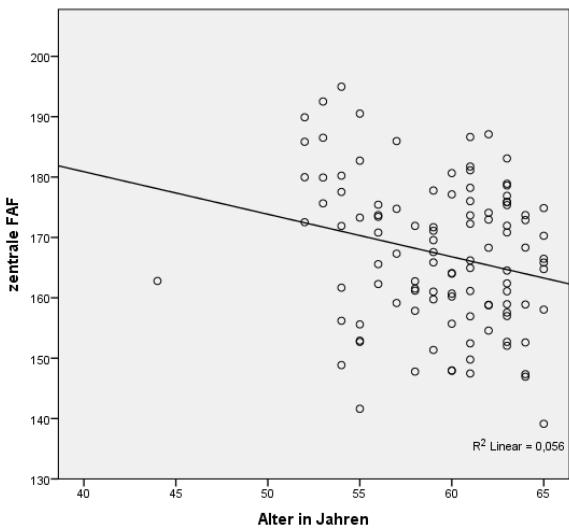
**Abbildung 23: a) gemittelte Fundusautofluoreszenz**  
**Gruppe < 66 Jahren;  $r = -0,1$ ;  $p = 0,298$**



**b) gemittelte Fundusautofluoreszenz**  
**Gruppe > 65 Jahren;  $r = -0,15$ ;  $p = 0,046$**

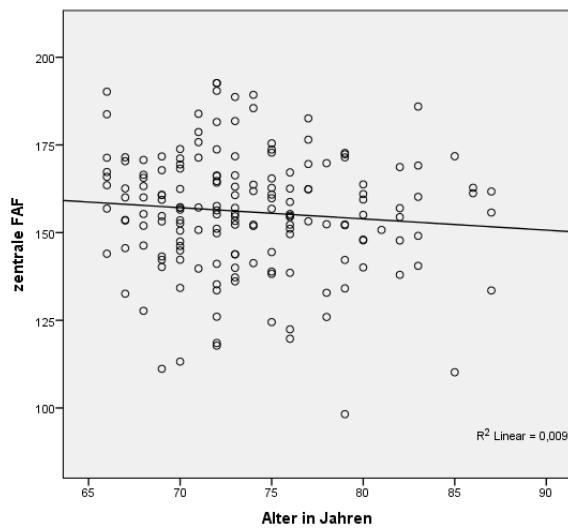
Es gibt einen Trend unter 66 Jahren für eine schwach negative Korrelation zwischen FAF und Alter und eine signifikante und etwas stärker ausgeprägte negative Korrelation im Alter über 65 Jahre.

## Die zentrale Autofluoreszenz



**Abbildung 24: a) zentrale Fundusautofluoreszenz**

**Gruppe < 66 Jahren;  $r = -0,24$ ;  $p = 0,014$**

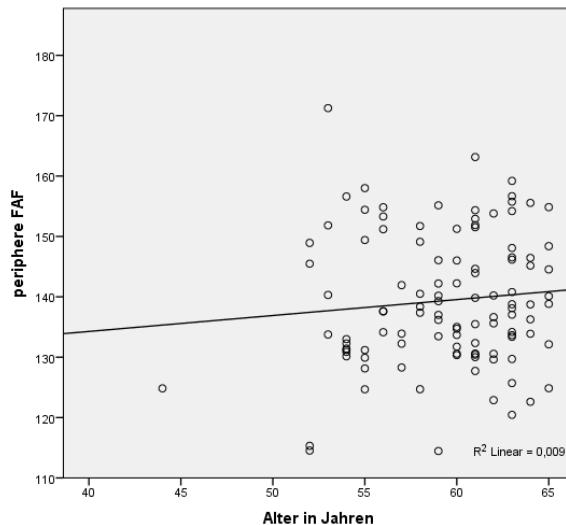


**b) zentrale Fundusautofluoreszenz**

**Gruppe > 65 Jahren;  $r = -0,1$ ;  $p = 0,217$**

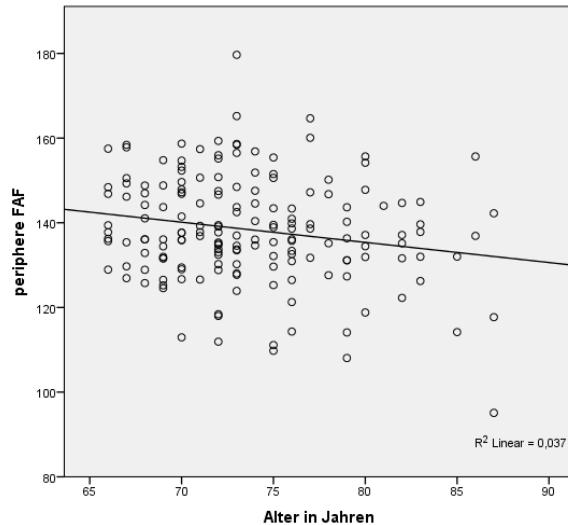
Die FAF in den zentralen Feldern korreliert signifikant negativ mit dem Alter in der Gruppe unter 66 Jahren. Für die über 66-Jährigen zeigt sich hierfür nur ein Trend. Der negative Zusammenhang ist in der Gruppe unter 66 Jahren stärker ausgeprägt, als in der Gruppe über 66 Jahren.

## Die periphere Autofluoreszenz



**Abbildung 25: a) periphere Fundusautofluoreszenz**

**Gruppe < 66 Jahren;  $r = +0,1$ ;  $p = 0,321$**

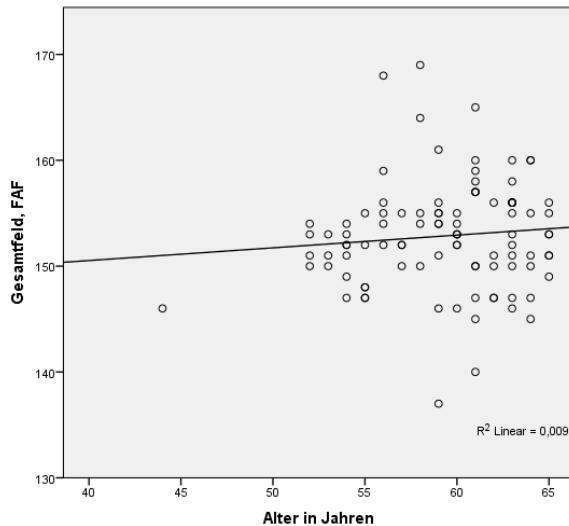


**b) periphere Fundusautofluoreszenz**

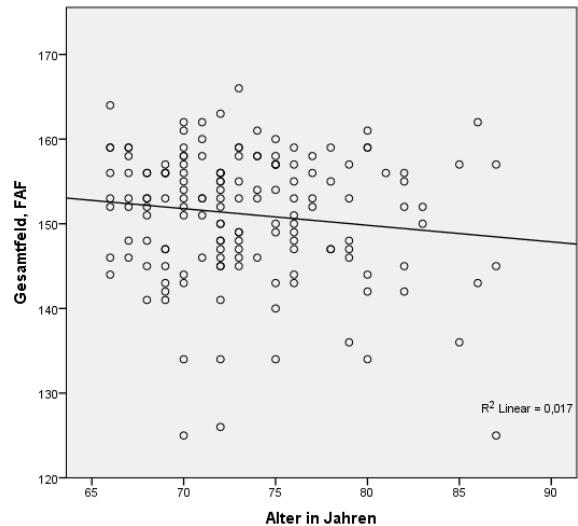
**Gruppe > 65 Jahren;  $r = -0,19$ ;  $p = 0,012$**

In den peripheren Netzhautabschnitten ist ein Trend für einen Anstieg der FAF bis 65 Jahren und darüber hinaus ein signifikantes Absinken der FAF zu verzeichnen.

### Die Autofluoreszenz des Gesamtfeldes



**Abbildung 26: a) Fundusautofluoreszenz Gesamtfeld**  
Gruppe < 66 Jahren;  $r = +0,1$ ;  $p = 0,348$

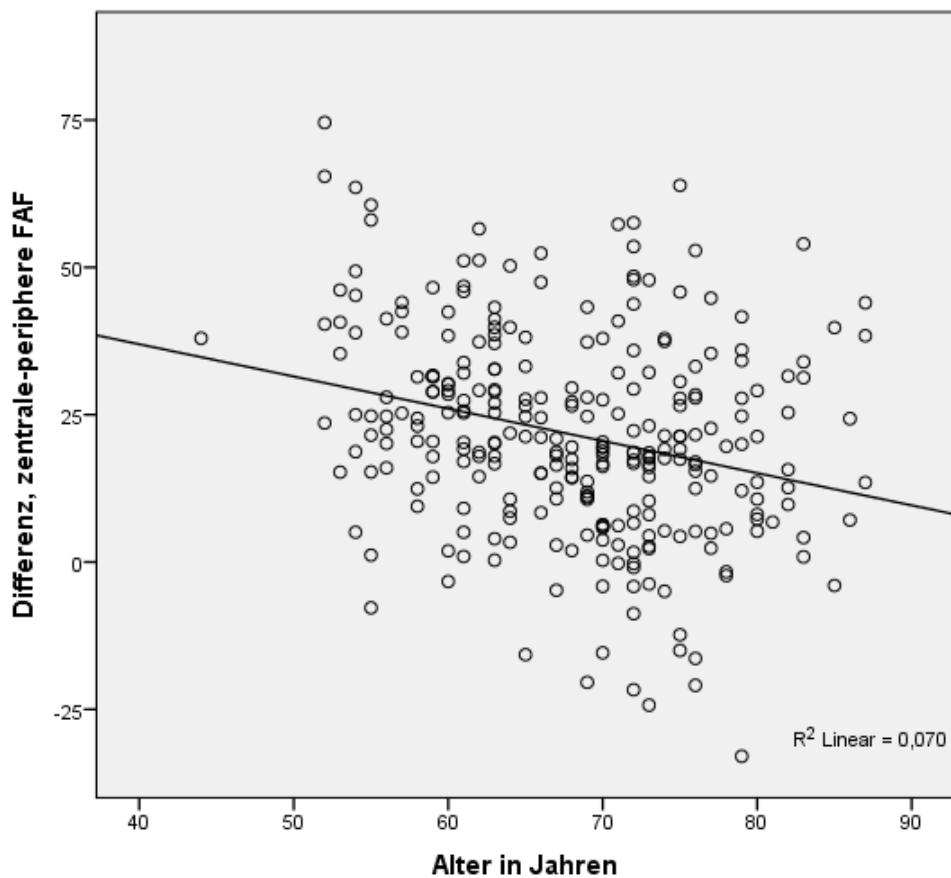


**b) Fundusautofluoreszenz Gesamtfeld**  
Gruppe > 65 Jahren;  $r = -0,13$ ;  $p = 0,104$

Für die AF des ellipsenförmigen Gesamtfeldes zeigt sich ebenfalls ein positiver Trend in der Gruppe der unter 66-Jährigen und ein negativer Trend bei den über 65-Jährigen.

### **Die Differenz aus zentraler und peripherer FAF und Korrelation der Papille**

Die folgende Grafik zeigt die errechnete Differenz der FAF zwischen den zentralen und peripheren Fundusabschnitten. Dies kann wiedergeben, wie sich Netzhautzentrum und Peripherie im Laufe des Älterwerdens zueinander verhalten.



**Abbildung 27: Differenz der Fundusautofluoreszenz (FAF) aus Netzhautzentrum und Peripherie,  $r = -0,26$ ; p-Wert < 0,01 (hochsignifikant)**

Auch die Differenz zwischen Zentrum und Peripherie korreliert mit dem Alter negativ. Unterschiede werden mit dem Alter tendenziell kleiner. Bei einigen wenigen Probanden liegt die peripherie FAF sogar über der zentralen FAF, was sich in einem Wert unterhalb der 0 äußert.

Um einen möglichen Einfluss der Linse auf die Detektion der Fundusautofluoreszenz abschätzen zu können, wurde zusätzlich der gefäßfreie temporale Bereich der Sehnervenpapille ausgemessen. Das Ergebnis zeigt Abbildung 28:

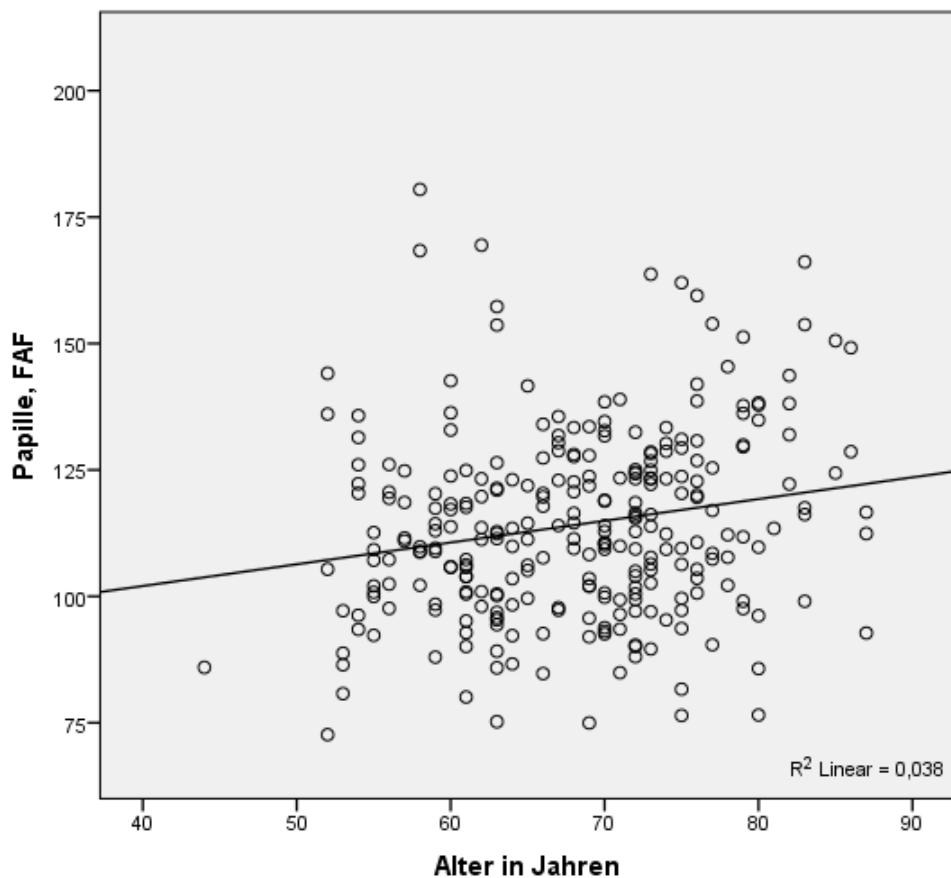


Abbildung 28: Fundusautofluoreszenz (FAF) der Papille, Korrelation mit dem Alter;  $r = 0,19$ ; p-Wert = 0,013 (signifikant)

Hier zeigt sich eine positive Korrelation mit dem Alter. Dieses Ergebnis können mit den Altersveränderungen über der Netzhaut verglichen werden.

#### 4.3 Die Korrelation der FAF mit kardiovaskulären Risikofaktoren

Ich habe die Probanden nach dem Vorhandensein der Merkmale Bluthochdruck, Rauchen, Blutdruckmedikation, Größe, Gewicht, Diabetes, erhöhte Blutfette und kardiovaskulärer Ereignisse bei Ihnen oder bei ihren Blutsverwandten befragt. Aus der Größe und dem Gewicht wurde anschließend der BMI berechnet und zwar nach der Formel „ $BMI = \text{Gewicht [kg]} : (\text{Größe [m]})^2$ “.

Durch statistische Analyse der Rohdaten mit SPSS wurden alle diese 10 Merkmale dahingehend untersucht, ob sie mit den FAF-Werten der Sektoren 1-8 im Grid korrelieren und wie sie sich auf die Autofluoreszenz in Netzhautzentrum und Peripherie auswirken.

Ab einem p-Wert < 0,05 wurde die Korrelation als statistisch signifikant betrachtet, ab einem p-Wert < 0,01 als hochsignifikant.

Die folgende Tabelle gibt eine Übersicht über die hier gefundenen Zusammenhänge. Dabei bedeutet n.s. = nicht signifikant für p-Werte > 0,05.

Risikofaktor	Korrelation mit FAF		
	zentral	peripher	gemittelt
Bluthochdruck	n.s.	n.s.	n.s.
Rauchen	n.s.	n.s.	n.s.
Blutdruckmedikation	n.s.	n.s.	n.s.
Größe	n.s.	n.s.	n.s.
Gewicht	p < 0,01	n.s.	n.s.
BMI	p < 0,01	n.s.	n.s.
Diabetes	n.s.	p < 0,05	n.s.
erhöhte Blutfette	n.s.	n.s.	n.s.
kardiovaskuläres Ereignis (CVE)	p < 0,01	n.s.	p < 0,01
Verwandter mit CVE	n.s.	n.s.	n.s.

**Tabelle 6: Signifikante Korrelationen zwischen kardiovaskulären Risikofaktoren und der Fundusautofluoreszenz (FAF), Übersicht mit Angabe der p-Werte, n.s. = nicht signifikant**

Für diese Studie ergibt sich somit eine hochsignifikante Korrelation der Merkmale „Gewicht“, „BMI“ und „CVE“ mit der Autofluoreszenz über dem zentralen Fundus. Das Merkmal Diabetes korreliert als einziges mit der FAF der Peripherie ( $r = 0,15$ ) und das Merkmal „CVE“ korreliert als einziges zusätzlich mit den gemittelten FAF-Werten aus Peripherie und Zentrum ( $r = -0,176$ ). Der Korrelationskoeffizient wird dabei immer nach Pearson von mir angegeben. Die anderen erfassten Merkmale korrelieren auf dem 5%-Niveau nicht signifikant mit der FAF der Probanden.

Die folgenden 2 Tabellen zeigen den Korrelationskoeffizienten ( $r$ ) für die Merkmale „BMI“ und „CVE“ aufgeschlüsselt für die einzelnen zentralen Sektoren:

BMI:FAF- Intensität	Sektor 5	Sektor 6	Sektor 7	Sektor 8	zentral gesamt
r	-0,168 <0,01	-0,268 <0,01	-0,146 <0,05	-0,143 <0,05	-0,217 <0,01
p-Wert					

**Tabelle 7: Korrelation aus der Fundusautofluoreszenz (FAF) der zentralen Sektoren (5-8) und dem Body-Mass-Index (BMI)**

CVE:FAF- Intensität	Sektor 5	Sektor 6	Sektor 7	Sektor 8	zentral gesamt
r	-0,127	-0,218	nicht signifikant	-0,134 <0,05	-0,168 <0,01
p-Wert	<0,05	<0,01			

**Tabelle 8: Korrelation aus der Fundusautofluoreszenz (FAF) der zentralen Sektoren (5-8) und dem Merkmal 'kardiovaskuläre Vorerkrankung' (CVE)**

Beide Merkmale wirken sich bei Ausprägung demnach negativ auf die zentrale Autofluoreszenz aus.

Für das Merkmal „Gewicht“ soll auf eine detaillierte Einzeldarstellung verzichtet werden, da es bereits in die Berechnung des BMI's einfließt.

## 5. Diskussion

Im Folgenden möchte ich die Ergebnisse dieser Studie diskutieren, wobei insbesondere auf den Aspekt der Korrelation der FAF mit dem Alter eingegangen werden soll. Zunächst möchte ich jedoch, analog zu der Reihenfolge der Ergebnisse, mit dem Verteilungsmuster der FAF am Augenhintergrund beginnen:

### **Verteilung der Autofluoreszenz-Intensität am Fundus**

Die zentralen Felder über der Makula lutea weisen im Mittel deutlich stärkere Autofluoreszenzintensitäten auf, als die peripheren Felder. So lag die mittlere zentrale FAF-Intensität bei 160 und somit um 21 Helligkeitsstufen höher, als in den peripheren Sektoren, wo sie im Mittel bei 139 lag (siehe Abbildung 13, Seite 30). Dies deckt sich mit den Ergebnissen anderer wissenschaftlicher Autoren, wie Francois C Delori<sup>42</sup>, Reznicek et al<sup>5</sup> und Glenn L. Wing<sup>102</sup>.

Der Grund für dieses Verteilungsmuster der FAF-Intensitäten erschließt sich, wenn man davon ausgeht, dass die Autofluoreszenz Alterungsprozesse der Retina durch Lipofuszineinlagerungen widerspiegelt. Wie F. Schütt in seiner Arbeit zeigen konnte, werden diese Alterungsprozesse wiederum durch die metabolische Aktivität der Retina beeinflusst<sup>63</sup>. Da die Photorezeptoren durch ihre kontinuierliche POS-Abstoßung eine Hauptquelle für oxidativen Stress und die Entstehung von LF im RPE darstellen<sup>23</sup>, kann davon ausgegangen werden, dass das RPE in Gebieten mit erhöhter Photorezeptordichte auch eine erhöhte Autofluoreszenz zeigt. Die Makula lutea enthält in ihrem Bereich die größte Dichte an Photorezeptoren<sup>103</sup> und somit entsteht hier auch die größte Belastung für das RPE. Diese Überladung des RPE mit Lipofuszin wird heute als Grund dafür angesehen, dass sich hier höhere AF-Werte finden und alterungsbedingte degenerative Veränderungen der Netzhaut sich häufig zuerst im Bereich der Makula manifestieren<sup>104</sup>. Die hier vorhandene hohe Dichte und metabolische Aktivität der Photorezeptoren kann die höheren AF-Werte in den zentralen Bereichen am hinteren Pol erklären.

Im direkten Vergleich der nasalen Sektoren mit den temporalen Gebieten konnte hingegen kein Unterschied der mittleren FAF-Werte bei den Probanden festgestellt

werden (vgl. Abbildung 14, Seite 31). Daraus kann man schließen, dass sich die Verteilung der Photorezeptoren auf beiden Seiten gleicht und der oxidative Stress für das RPE sich nasal und temporal ähnelt. Die Daten liefern keinen Hinweis darauf, dass eine der beiden Seiten besonders geschützt oder besonders gefährdet für Alterungsprozesse sein könnte.

Eine mögliche Einschränkung für diesen Interpretationsansatz ist, dass es nicht möglich ist andere Fluorophore mit ähnlichen AF-Eigenschaften wie Lipofuszin auszuschließen. Melanofuszin kann z.B. in FAF-Bildern nur schwierig von Lipofuszin zu unterscheiden sein. Allerdings wird das Melanofuszin ebenso durch Überladung der Zellen mit Lipofuszin gebildet und spiegelt damit auch den oxidativen Stress innerhalb des RPE wieder<sup>53,54</sup>.

### **Korrelation der Autofluoreszenz mit dem Alter**

Das Hauptziel bei der Durchführung dieser Studie ist es gewesen, die Entwicklung der FAF in höherem Alter bei Menschen ohne AMD darzustellen. Durch die Einführung des Optomap 200Tx gibt es seit dem Jahr 2010 die Möglichkeit weite Gebiete der Netzhautperipherie bis über den Äquator hinaus in einem Bild zu erfassen. Da es Hinweise dafür gibt, dass ein pathologischer Anstieg der FAF über zentralen Netzhautgebieten der Entwicklung einer AMD vorangehen kann<sup>3</sup>, sollte hier untersucht werden, wie sich periphere und zentrale FAF zueinander verhalten. So wäre es in Zukunft denkbar, für die Einschätzung des Risikoprofils eines Patienten nicht nur die zentrale FAF, sondern auch die periphere FAF in Betracht zu ziehen. Dies könnte die Aussagekraft der Autofluoreszenzmessung allgemein erhöhen, da sich einzelne Gebiete nicht selten durch Pigmentverschiebungen oder Linsentrübungen der Auswertung entziehen.

Durch die Früherkennung von Patienten mit einem erhöhten Risiko für die Entwicklung einer AMD könnten Therapieverfahren, wie der Einsatz von VEGF-Hemmern, noch zeitiger eingesetzt werden und Komplikationen der feuchten AMD noch häufiger verhindert werden. Auch durch die Entwicklung neuer Therapieansätze wird die Früherkennung in Zukunft voraussichtlich immer mehr an Bedeutung gewinnen. Wie im Grundlagenteil dieser Arbeit dargestellt ist, lassen sich durch die

Erfassung der FAF Alterungsprozesse der Retina darstellen, die sonst kein morphologisches Korrelat in der gewöhnlichen Augenspiegelung finden.

In dieser Querschnittstudie, befand sich die Mehrheit der Probanden in einem höheren Alter zwischen 60 – 80 Jahren (siehe Abbildung 3, Seite 15). Hier fand sich eine durchgehend negative lineare Korrelationen der FAF-Intensität mit dem weiteren Ansteigen des Alters. So korreliert die gemittelte Autofluoreszenz aus peripheren und zentralen Feldern („FAF gemittelt“) um  $r = -0,29$  mit dem Altersanstieg. Die FAF der zentralen Felder (5-8), im Bereich der Makula, korreliert stärker mit  $r = -0,35$  und die der peripheren Sektoren (1-4) korreliert schwächer, jedoch ebenfalls negativ mit  $r = -0,09$  mit dem Alter (siehe Abbildung 15, Abbildung 17, Abbildung 19 / Seite 33, 35, 37). Da in letzterem Fall der  $p$ -Wert  $> 0,05$  liegt, kann für die Peripherie allerdings nur von einem Trend gesprochen werden. Dieses Ergebnis scheint den Ergebnissen anderer Studiengruppen auf den ersten Blick zu widersprechen, die eine positive lineare Korrelation der FAF mit dem Alter ermittelten konnten<sup>5,42</sup>. Die Ergebnisse dieser Studie legen hingegen eher ein Absinken der Autofluoreszenz mit dem Alter nahe, und zwar stärker ausgeprägt zentral als peripher.

Für die Interpretation dieses Sachverhaltes möchte ich auf die Ergebnisse aus der Arbeit von Delori et al und Del Priore et al zurückgreifen. Während Del Priore eine Zunahme der Apoptoserate des RPE mit dem Alter feststellt, verzeichnet Delori in seiner Studie erst einen Anstieg der FAF bis zum 70. Lebensjahr und dann wiederum einen Abfall der FAF ab dem 70. Lebensjahr<sup>55,56</sup>. Wie im Grundlagenteil dieser Arbeit dargestellt ist, spiegeln sich vermehrte LF-Einlagerungen als Ausdruck des Alterns zunächst in einem Anstieg der FAF wieder. Als Folge dieses Prozesses steigt mit den Jahren jedoch die Belastung des RPE durch ROS und andere toxische Produkte, so dass das Pigmentepithel zunehmend Schaden an seinen Membranen und an seiner DNS erleidet. Kann die Reparaturfunktion in den postmitotischen Zellen nicht mehr aufrechterhalten werden, so gehen diese in Apoptose über. Das Pigmentepithel atrophiert. In der Augenspiegelung zeigen sich diese Bereiche der geografischen Atrophie (GA) wiederum als Zonen mit erniedrigter Autofluoreszenz<sup>28-38</sup>.

Während in vorhergehenden Untersuchungen, die eine positive lineare Korrelation zwischen FAF und Alter feststellten, schwerpunktmäßig die FAF jüngerer Menschen untersucht wurde (z.B. in einem Altersspektrum ab 20 Jahren), lag der Altersbereich

in dieser Studie schwerpunktmäßig bei älteren Probanden zwischen 60 – 80 Jahren. Dies kann möglicherweise die negative lineare Korrelation in dieser Studie erklären.

Für einen natürlichen Prozess bei dem es zuerst zu einem Anstieg der FAF mit einem Scheitel in höherem Alter und einem anschließenden Absinken der FAF kommt, wäre für die Beschreibung eine quadratische Funktion denkbar. Tatsächlich korreliert die quadratische Parabel für die gemittelte, zentrale und periphere FAF und das Gesamtfeld gleich gut oder stärker mit den Punktewerten als die lineare Darstellung (vgl. Abbildung 15 – Abbildung 22, Seite 33 – 40). Für die Peripherie korreliert die quadratische Funktion sogar hochsignifikant mit den Punktewerten, während die lineare Funktion hier als nicht signifikant eingestuft wird. Da der Scheitel der Parabel in dieser Studie bei 66 Jahren liegt, ist es möglich, die Probanden in 2 Gruppen einzuteilen, und noch einmal die lineare Korrelation der FAF für die Altersgruppe unter 66 Jahren und für die Altersgruppe über 65 Jahren getrennt zu untersuchen (vgl. Abbildung 23 – Abbildung 26, Seite 41 – 43). Hierbei lässt sich feststellen, dass die Autofluoreszenz in beiden Gruppen unterschiedlich mit dem Alter korreliert ist. Je nach untersuchtem Netzhautabschnitt, kommt man nach den hier gewonnenen Daten zu folgenden Ergebnissen:

Für die Peripherie und das ellipsenförmige Gesamtfeld ergeben sich ein positiver Trend bei den unter 66 Jährigen und ein negativer Trend bei den Probanden ab 66 Jahren und darüber (vgl. Abbildung 25 und Abbildung 26, Seite 42 und 43). Der Anstieg und der Abfall der FAF sind nicht sehr steil ausgeprägt, dennoch erscheint es plausibel, dass dieses Verhalten durch die RPE-Atrophie im höheren Lebensalter zum Tragen kommen kann.

Bei der Auswertung der gemittelten FAF hingegen liegt die Korrelation unter 66 Jahren bei  $r = -0,1$  und ab 66 Jahren bei  $r = -0,15$  (vgl. Abbildung 23, Seite 41). Hier liegt also bereits unter 66 Jahren ein negativer Trend vor, wobei man einschränkend hinzufügen muss, dass das Altersspektrum hier (abgesehen von einem Probanden) erst ab über 50 Jahren beginnt. Immerhin ist die negative Korrelation im Altersbereich ab 66 Jahren stärker ausgeprägt als unter 66 Jahren.

Die FAF der zentralen Felder hingegen korreliert unter 66 Jahren sogar stärker negativ, als im Bereich über 65 Jahren (vgl. Abbildung 24, Seite 42). Dieser Trend verhält sich hier demnach anders, als in der Peripherie und im Gesamtfeld. Eine mögliche Interpretation dieses Ergebnisses wäre, dass Altersprozesse der zentralen Gebiete (entsprechend der Makula lutea) früher einsetzen als in der Peripherie. Somit kann man einen stärkeren FAF-Anstieg in jüngeren Jahren erwarten, während aber auch die RPE-Atrophie und damit das Absinken der mittleren FAF hier früher einsetzen sollte als in den peripheren Gebieten der Netzhaut. In der Altersgruppe der 50 – 66 Jährigen könnte es möglich sein, dass die periphere FAF durch Lipofuszineinlagerungen noch ansteigt, während in zentralen Fundusgebieten bereits Abbau- und Apoptoseprozesse überwiegen und die FAF hier bereits wieder am Sinken ist. Interessanterweise nimmt die Steilheit der negativen Korrelation für die zentrale FAF in der Gruppe über 66 Jahren wieder ab, während die Korrelation für die Peripherie hier erstmalig beginnt negativ zu werden. Dies könnte eine gewisse zeitliche Verschiebung der gleichen Prozesse zwischen Netzhautperipherie und Netzhautzentrum anzeigen.

Um das Verhältnis der zentralen zur peripheren Autofluoreszenz wiederzugeben ist die Abbildung 27 auf Seite 44 erstellt worden. Hier ist die Differenz zwischen zentralen und peripheren Autofluoreszenzwerten in Korrelation mit dem Alter graphisch dargestellt. Aus diesem Diagramm geht hervor, dass die Differenz zwischen zentraler und peripherer FAF mit höherem Alter immer geringer wird. D.h. die Unterschiede zwischen der AF im Zentrum und in der Peripherie werden im höheren Alter immer kleiner. Auch diese Beobachtung könnte mit einem „Vorausseilen“ des Anstiegs und Abfalls der zentralen FAF im Einklang stehen.

Wenn in hohem Alter tatsächlich Apoptoseeffekte überwiegen, so könnte das die negative Korrelation der FAF in dieser Studie (siehe Abschnitt 4.2 „Korrelation der Autofluoreszenz mit dem Alter“, Seite 32 ff) erklären. Da hier vorwiegend ältere Probanden untersucht wurden, von denen die Mehrheit zwischen 60 und 80 Jahre alt gewesen ist, muss das Ergebnis nicht notwendigerweise im Widerspruch zu den Ergebnissen anderer Arbeiten mit jüngeren Probanden und positiver Korrelation zwischen FAF und Alter stehen. Mein Vorschlag geht deshalb dahin, den Alterungsprozess des RPE als dynamischen Prozess zu verstehen, bei dem es

zuerst durch die Einlagerung von LF zu einer Zunahme der Autofluoreszenz kommt, während sie im hohen Alter durch vermehrte RPE-Atrophie wiederum absinken kann. Zu diesem Ergebnis ist auch F. C. Delori in einer seiner Studien gekommen, wo er für die Korrelation der FAF mit dem Alter zunächst eine positive lineare Regression beschreibt, die ab 70 Jahren dann einen Wendepunkt erfährt und darüber hinaus negativ linear korreliert<sup>55</sup>. Unsere Ergebnisse legen bei gleichem Trend keine lineare, sondern eine quadratische Beschreibung dieses Sachverhaltes nahe.

Im folgenden Abschnitt möchte ich auf eine mögliche Einschränkung der eben diskutierten Ergebnisse eingehen:

### **Linseneffekt und AF der Papille**

Mit dem Alter wird die Linse zunehmend trüber, was im Extremfall bis zum Krankheitsbild des grauen Star führen kann<sup>13</sup>. Nun könnte man argumentieren, dass der Effekt der negativen Korrelation zwischen FAF und Alter, der in dieser Studie gezeigt werden konnte, auch durch eine zunehmende Trübung der Linse bedingt sein könnte. Dies wäre dann der Fall, wenn die progrediente Linsentrübung in einem wesentlichen Ausmaß die Detektion des FAF-Signals behindern würde. Um diesen Effekt abzuschätzen, wurde zusätzlich der gefäßfreie temporale Bereich der Papille einer AF-Analyse unterzogen (siehe Abbildung 28, Seite 45). Der Gedanke der dahinter steht ist, dass sich hier kein RPE und damit keine Lipofuszineinlagerungen befinden. Sollte die AF in diesem Bereich trotzdem negativ mit dem Alter korrelieren, so könnte dies ein Hinweis für einen vorhandenen Linseneffekt darstellen. Wie man auf der Abbildung 28 (Seite 45) erkennen kann, korreliert die AF über der temporalen Papille in unserer Gruppe aber schwach positiv ( $r= +0,19$ ) mit dem Alter. Diese positive Korrelation könnte möglicherweise durch eigene Alterungsprozesse der Sehnervenpapille erklärbar sein. Wie in dem Kapitel „Grundlagen“ unter 2.3 erwähnt, können vor allem langlebige extrazelluläre Proteine wie Kollagen und Elastin glykiert werden und somit selbst AF-Eigenschaften erhalten<sup>51,52</sup>. Die Auswertung der temporalen Papille ist ein Indiz dafür, dass Linseneffekte keine wesentliche Rolle auf die Detektion der FAF mit dem Optomap 200Tx spielen. Auch das Verhalten der peripheren FAF mit einem Anstieg in der Gruppe unter 66 Jahren und einem Abfall in der Gruppe ab 66 Jahren lässt sich durch eine progredient zunehmende Linsentrübung nicht plausibel erklären. Wäre die Detektion des AF-Signals hierdurch

maßgeblich beeinflusst, so hätte man hier mit einem kontinuierlichen Abfall der FAF über die gesamte Altersspanne rechnen müssen. Somit kann man zu dem Schluss kommen, dass die negative Korrelation zwischen FAF und Alter nicht plausibel durch den Linseneffekt bedingt sein kann.

### **Einfluss kardiovaskulärer Risikofaktoren**

Im Rahmen dieser Studie wurden die Probanden nach der Ausprägung kardiovaskulärer Risikofaktoren befragt, um eine mögliche Korrelation mit der Autofluoreszenz zu eruieren (siehe Punkt 3.1.3 , Seite 16). Ein hochsignifikanter Einfluss ergab sich für die Merkmale „Gewicht“, „BMI“ und „kardiovaskuläre Vorerkrankungen“ auf die Autofluoreszenz des zentralen Fundus. Die Merkmale zeigten eine negative Korrelation mit der zentralen FAF, d.h. bei ihrer Ausprägung neigten die Probanden dazu eine niedrigere Autofluoreszenz aufzuweisen als andere sonst vergleichbare Probanden. Die Korrelation beträgt für den BMI:  $r = -0,22$  und für das Merkmal CVE:  $r = -0,17$ . Dies kann bedeuten, dass ein erhöhter BMI und das Vorhandensein einer kardiovaskulären Vorerkrankung in Zusammenhang mit einer stärkeren Ausprägung der RPE-Atrophie stehen können und dadurch zu einem Absinken der FAF führen. Umgekehrt kann dies auch bedeuten, dass in hohem Alter ein Absinken der FAF unter den entsprechenden Normbereich ein Indiz für ein erhöhtes kardiovaskuläres Risiko sein könnte.

In dieser Studie ergab sich eine signifikante Korrelation hierfür jedoch nur für die zentralen Felder. Über den peripheren Gebieten ergab sich keine signifikante Korrelation für diese beiden Merkmale. Auch die anderen hier erfassten Merkmale (Bluthochdruck, Rauchen, Blutdruckmedikation, Diabetes, erhöhte Blutfette, CVE bei Blutsverwandten) korrelierten nicht signifikant mit der zentralen oder peripheren Fundusautofluoreszenz.

Einige Ausnahme stellt das Merkmal „Diabetes“ dar. Dieses korreliert bei Ausprägung signifikant positiv mit  $r = 0,15$  mit der FAF über der Netzhautperipherie. Dies könnte vielleicht bedeuten, dass sich dort mehr LF-Einlagerungen gebildet haben als bei Probanden ohne Diabetes.

Eine gewisse Einschränkung der Qualität der internistischen Basisdaten muss jedoch eingestanden werden, da die Daten durch mündliche Befragung der älteren

Probanden gewonnen worden sind und nicht durch klinisch objektivierbare Untersuchungen. So konnten viele Studienteilnehmer nur vage Aussagen zu ihrem Blutdruck oder den Blutfettwerten treffen. Da beim Eruieren des Raucherstatus nur erfragt wurde, ob der Proband aktuell raucht oder nicht, liegt der Nichtraucherstatus in der Gruppe sehr hoch. Hier hätte wohl besser die Anzahl der Packungsjahre im Laufe des Lebens erfragt werden können, da nicht wenige aktuelle Nichtraucher früher einmal geraucht haben. In diesem Zusammenhang ist es interessant, dass im Rahmen der Befragung gerade die „härteren Daten“ Gewicht bzw. BMI, CVE und Diabetes eine Korrelation mit der FAF ergeben haben. Es erscheint mir plausibel, dass sich der internistische Gesundheitszustand vor allem in den stoffwechselaktiven zentralen Bereichen der Netzhaut niederschlägt und hier als eine Auswirkung die Entwicklung der Autofluoreszenz beeinflusst. Hierfür könnten diese Daten einen Hinweis liefern.

### **Beitrag und Vorhersagewert der peripheren FAF**

Eine weitere Frage ist, ob und wie man für zukünftige Screeningzwecke neben der zentralen FAF auch die periphere FAF mit in Betracht ziehen könnte. Für die zentrale FAF konnte bereits gezeigt werden, dass erhöhte Werte hier der Manifestation einer AMD vorausgehen können<sup>3,71,72</sup>. Unklar ist hingegen der Vorhersagewert der Autofluoreszenz über peripheren Netzhautabschnitten.

Die Ergebnisse dieser Studie deuten darauf hin, dass die periphere FAF im höheren Alter nicht gleichsinnig mit der zentralen FAF korreliert (vgl. Abbildung 17 – Abbildung 20, Abbildung 24 und Abbildung 25 / Seiten 35 – 38; 42). Dennoch gibt es eine Korrelation der peripheren FAF mit dem Alter, die am besten durch die quadratische Funktion in Abbildung 20 dargestellt wird. Dies bedeutet, dass man auch die periphere FAF als zusätzlichen Marker verwenden könnte, um eine Abweichung von dem generellen Altersdurchschnitt festzustellen.

Eine Herausforderung könnte es nach meiner Ansicht sein, dass die Normalwerte der Probanden in einem größeren Bereich streuen (für die Peripherie zw. 180 und 95; für Zentral zwischen 195 und 98; vgl. Boxplot in Abbildung 13 auf Seite 30) Auch wenn man bei den Randwerten von „Ausreißern“ ausgehen muss, so gibt es doch für jedes Alter eine erhebliche Bandbreite der „normalen“ Autofluoreszenz. Diese Bandbreite

wird mit dem zunehmenden Alter tendenziell eher größer (siehe auch Abbildung 15 – Abbildung 22 / Seite 33 – 40). Wie Aussagekräftig die FAF für etwaige Screeningprozesse sein kann wird auch davon abhängig sein, wie weit sich die Bandbreite der FAF-Werte z.B. bei Frühformen der AMD von denen der Normalbevölkerung unterscheidet. Sollte sich die Bandbreite der FAF in beiden Gruppen großflächig überschneiden, so wird die Aussagekraft eines FAF-Screenings niedriger sein, als wenn hier deutlichere Unterschiede bestehen sollten. Dennoch ist es denkbar, dass die Kombination von peripherer und zentraler FAF eine solche Aussagekraft („Wann besteht eine Abweichung von der Norm?“) verbessern könnte. So könnte die Analyse der peripheren FAF den Aussagewert der zentralen FAF ergänzen. Für sich alleine betrachtet scheint die Autofluoreszenz der zentralen Netzhautgebiete aussagekräftiger zu sein, da hier eine höhere Stoffwechselaktivität und eine höhere Photorezeptordichte vorliegt als in der Netzhautperipherie<sup>103,104</sup>. So ergab sich in dem in dieser Studie durchgeführten Interview für vier Risikofaktoren ein signifikanter Zusammenhang mit der FAF. Drei davon korrelieren hingegen mit der zentralen FAF, während nur ein einziger mit der peripheren FAF korreliert ist. Dennoch zeigt Abbildung 20, dass sich ein guter Zusammenhang zwischen Alterungsprozessen und peripherer Fundusautofluoreszenz darstellen lässt.

### **Ellipsoides Messfeld**

In einer weiteren Analyse ist die FAF in einem ellipsoiden Gesamtfeldes (siehe Abbildung 12, Seite 26) untersucht worden, welches zentrale und periphere Netzhautabschnitte miteinander vereint. Der Vorteil einer Auswertung in diesem Bereich würde darin bestehen, dass nur ein einziges Feld analysiert werden muss und nicht 8 einzelne Sektoren in einem Grid. Dies würde in der Praxis wesentlich schneller gehen. Auch würden einzelne Pigmentstörungen in der Summe dieses größeren Feldes nicht so stark ins Gewicht fallen. Jedoch sollte sich eine generalisierte pathologische FAF-Erhöhung oder Erniedrigung hier genauso signifikant zeigen, wie bei der Vermessung der einzelnen Sektoren.

Die Ergebnisse der Studie zeigen, dass die Messwerte für die mittlere FAF hier in einem engeren Bereich liegen als bei der Analyse der Sektoren 1-8. So lagen der Maximalwert für das Gesamtfeld bei 169 und der Minimalwert bei 125. Die Standardabweichung betrug sogar nur 7 und lag somit mehr als doppelt so niedrig,

wie z.B. die Standardabweichung der zentralen FAF aus den Sektoren 1-4 (siehe 4.1 „Verteilung der AF am Fundus“). Ansonsten verhält sich die Autofluoreszenz im Gesamtfeld tendenziell eher so, wie die periphere FAF aus den Sektoren 5-8 (vgl. Abbildung 19 – Abbildung 22, Abbildung 25, Abbildung 26 / Seite 37 – 40; 42; 43). Vielleicht könnte die Auswertung eines „Gesamtfeldes“ für die Zukunft eine praktikable Screeningoption darstellen. Jedoch fehlen dafür noch Studien über die Vergleichswerte z.B. von Patienten mit Frühformen der AMD. Diese Studie kann bei über 50-Jährigen erstmals Anhaltspunkte für die physiologische Entwicklung der FAF in der Netzhautperipherie liefern.

### **Mögliche Perspektiven für die Zukunft und Limitationen**

Die Messung der Autofluoreszenz am Augenhintergrund eröffnet neue Möglichkeiten für die Zukunft. Die große Hoffnung besteht darin, hierdurch einmal retinale Erkrankungen in einem Frühstadium erfassen zu können, wie dies durch die gewöhnliche Ophthalmoskopie allein nicht möglich wäre. Dafür müsste jedoch die Bedingung erfüllt sein, dass diese Erkrankungen von Veränderungen der Autofluoreszenz begleitet werden, oder dass diese der Erkrankung sogar vorausgehen. Bei der AMD gibt es Hinweise dafür, dass dies der Fall ist<sup>3,69-72</sup>.

Wie weiter oben Besprochen, wird der Erfolg eines praktikablen FAF-Screenings jedoch wesentlich davon abhängen, wie signifikant sich die FAF bei Frühformen der AMD von der physiologischen FAF für das jeweilige Alter unterscheidet. Dies könnte eine Fragestellung weiterer Studien sein.

Des Weiteren erscheint es möglich, dass die Analyse der Fundusautofluoreszenz zukünftig als ein weiterer Faktor in die kardiovaskuläre Risikoprädiktion eingehen könnte. Wie wir gesehen haben, korreliert die FAF für die zentralen Bereiche signifikant mit dem Merkmal CVE und BMI. Eine Korrelation mit weiteren kardiovaskulären Risikofaktoren könnte möglich sein. Wie auf S.54/55 besprochen hat der Fragebogen für diese Merkmale jedoch keine ausgesprochen harten Daten geliefert. Ein kardiovaskuläres Risiko allein auf Grund der FAF abzuschätzen wird nach dieser Datenlage allerdings kaum möglich sein. Dafür scheint die Korrelation nicht stark genug zu sein.

Jedoch gibt es für die Interpretation des retinalen Autofluoreszenzverhaltens auch Einschränkungen, die in Betracht zu ziehen sind: So müssen bei der Ausmessung des Fundus sorgfältig größere Gefäße, Narben und Pigmentverschiebungen umgangen werden, um das Ergebnis nicht zu verfälschen<sup>70,89</sup>.

Zudem muss bedacht werden, dass wie auf S. 55/56 diskutiert, die physiologische Bandbreite der FAF recht hoch ist, was im Einzelfall zuverlässige Aussagen über den pathologischen Wert einer Abweichung vom Mittelwert erschweren kann.

Ein weiterer Punkt ist, dass bis jetzt verlässliche Methoden fehlen, um die absolute Quantifizierung von FAF-Intensitäten durchführen zu können<sup>105</sup>. Auch Einbock et al weist in ihrer Arbeit darauf hin, dass bis heute mit dem Detektor keine absolute Quantifizierung der FAF möglich ist und für das Erzielen korrekter Ergebnisse eine strenge Standardisierung des Auswertungsprotokolls notwendig ist<sup>70</sup>. Die geforderte Standardisierung wurde in dieser Studie durch die Anwendung eines Grid umgesetzt. Die Messwerte für die Fundusautofluoreszenz basieren hingegen auf der Auswertung von Graustufen im FAF-Bild durch das Programm ImageJ. Sie stellen somit ebenfalls keine direkte Quantifizierung der Autofluoreszenz dar (siehe Material und Methoden, Punkt 3.4.1 „Bildanalyse“). Für den Vergleich der FAF-Werte aus verschiedenen Studien ist es somit essentiell, dass die Aufnahmen mit dem gleichen SLO durchgeführt werden, da verschiedene SLO's verschiedene Filter verwenden und somit unterschiedliche Graustufen erzeugen<sup>105</sup>.

Eine weitere Einschränkung kann die Verwendung des Optomap 200Tx für die quantitative Erfassung der Autofluoreszenz betreffen. So kam es gelegentlich vor, dass die „Helligkeit“ des FAF-Bildes zwischen 2 Aufnahmen des gleichen Fundus variierte (z.B. um 10 Graustufenwerte). Die gemessene Helligkeit im Optomap-Bild kann also nicht nur von der Autofluoreszenzintensität des Fundus allein abhängen. Hier müssen andere dynamische Prozesse für die Aufnahme mit hineinspielen. Welcher Faktor das sein kann, ist mir nicht ganz klar. Vielleicht hängt das Ergebnis auch davon ab, wie gut der Patient während der Aufnahme auf den Laser fokussiert. Jedoch scheinen die Entwickler mit der FAF-Technik des Optomap eher die qualitative Bildbegutachtung durch den Untersucher im Blick gehabt zu haben, als eine quantitative Analyse der Pixelwerte am Computer.

Nach den ermittelten Daten eröffnen sich für die Interpretation der gefundenen FAF-Werte ebenso interessante Fragestellungen: „Ist z.B. ein Mensch mit 80 Jahren und erhöhter FAF in seiner Altersgruppe als besonders gesund zu betrachten, weil seine Netzhaut in geringerem Maß Zonen der RPE-Atrophie aufweist als der Durchschnitt; während ein Mensch mit 50 Jahren und erhöhter FAF in seiner Altersgruppe als besonders gefährdet einzustufen ist, weil dies auf vermehrte LF-Einlagerungen schließen lässt?“ Diese und andere Fragen könnten vielleicht am besten in einer länger angelegten Longitudinalstudie untersucht werden. Die potentiellen Möglichkeiten der FAF-Analyse erstrecken sich hingegen nicht nur auf die Darstellbarkeit von Alterungsprozessen der Retina, sie könnte in Zukunft einen entscheidenden Beitrag für die Früherkennung von kardiovaskulär gefährdeten Patienten und für die Frühdiagnose verschiedener Netzhauterkrankungen wie der AMD leisten. Für die Aussagekraft der FAF hat sich nach meiner Einschätzung durch die Entwicklung des Weitwinkel-SLO „Optomap 200Tx“ und die dadurch möglich gewordene Integration weiter Teile der Fundusperipherie eine potentielle Verbesserung ergeben.

## 6. Zusammenfassung

Der Augenhintergrund des Menschen zeigt Autofluoreszenzverhalten, wenn er mit Laserlicht im grünen oder blauen Bereich angeregt wird. Hauptverantwortlich dafür können Ablagerungen aus Lipofuszin gemacht werden, das auch als Alterspigment bekannt ist und im Laufe des Lebens in postmitotischen Zellen akkumuliert. In der Netzhaut sind vor allem die Zellen des retinalen Pigmentepithels von den LF-Einlagerungen betroffen, welches hier als Folge der andauernden Degradierung von Außensegmenten der Photorezeptoren entsteht. In der Ophthalmoskopie spiegelt sich dies zunächst in einem Anstieg der Fundusautofluoreszenz mit dem Alter wieder.

Für die Augenheilkunde ist es bedeutsam herauszufinden, ob die Intensität der FAF als ein Korrelat für Alterungsprozesse der Netzhaut betrachtet werden kann und wie der physiologische FAF-Verlauf mit dem Älterwerden aussehen könnte. So konnten verschiedene Gruppen zeigen, dass AMD-Patienten eine signifikant höhere FAF über der Makula aufweisen, als altersentsprechende Probanden ohne AMD<sup>3,69,70</sup>. Es konnte auch gezeigt werden, dass eine Erhöhung der zentralen FAF sogar der Manifestation einer AMD vorausgehen kann und deren Entwicklung begünstigt<sup>71,72</sup>. Es wäre somit vorstellbar, Risikopatienten für die Entwicklung einer AMD anhand ihrer FAF zu identifizieren, noch bevor die Krankheit auftritt. Die Herausforderung besteht jedoch darin, dass die individuellen Unterschiede erheblich sind und bis heute keine altersentsprechenden Normwerte für die FAF existieren. Außerdem haben wir derzeit nur ein sehr begrenztes Wissen über das Verhalten der peripheren FAF. Dies liegt auch daran, dass weite Teile der Netzhautperipherie nicht mit herkömmlichen Ophthalmoskopen einsehbar sind. Hingegen können mit dem Weitwinkel-SLO „Optomap 200Tx“ bis zu 82% der gesamten Netzhaut eingesehen werden und somit auch weite Teile der Peripherie dargestellt werden<sup>4</sup>. Reznicek et al konnte mit diesem Gerät zeigen, dass die periphere FAF von AMD-Patienten ebenfalls signifikant höher liegt, als die von gesunden Vergleichsprobanden<sup>5</sup>. Somit ist es denkbar auch die peripheren Netzhautareale für die Messung miteinzubeziehen, was die Aussagekraft der Autofluoreszenz in Zukunft noch verbessern könnte.

Ziel dieser Arbeit ist es gewesen, die Korrelation zwischen FAF und Alter bei Probanden zu erfassen die über 50 Jahre alt sind und keine AMD aufweisen. Somit sollten Hinweise auf einen altersentsprechenden Verlauf der FAF in der Normalbevölkerung gefunden werden. Dabei wurde zum einen die FAF-Intensität über den zentralen Gebieten der Makula lutea untersucht und zum anderen die FAF-Intensität der Netzhautperipherie. Insbesondere die Analyse der Netzhautperipherie stellt dabei wissenschaftliches Neulandgebiet dar. Ziel ist es gewesen zu zeigen, wie sich zentrale und periphere Fundusabschnitte zueinander verhalten und ob eine Alterung des retinalen Pigmentepithels zentral und peripher darstellbar ist. Zusätzlich wurden kardiovaskuläre Risikofaktoren der Probanden in einem Interview erfasst, um einen möglichen Einfluss auf die FAF statistisch untersuchen. In dem Interview wurden Alter, Größe, Gewicht und die kardiovaskulären RF erfragt.

An dieser Studie haben 203 Probanden im Alter zwischen 50 und 91 Jahren teilgenommen. Bei jedem Studienteilnehmer wurde eine Augenspiegelung mit dem Optomap 200Tx durchgeführt. Von jedem Auge wurde jeweils ein Bild in der semirealistischen Zwei-Laser-Wellenlängen-Untersuchung und eines im AF-Modus aufgenommen. Bei 45% der Patienten konnte zudem eine OCT-Untersuchung durchgeführt werden. Durch Begutachtung der Bilder und ggf. der OCT konnten von den insgesamt 358 Aufnahmen 44 Augen mit Manifestation einer AMD ausgeschlossen werden. Weitere 33 Aufnahmen mussten wegen schlechter Bildqualität verworfen werden, so dass insgesamt 281 Fundusaufnahmen der Bildanalyse zugeführt werden konnten. Hierfür wurde das Programm „ImageJ“ verwendet, mit dem die erzeugten Graustufen in einem standardisierten Grid quantifiziert werden können.

Die Ergebnisse zeigen, dass sich eine Alterung des retinalen Pigmentepithels anhand der FAF darstellen lässt. Generell liegen die Werte für die zentrale FAF höher als für die periphere FAF (vgl. Abbildung 13, Seite 30), was sich durch die höhere Dichte an Photorezeptoren und durch die höhere Stoffwechselaktivität in diesem Bereich erklärt werden kann. Jedoch zeigen die Ergebnisse dieser Studie nicht wie in anderen Studien, einen kontinuierlichen Anstieg der FAF mit dem Alter, sondern einen dynamischen Verlauf. Die FAF der Netzhautperipherie hat nach unserer Datenlage bis 66 Jahre positiv mit dem Alter korreliert und darüber hinaus

negativ mit dem Alter korreliert, und kann am besten durch eine negative quadratische Parabel mit ihrem Scheitelpunkt bei 66 Jahren beschrieben werden (Abbildung 20, Seite 38). Die zentrale FAF hingegen zeigt in dieser Studie eine negative Korrelation mit dem weiteren Altersanstieg über 50 Jahre, die hochsignifikant durch eine positive quadratische Funktion beschrieben werden kann (Abbildung 18, Seite 36). Dies könnte bedeuten, dass die Entwicklung der Fundusautofluoreszenz einem dynamischen Prozess unterliegt, bei dem es zuerst in jungen Jahren, durch Lipofuszineinlagerungen, zu einem Anstieg der FAF kommt, während es in höherem Lebensalter durch das Überwiegen retinaler Apoptosevorgänge hingegen wiederum zu einem Absinken der FAF kommt. Dies bedeutet, dass unsere Studie nicht im Widerspruch mit anderen Studien stehen muss, da in diesen bereits deutlich jüngere Patienten eingeschlossen wurden<sup>5,42</sup>. Auch Delori et al konnte in seiner Arbeit von 2001 einen zweigeteilten Verlauf der FAF mit einer positiven Korrelation zwischen FAF und Alter unter 70 Jahren und einer negativen Korrelation über 70 Jahren beschreiben<sup>55</sup>.

Des Weiteren ließe sich die stärker negative Korrelation der zentralen FAF, die in dieser Studie zudem über den gesamten Altersbereich zwischen 50 und 88 Jahren zu verzeichnen ist, mit einem „Vorauseilen“ zentraler Alterungsprozesse im Vergleich zur Netzhautperipherie deuten. Während die Korrelation der Netzhautperipherie mit 66 Jahren ihren Wendepunkt erfährt, wäre es denkbar, dass dieser für das Netzhautzentrum bereits zu einem früheren Zeitpunkt außerhalb unseres Probandenkollektivs gelegen haben könnte. Eine potente Erklärung für ein „Vorauseilen“ der zentralen FAF könnte sein, dass die zentralen Netzhautgebiete eine höhere Dichte an Photorezeptoren und damit einen stärkeren Stoffwechsel als die peripheren Gebiete aufweisen<sup>11</sup>. Somit sind die postmitotischen Pigmentepithelzellen hier einem höheren oxidativen Stress ausgesetzt und Alterungs- und Abbauprozesse könnten hier früher zum Tragen kommen als in der Netzhautperipherie<sup>103</sup>. Dafür spricht auch, dass die Differenz zwischen zentraler und peripherer FAF bei den Probanden mit ansteigendem Alter immer geringer wird.

Dieser dynamische Verlauf der FAF würde es trotzdem zulassen, jeder Altersgruppe Normwerte für die zentrale und die periphere FAF zuzuordnen. Es wäre damit denkbar retinale Erkrankungen, die mit einer FAF-Verschiebung einhergehen, durch

Abweichung von der physiologischen FAF zu erkennen. Hierfür könnte man prinzipiell die peripheren Netzhautbereiche als Ergänzung zu den zentralen Bereichen verwenden.

Die Daten ergaben weiterhin eine negative Korrelation der zentralen FAF mit den internistischen Risikomerkmalen „BMI“ und „CVE“. Je niedriger die FAF in der Altersgruppe lag, desto höher war die Wahrscheinlichkeit der Betroffenen von einem erhöhten BMI oder einem kardiovaskulären Ereignis betroffen zu sein. Somit könnte es sein, dass kardiovaskuläre Prozesse auch einen Einfluss auf die Autofluoreszenz der Netzhaut ausüben oder gemeinsame Risikofaktoren besitzen.

Eine Einschränkung für die Auswertung der FAF liegt in der größeren Streuung der Messwerte in dieser Studie. Diese nimmt physiologischer Weise mit dem Alter noch zu, wie es auch die Messungen in anderen Studien nahe legen<sup>42,55</sup>. Eine gewisse Unschärfe der Daten könnte jedoch auch durch das Optomap 200Tx bedingt sein, da hier primär keine Messwerte für die AF erzeugt werden, sondern nur Graustufen in einem Bild, die dann wiederum in einem 2. Schritt durch ein Bildanalyseprogramm quantifiziert werden müssen.

Durch die Daten dieser Studie kann man schlussfolgern, dass sowohl die zentrale, als auch die periphere FAF mit dem Alter korreliert sind. Die Korrelation wird am besten durch eine quadratische Funktion anstelle einer Geraden wiedergegeben. Ich glaube anhand der gefundenen Ergebnisse, dass die FAF erst im Laufe des Lebens ansteigt, dann einen Scheitelpunkt erreicht und infolge von Apoptose- und Abbauvorgängen im höheren Alter wieder absinkt. Die Ergebnisse in dieser Studie legen nahe, dass der Scheitelpunkt für die zentrale FAF früher erreicht wird, als für die periphere FAF.

Prinzipiell scheint die periphere Autofluoreszenz die Aussagekraft der zentralen Autofluoreszenz ergänzen zu können, auch wenn letztere für sich allein genommen stärker mit dem Alter korreliert ist. Dafür kann die periphere FAF in einem größeren Gebiet am Fundus bestimmt werden und ist somit auch noch darstellbar, wenn einzelne Pigmentverschiebungen oder Läsionen die Auswertung der zentralen FAF erschweren.

## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Schematischer Schnitt durch die Netzhaut. (Aus: Grehn F, 'Augenheilkunde' 2012, 31. Auflage, Springer Medizin Verlag Heidelberg, Abbildung 14.1, S. 216) .....	4
Abbildung 2: Synthese und Struktur des Moleküls A2E (Aus: Dazhong Yin. Biochemical basis of lipofuscin, ceroid and age pigment-like fluorophores. Free Radical Biology & Medicine, 1996;21(6):871-888) .....	7
Abbildung 3: Anzahl und Altersverteilung der Probanden. Altersangabe in Jahren..	15
Abbildung 4: Sichtbereich in der einfachen Augenspiegelung (Aus: <a href="http://www.optos.com/en/Professionals/General-ophthalmology/Product-description">http://www.optos.com/en/Professionals/General-ophthalmology/Product-description</a> ; Stand: 24.07.14).....	17
Abbildung 5: Sichtbereich mit dem Optomap 200Tx (Aus: <a href="http://www.optos.com/en/Professionals/General-ophthalmology/Product-description">http://www.optos.com/en/Professionals/General-ophthalmology/Product-description</a> ; Stand: 24.07.14).....	17
Abbildung 6: Schematische Darstellung der Eindringtiefe des roten, grünen und blauen Lasers in die Netzhaut (Aus: <a href="http://www.optos.com/en/Professionals/General-ophthalmology/Product-description">http://www.optos.com/en/Professionals/General-ophthalmology/Product-description</a> ; Stand: 24.07.14).....	18
Abbildung 7: Bildgebung mit dem Optomap 200Tx, semirealistische Darstellung des Augenhintergrundes, eigene Aufnahme .....	19
Abbildung 8: Bildgebung mit dem Optomap 200Tx, Autofluoreszenzaufnahme des gleichen Auges wie in Abb. 7 .....	20
Abbildung 9: schematischer Aufbau des Spektral-Domänen-OCT (Aus: <a href="http://en.wikipedia.org/wiki/File:Fd-oct.PNG">http://en.wikipedia.org/wiki/File:Fd-oct.PNG</a> , Stand: 07/2014).....	22
Abbildung 10: Optische Kohärenztomographie. Schnittbildgebung durch die Makula. (Spectralis-OCT, Heidelberg Engineering, Heidelberg, Deutschland). Eigene Aufnahme .....	23
Abbildung 11: Autofluoreszenz am Augenhintergrund, Unterteilung in Felder durch ein Gitternetz (Grid), gleiches Auge wie in Abb. 7 und 8 .....	25
Abbildung 12: Augenhintergrund, Autofluoreszenzaufnahme, Ausmessung eines großen ellipsoiden Feldes (Gesamtfeld).....	26
Abbildung 13: Box-Plot-Darstellung, Vergleich zwischen zentraler und peripherer Fundusautofluoreszenz (FAF) .....	30

Abbildung 14: Boxplot-Darstellung, Vergleich zwischen nasaler und temporaler Fundusautofluoreszenz (FAF) .....	31
Abbildung 15: gemittelte Fundusautofluoreszenz (FAF), lineare Korrelation mit dem Alter; $r = -0,29$ ; p-Wert < 0,01 (hochsignifikant) .....	33
Abbildung 16: gemittelte Fundusautofluoreszenz (FAF), quadratische Korrelation mit dem Alter; $r = -0,29$ ; p-Wert < 0,01 (hochsignifikant) .....	34
Abbildung 17: zentrale Fundusautofluoreszenz (FAF), lineare Korrelation mit dem Alter; $r = -0,35$ ; p-Wert < 0,01 (hochsignifikant) .....	35
Abbildung 18: zentrale Fundusautofluoreszenz (FAF), quadratische Korrelation mit dem Alter; $r = 0,36$ ; p-Wert < 0,01 (hochsignifikant) .....	36
Abbildung 19: periphere Fundusautofluoreszenz (FAF), lineare Korrelation mit dem Alter; $r = -0,09$ ; p-Wert = 0,125 (nicht signifikant) .....	37
Abbildung 20: periphere Fundusautofluoreszenz (FAF), quadratische Korrelation mit dem Alter; $r = -0,19$ ; p-Wert < 0,01 (hochsignifikant) .....	38
Abbildung 21: Fundusautofluoreszenz (FAF) des Gesamtfeldes, lineare Korrelation mit dem Alter, $r = -0,14$ ; p-Wert = 0,022 (signifikant) .....	39
Abbildung 22: Fundusautofluoreszenz (FAF) des Gesamtfeldes, quadratische Korrelation mit dem Alter, $r = -0,18$ ; p-Wert = 0,016 (signifikant) .....	40
Abbildung 23: a) gemittelte Fundusautofluoreszenz; Gruppe < 66 Jahren; $r = -0,1$ ; $p = 0,298$ b) gemittelte Fundusautofluoreszenz; Gruppe > 65 Jahren; $r = -0,15$ ; $p = 0,046$ .....	41
Abbildung 24: a) zentrale Fundusautofluoreszenz; Gruppe < 66 Jahren; $r = -0,24$ ; $p = 0,014$ b) zentrale Fundusautofluoreszenz Gruppe > 65 Jahren; $r = -0,1$ ; $p = 0,217$ .....	42
Abbildung 25: a) periphere Fundusautofluoreszenz; Gruppe < 66 Jahren; $r = +0,1$ ; $p = 0,321$ b) periphere Fundusautofluoreszenz Gruppe > 65 Jahren; $r = -0,19$ ; $p = 0,012$ .....	42
Abbildung 26: a) Fundusautofluoreszenz Gesamtfeld; Gruppe < 66 Jahren; $r = +0,1$ ; $p = 0,348$ b) Fundusautofluoreszenz Gesamtfeld Gruppe > 65 Jahren; $r = -0,13$ ; $p = 0,104$ .....	43
Abbildung 27: Differenz der Fundusautofluoreszenz aus Netzhautzentrum und Peripherie, $r = -0,26$ ; p-Wert < 0,01 (hochsignifikant) .....	44
Abbildung 28: Fundusautofluoreszenz (FAF) der Papille, Korrelation mit dem Alter, $r = 0,19$ ; p-Wert = 0,013 (signifikant) .....	45

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Vergleich der altersbezogenen Inzidenz für Frühformen und Spätformen der AMD (Aus: Ronald Klein, Barbara E K Klein, Michael D Knudtson et al. Fifteen-Year Cumulative Incidence of Age-Related Macular Degeneration. <i>Ophthalmology</i> 2007;114:253–262) .....	9
Tabelle 2: Hauprisikofaktoren für die Manifestation der Koronaren Herzkrankheit. (Aus: Grundy, Scott. Assessment of Cardiovascular Risk by Use of Multiple-Risk-Factor Assessment Equations. <i>Circulation</i> , Volume 100(13), 28 September 1999, pp 1481-1492) .....	12
Tabelle 3: Weitere Risikofaktoren für die Manifestation der Koronaren Herzkrankheit. (Aus: Grundy, Scott M. MD. Assessment of Cardiovascular Risk by Use of Multiple-Risk-Factor Assessment Equations. <i>Circulation</i> , Volume 100(13), 28 September 1999, pp 1481-1492).....	13
Tabelle 4: Mittlere Autofluoreszenzintensität am Augenhintergrund in verschiedenen Bereichen .....	28
Tabelle 5: Zuordnung der Sektoren zu den Feldern im Gitternetz (Grid), aufgetrennt nach rechtem und linkem Auge .....	29
Tabelle 6: Signifikante Korrelationen zwischen kardiovaskulären Risikofaktoren und der Fundusautofluoreszenz (FAF), Übersicht mit Angabe der p-Werte, n.s. = nicht signifikant.....	46
Tabelle 7: Korrelation aus der Fundusautofluoreszenz (FAF) der zentralen Sektoren (5-8) und dem Body-Mass-Index (BMI) .....	47
Tabelle 8: Korrelation aus der Fundusautofluoreszenz (FAF) der zentralen Sektoren (5-8) und dem Merkmal ‘kardiovaskuläre Vorerkrankung’ (CVE) .....	47

## Literaturverzeichnis

- <sup>1</sup> Kellner U, Kellner S. Therapieorientierte retinale Diagnostik. *Klin Monatsbl Augenheilkd* 2011;228:57–81
- <sup>2</sup> Heimann H, Kellner U. 'Atlas des Augenhintergrundes: Angiografie, OCT, Autofluoreszenz und Ultraschall' 2010, Georg Thieme Verlag KG Stuttgart · New York, Kellner U, Kapitel 1.10 'Retinale Bildgebung: Standortbestimmung und Methodenvergleich', S. 34-35.
- <sup>3</sup> Solbach U, Keilhauer C, Knabben H, Wolf S. Imaging of retinal Autofluorescence in patients with age-related macular degeneration. *Retina* 1997;17:385-389.
- <sup>4</sup> DE\_200Tx-Broschüre.pdf, erhältlich unter <http://www.optos.com/en/Products/Retinal-imaging-products/Ultra-widefield-imaging/200tx/> (Stand: 07.12.15)
- <sup>5</sup> Reznicek L, Wasfy T, Stumpf C, Kampik A, Ulbig M, Neubauer AS, Kernt M. Peripheral Fundus Autofluorescence Is Increased in Age-Related Macular Degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2012;53:2193–2198.
- <sup>6</sup> Grehn F, 'Augenheilkunde' 2012, 31. Auflage, Springer Medizin Verlag Heidelberg, Kap 14.1 'Netzhaut – Anatomische und funktionelle Grundlagen', S 215 – 219.
- <sup>7</sup> Newman E, Reichenbach A. The Müller cell: a functional element of the retina. *Trends in neurosciences* 1996, Volume 19, Issue 8, Pages 307–312.
- <sup>8</sup> Agte S, Junek S, Matthias S et al. Müller Glial Cell-Provided Cellular Light Guidance through the Vital Guinea-Pig Retina. *Biophysical Journal* 2011;101:2611–2619.
- <sup>9</sup> Steinberg RH. Interactions between the retinal pigment epithelium and the neural retina. *Doc Ophthalmol*. 1985;60(4):327-46.
- <sup>10</sup> Strauss O. The Retinal Pigment Epithelium in Visual Function. *Physiol Rev* 2005;85:845–881.
- <sup>11</sup> Schmidt, Lang, 'Physiologie des Menschen' 2007, 30. Auflage, Springer Medizin Verlag Heidelberg, Kap 18.5 'Netzhaut – Aufbau, Signalaufnahme und Signalverarbeitung', S.391 – 398.
- <sup>12</sup> Grehn F, 'Augenheilkunde' 2012, 31. Auflage, Springer Medizin Verlag Heidelberg, Kap 13.2.1 'Ophthalmoskopie', S. 200.
- <sup>13</sup> Pokorny J, Smith VC, Lutze M. Aging of the human lens. *Appl Opt*. 1987;26:1437–1440
- <sup>14</sup> Repka MX, Quigley HA. The Effect of Age on Normal Human Optic Nerve Fiber Number and Diameter. *Ophthalmology* 1989;96(1):26-32.
- <sup>15</sup> Jonas JB, Schmidt AM, Muller-Bergh JA, Schlotzer-Schrehardt UM, Naumann GO. Human Optic Nerve Fiber Count and Optic Disc Size. *Investigative Ophthalmology & Visual Science* 1992;33(6):2012-2018.
- <sup>16</sup> Ciulla MM, Tortora G, Valentini P et al. Vascular network changes in the retina during ageing in normal subjects: a computerized quantitative analysis. *Ital Heart J*. 2000;1(5):361-364.
- <sup>17</sup> Ibrahim Y, Bots M, Mulder P, Grobbee D, Hofman A, Jong P. Number of Perifoveal Vessels in Aging, Hypertension, and Atherosclerosis: The Rotterdam Study. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1998;39: 1049-1053.
- <sup>18</sup> Feeney-Burns L, Berman ER, Rothman H. Lipofuscin of human retinal pigment epithelium. *American Journal of Ophthalmology* 1980;90(6):783-91.

- 
- <sup>19</sup> Schraermeyer U, Heimann K. Current understanding on the role of retinal pigment epithelium and its pigmentation. *Pigment Cell Res.* 1999;12:219–236.
- <sup>20</sup> Yin D. Biochemical basis of lipofuscin, ceroid and age pigment-like fluorophores. *Free Radical Biology & Medicine* 1996;21:871-888.
- <sup>21</sup> Boulton M, Docchio F, Dayhaw-Barker P, Ramponi R, Cubeddu R. Age-related changes in the morphology, absorption and fluorescence of melanosomes and lipofuscin granules of the retinal pigment epithelium. *Vision Res.* 1990;30:1291–1303.
- <sup>22</sup> Boulton M, Dayhaw-Barker P. The role of the retinal pigment epithelium: topographical variation and ageing changes. *Eye* 2001;15:384–389.
- <sup>23</sup> Sparrow JR, Boulton M. RPE lipofuscin and its role in retinal pathobiology. *Experimental Eye Research* 2005;80:595–606.
- <sup>24</sup> Kennedy CJ, Rakoczy PE, Constable IJ. Lipofuscin of the retinal epithelium: a review. *Eye* 1995;9:763–771.
- <sup>25</sup> Berman ER, Rothman MS. Lipofuscin of human retinal pigment epithelium. *J Ophthalmol.* 1980;90:783–791.
- <sup>26</sup> Esterbauer H, Schaur RJ, Zollner H. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malondialdehyde and related aldehydes. *Free Radic Biol Med.* 1991;11:81–128.
- <sup>27</sup> Poli G, Schaur RJ. 4-Hydroxynonenal in the pathomechanisms of oxidative stress. *Int Union Biochem Mol Biol Life.* 2000;50:315–321.
- <sup>28</sup> Holz FG, Schutt F, Kopitz J et al. Inhibition of lysosomal degradative functions in RPE cells by a retinoid component of lipofuscin. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1999;40:737–743.
- <sup>29</sup> Shamsi FA, Boulton M. Inhibition of RPE lysosomal and antioxidant activity by the age pigment lipofuscin. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2001;42:3041–3046.
- <sup>30</sup> Brunk U, Terman A. Lipofuscin: Mechanisms of age-related accumulation and influence on cell function. *Free Radic Biol Med.* 2002;33:611–619.
- <sup>31</sup> Sohal RS. 'Age Pigments' 1981, Elsevier New York, S 394.
- <sup>32</sup> Schutt F, Bergmann M, Holz FG, Kopitz J. Proteins Modified by Malondialdehyde, 4-Hydroxynonenal or Advanced Glycation End Products in Lipofuscin of Human Retinal Pigment Epithelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2003;44:3663–3668.
- <sup>33</sup> Gaillard ER, Atherton SJ, Eldred G, Dillon J. Photophysical studies on human retinal lipofuscin. *Photochem. Photobiol.* 1995;61:448–453.
- <sup>34</sup> Boulton M, Dontsov A, Jarvis-Evans J, Ostrovsky M, Svistunenko D. Lipofuscin is a photoinducible free radical generator. *J Photochem Photobiol.* 1993;19:201–204.
- <sup>35</sup> Schmidt RF, Lang F, 'Physiologie des Menschen' 2007, 30. Auflage, Springer Medizin Verlag Heidelberg, Zglinski T, Nikolaus T, Kap 41.2 'Zelluläre und molekulare Ursachen des Alterns', S. 956 – 958.
- <sup>36</sup> Rozanowska M, Jarvis-Evans J, Korytowski W, Boulton ME, Burke JM, Sarna T. Blue light-induced reactivity of retinal age pigment: in vitro generation of oxygen-reactive species. *J Biol Chem.* 1995; 270:18825–18830.

- 
- <sup>37</sup> Sparrow JR, Zhou J, Cai B. DNA Is a Target of the Photodynamic Effects Elicited in A2E-Laden RPE by Blue-Light Illumination. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2003;44:2245–2251.
- <sup>38</sup> Beatty S, Koh H, Phil M, Henson M. The role of oxidative stress in the pathogenesis of age-related macular degeneration. *Surv Ophthalmol*. 2000;45:115–134.
- <sup>39</sup> Feeney-Burns L, Hilderbrand ES, Eldridge S. Aging human RPE: morphometric analysis of macular, equatorial, and peripheral cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1984;25:195–200.
- <sup>40</sup> Gilmore FR, Laher RR, Espy PJ. Franck-Condon Factors, r-Centroids, Electronic Transition Moments, and Einstein Coefficients for Many Nitrogen and Oxygen Band Systems. *Journal of Physical and Chemical Reference Data* 1992;21(5):1005–1107.
- <sup>41</sup> Delori FC. Autofluorescence method to measure macular pigment optical densities fluorometry and autofluorescence imaging. *Arch. Biochem. Biophys.* 2004;430:156–162.
- <sup>42</sup> Delori FC, Dorey CK. In Vivo Fluorescence of the Ocular Fundus Exhibits Retinal Pigment Epithelium Lipofuscin Characteristics. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1995;36:718–729.
- <sup>43</sup> Schmitz-Valckenberg S, Bultmann S, Dreyhaupt J, Bindewald A, Holz FG, Rohrschneider K. Fundus autofluorescence and fundus perimetry in the junctional zone of geographic atrophy in patients with age-related macular degeneration. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2004;45:4470–4476.
- <sup>44</sup> Von Ruckmann A, Fitzke FW, Bird AC. In vivo fundus autofluorescence in macular dystrophies. *Arch. Ophthalmol.* 1997;115:609–615.
- <sup>45</sup> Eldred GE, Katz ML. Fluorophores of the Human Retinal Pigment Epithelium: Separation and Spectral Characterization. *Exp. Eye Res.* 1988;47:71–86.
- <sup>46</sup> Koistinaho J, Honkaniemi J, Hervonen A. The effect of bleaching on the lipopigments in the human sympathetic neurones. *Mech. Ageing Dev.* 1986;37:91–99.
- <sup>47</sup> Sohal RS, Marzabadi MR, Brunk UT. Effect of ethanol on lipofuscin accumulation in the cultured rat cardiac myocytes. *Free Radic. Biol. Med.* 1989;7:611–616.
- <sup>48</sup> Sparrow JR, Fishkin N, Zhou J. A2E, a byproduct of the visual cycle. *Vision Research* 2003;43:2983–2990.
- <sup>49</sup> Sakai N, Decatur J, Nakanishi K, Eldred GE. Ocular age pigment A2E: an unprecedented pyridinium bisretinoid. *J. Am. Chem. Soc.* 1996;118:1559–1560.
- <sup>50</sup> Ben-Shabat S, Itagaki Y, Jockusch S, Sparrow JR, Turro NJ, Nakanishi K. Formation of a nona-oxirane from A2E, a lipofuscin fluorophore related to macular degeneration, and evidence of singlet oxygen involvement. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2002;41:814–817.
- <sup>51</sup> Dazhong Yin. Biochemical Basis Of Lipofuscin, Ceroid And Age Pigment-Like Fluorophores. *Free Radical Biology & Medicine* 1996;21:871–888.
- <sup>52</sup> Monnier VM, Cerami A; 'The Maillard reaction in foods and nutrition' 1983, Vol 215 American Chemical Society; Chapter 23 by Waller GR, Feather MS, 'Nonenzymatic glycosylation and browning of proteins in vivo' pp 431–449.
- <sup>53</sup> Schraermeyer U, Peters S, Thumann G, Kociok N, Heimann K. Melanin Granules of Retinal Pigment Epithelium are connected with the Lysosomal Degradation Pathway. *Exp. Eye Res.* 1999;68:237–245.

- 
- <sup>54</sup> Schraermeyer U, Stieve H. A newly discovered pathway of melanin formation in cultured retinal pigment epithelium of cattle. *Cell Tissue Res* 1994;276:273-279.
- <sup>55</sup> Delori FC, Goger DG, Dorey CK. Age-related accumulation and spatial distribution of lipofuscin in RPE of normal subjects. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2001;42:1855–1866.
- <sup>56</sup> Del Priore LV, Kuo YH, Tezel TH. Age-related changes in human RPE cell density and apoptosis proportion in situ. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2002;43:3312–3318.
- <sup>57</sup> Ambati J, Ambati BK, Yoo SH, Lanchulev S, Adamis AP. Age-related macular degeneration: etiology, pathogenesis, and therapeutic strategies. *Survey of Ophthalmology* 2003;48:257-293.
- <sup>58</sup> Klein R, Klein BE, Knudtson MD et al. Fifteen-Year Cumulative Incidence of Age-Related Macular Degeneration. *Ophthalmology* 2007;114:253–262.
- <sup>59</sup> van Leeuwen R, Klaver CC, Vingerling JR, Hofman A, de Jong PT. Epidemiology of age-related maculopathy: a review. *European Journal of Epidemiology* 2003;18:845–854.
- <sup>60</sup> Stangos N, Voutas S, Topouzis F, Karampatakis V. Contrast sensitivity evaluation in eyes predisposed to age-related macular degeneration and presenting normal visual acuity. *Ophthalmologica* 1995;209(4):194-8.
- <sup>61</sup> Midena E, Segato T, Blarzino MC, Angeli CD. Macular drusen and the sensitivity of the central visual field. *Documenta Ophthalmologica* 1994;88:179-185.
- <sup>62</sup> Tolentino MJ, Miller S, Gaudio AR, Sandberg MA. Visual Field Deficits in Early Age-Related Macular Degeneration. *Vision Res.* 1994;34:409-413.
- <sup>63</sup> Schütt F, Davies S, Kopitz J, Holz FG, Boulton ME. Photodamage to Human RPE Cells by A2-E, a Retinoid Component of Lipofuscin. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2000;41:2303–2308.
- <sup>64</sup> Knudtson MD, Klein R, Klein BE, Lee KE, Meuer SM, Tomany SC. Location of Lesions Associated with Age-Related Maculopathy Over a 10-year Period: The Beaver Dam Eye Study. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2004;45:2135–2142.
- <sup>65</sup> Grehn F, 'Augenheilkunde' 2012, 31. Auflage, Springer Medizin Verlag Heidelberg, Kap 13.7.1 'Altersbezogene Makuladegeneration', S 242-248.
- <sup>66</sup> Witmer AN, Vrensen GF, van Noorden CJ, Schlingeman RO. Vascular endothelial growth factors and angiogenesis in eye disease. *Progress in Retinal and Eye Research* 2003;22:1–29.
- <sup>67</sup> Algvere PV, Seregard S. Age-related maculopathy: pathogenetic features and new treatment modalities. *Acta Ophthalmol. Scand.* 2002;80:136–143.
- <sup>68</sup> Aiello LP. Targeting Intraocular Neovascularization and Edema — One Drop at a Time. *N Engl J Med* 2008;359:967-969.
- <sup>69</sup> Delori FC, Staurenghi G, Arend O, Dorey CK, Goger DG, Writer JJ. In Vivo Measurement of Lipofuscin in Stargardt's Disease –Fundus flavimaculatus. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1995;36:2327-2331.
- <sup>70</sup> Einbock W, Moessner A, Schnurrbusch UE, Holz FG, Wolf S. Changes in fundus autofluorescence in patients with age-related maculopathy. Correlation to visual function: a prospective study. *Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol* 2005;243:300–305.
- <sup>71</sup> Winkler BS, Boulton ME, Gottsch JD, Sternberg P. Oxidative damage and age-related macular degeneration. *Molecular Vision*. 1999;5:32

- 
- <sup>72</sup> Delori FC. RPE lipofuscin in ageing and age related macular degeneration. *Retinal Pigment Epithelium and Macular Diseases*. 1998;62:37–45.
- <sup>73</sup> Smith RT, Chan JK, Busuioic M, Sivagnanavel V, Bird AC, Chong NV. Autofluorescence Characteristics of Early, Atrophic, and High-Risk Fellow Eyes in Age-Related Macular Degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2006;47:5495–5504.
- <sup>74</sup> Spaide RF. Fundus Autofluorescence and Age-related Macular Degeneration. *Ophthalmology* 2003;110:392–399.
- <sup>75</sup> Holz FG, Bellman C, Staudt S, Schütt F, Völcker HE. Fundus Autofluorescence and Development of Geographic Atrophy in Age-Related Macular Degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2001;42:1051–1056.
- <sup>76</sup> Holz FG, Bellmann C, Margaritidis M, Schütt F, Otto TP, Völcker HE. Patterns of increased in vivo fundus autofluorescence in the junctional zone of geographic atrophy of the retinal pigmentepithelium associated with age-related macular degeneration. *Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol* 1999;237:145–152.
- <sup>77</sup> Wolf A, Kernt M, Kampik A, Neubauer AS. Systemische kardiovaskuläre Risikoabschätzung. *Der Ophthalmologe* 2010;107(9):814-820.
- <sup>78</sup> Hubbard LD, Brothers RJ, King WN et al. Methods for Evaluation of Retinal Microvascular Abnormalities Associated with Hypertension/Sclerosis in the Atherosclerosis Risk in Communities Study. *Ophthalmology* 1999;106:2269–2280.
- <sup>79</sup> Wong TY, Klein R, Couper DJ. Retinal microvascular abnormalities and incident stroke: the Atherosclerosis Risk in Communities Study. *Lancet* 2001;358:1134–1140.
- <sup>80</sup> Grosso A, Cheung N, Veglio F, Wong TY. Similarities and differences in early retinal phenotypes in hypertension and diabetes. *Journal of Hypertension* 2011;29:1667–1675.
- <sup>81</sup> Wong TY, Mitchell P. Hypertensive retinopathy. *New Engl J Med* 2004; 351:2310–2317.
- <sup>82</sup> Wong TY, Mohamed Q, Klein R, Couper DJ. Do retinopathy signs in nondiabetic individuals predict the subsequent risk of diabetes? *Br J Ophthalmol* 2006;90:301–303.
- <sup>83</sup> Nguyen TT, Wong TY. Retinal vascular manifestations of metabolic disorders. *Trends Endocrinol Metab* 2006;17:262–268.
- <sup>84</sup> Cheng SC, Yap MK, Goldschmidt E, Swann PG. Use of the Optomap with lid retraction and its sensitivity and specificity. *Clin Exp Optom*. 2008;91:373–378.
- <sup>85</sup> <http://www.optos.com/en/Professionals/General-ophthalmology/Product-description;Stand: 07.12.15>
- <sup>86</sup> Neubauer AS, Kernt M, Haritoglou C, Priglinger SG, Kampik A, Ulbig MW. Nonmydriatic screening for diabetic retinopathy by ultra-widefield scanning laser ophthalmoscopy (Optomap). *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*.2008;246:229 –235.
- <sup>87</sup> Hammer M, Königsdörffer E, Liebermann C, Framme C, Schuch G, Schweitzer D, Strobel J. Ocular fundus auto-fluorescence observations at different wavelengths in patients with age-related macular degeneration and diabetic retinopathy. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2008;246:105–114.
- <sup>88</sup> Arend O, Weiter JJ, Goger DG, Delori FC. In-vivo-Fundus-Fluoreszenzmessungen bei Patienten mit altersabhängiger Makuladegeneration. *Ophthalmologe* 1995;92(5):647-53.

- 
- <sup>89</sup> Schmitz-Valckenberg S, Holz FG, Bird AC, Spaide RF. Fundus Autofluorescence Imaging Review and Perspectives. *RETINA* 2008;28:385–409.
- <sup>90</sup> Von Rückmann A, Fitzke FW, Bird AC. Distribution of fundus autofluorescence with a scanning laser ophthalmoscope. *Br J Ophthalmol* 1995;79:407–12.
- <sup>91</sup> Lois N, Halfyard AS, Bird AC, Fitzke FW. Quantitative evaluation of fundus autofluorescence imaged “in vivo” in eyes with retinal disease. *Br J Ophthalmol* 2000;84:741–745.
- <sup>92</sup> Seidensticker F, Neubauer AS, Wasfy T et al. Wide-field fundus autofluorescence corresponds to visual fields in chorioretinitis patients. *Clin Ophthalmol* 2011;5:1667-1671.
- <sup>93</sup> Wolf-Schnurrsbusch UE, Wittwer VV, Ghanem R, Niederhaeuser M, Enzmann V, Framme C, Wolf S. Blue-Light versus Green-Light Autofluorescence: Lesion Size of Areas of Geographic Atrophy. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2011;52:9497–9502.
- <sup>94</sup> Keane PA, Patel PJ, Liakopoulos S, Heussen FM, Sadda SR, Tufail A. Evaluation of age-related macular degeneration with optical coherence tomography. *Survey of ophthalmology* 2012;57(5):389-414.
- <sup>95</sup> Fercher AF, Hitzenberger CK, Drexler W, Kamp G, Sattmann H. In Vivo Optical Coherence Tomography. *Am. J. Ophthalmol.* 1993;116(1):113-114.
- <sup>96</sup> Swanson EA, Izatt JA, Hee MR, Huang D, Lin CP, Schuman JS, Puliafito CA, Fujimoto JG. In vivo retinal imaging by optical coherence tomography. *Optics Letters* 1993;18(21):1864–1866.
- <sup>97</sup> Born M, Wolf E. ‘Principles of Optics: Electromagnetic Theory of Propagation, Interference and Diffraction of Light.’ 2000, Cambridge University Press, 7. Edition, Chapter 10.4, ‘Interference and diffraction with quasi-monochromatic light.’, pp 569 – 580.
- <sup>98</sup> Fercher AF, Mengedoht K, Werner W. Eye-length measurement by interferometry with partially coherent light. *Optics Letters* 1988;13(3):186–188.
- <sup>99</sup> Heimann H, Kellner U. ‘Atlas des Augenhintergrundes: Angiografie, OCT, Autofluoreszenz und Ultraschall’ 2010, Georg Thieme Verlag KG Stuttgart · New York, Inhoffen W, Kapitel 1.8 ‘Optische Kohärenztomografie’, S.26-31.
- <sup>100</sup> Drexler W, Morgner U, Ghanta RK et al. Ultrahigh-resolution ophthalmic optical coherence tomography. *Nature Medicine* 2001;7(4):502-507.
- <sup>101</sup> Spectralis-OCT Broschüre; erhältlich unter:  
<http://www.heidelbergengineering.com/us/products/spectralis-models/resources/product-literature/>  
Stand: 07.12.2015
- <sup>102</sup> Wing GL, Blanchard GC, Weiter JJ. The topography and age relationship of lipofuscin concentration in the retinal pigment epithelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1978;17(7):601-7.
- <sup>103</sup> Fine SL, Berger JW, Maguire MG, Ho AC. Age-related macular degeneration. *The New England Journal of Medicine* 2000;342(7):483-492.
- <sup>104</sup> Kopitz J, Holz FG, Kaemmerer E, Schutt F. Lipids and lipid peroxidation products in the pathogenesis of age-related macular degeneration. *Biochimie* 2004;86:825–831.
- <sup>105</sup> Schmitz-Valckenberg S, Fleckenstein M, Scholl HP, Holz FG. Fundus Autofluorescence and Progression of Age-related Macular Degeneration. *Survey of ophthalmology* 2009;54(1):96-117.

## **Eidesstattliche Versicherung**

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

### **„Alterseffekt der zentralen und peripheren Autofluoreszenz am Augenhintergrund“**

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

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

---

Ort, Datum

---

Unterschrift Doktorandin/Doktorand

## **Danksagung**

*Mit großer Freude und Dankbarkeit habe ich die vorliegende Arbeit vollendet. Vier Jahre habe ich mich mit der Durchführung und Auswertung ophthalmologischer Untersuchungen und dem Erstellen dieser Dissertation befassen dürfen. Dadurch ergab sich für mich die wertvolle Gelegenheit, an aktueller Forschung teilzuhaben, medizinische Kenntnisse zu vertiefen und die Methodik des wissenschaftlichen Arbeitens zu erlernen.*

*Ich danke meinem Doktorvater, Herr Professor A. S. Neubauer, der mir mit Seinem Fachwissen zur Seite stand und den ich gerne jederzeit um Rat fragen konnte. Auch für die gute zwischenmenschliche Atmosphäre und die Unterstützung bei der Erstellung dieses Manuskripts gilt Ihm mein besonderer Dank. Ich danke meinem Betreuer PD Dr. Reznicek für die fachkundige Anleitung bei der Vorbereitung, Durchführung und Auswertung der klinischen Untersuchungen und die ebenso freundschaftliche Unterstützung. Ebenso bin ich meinen Eltern von Herzen dankbar, dass sie mir eine gute Grundlage für meinen Lebensweg mitgegeben haben und dass Sie mich die gesamte Zeit des Studiums über gefördert und unterstützt haben. Ich möchte auch nicht vergessen Gott zu danken, dass Er mich bis hierher geführt hat und ich Seine Hilfe immer wieder erfahren durfte.*