

In-vivo Bildgebung retikulärer Drusen bei altersabhängiger Makuladegeneration
mittels konfokaler Scanning Laser Ophthalmoskopie und Spektral-Domain
optischer Kohärenztomographie

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

Julia Stephanie Steinberg
aus Freiburg im Breisgau

2011

Angefertigt mit Genehmigung der
Medizinischen Fakultät der Universität Bonn

1. Gutachter: Prof. Dr. med. Frank G. Holz
2. Gutachter: Prof. Dr. med. Ullrich Wüllner

Tag der Mündlichen Prüfung: 29.08.2011

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

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	5
1 Einleitung	6
1.1 Die altersabhängige Makuladegeneration (AMD)	8
1.1.1 Epidemiologie	8
1.1.2 Risikofaktoren	9
1.1.3 Drusen	10
1.1.4 Klassifikation und klinische Manifestation	13
1.1.5 Therapieansätze	15
1.2 Anatomie, Physiologie und altersabhängige Veränderungen der äußeren Netzhaut	18
1.2.1 Die Photorezeptoren	18
1.2.2 Das retinale Pigmentepithel	20
1.2.3 Die Bruch'sche Membran	22
1.2.4 Die Aderhaut	22
1.3 Retikuläre Drusen	23
1.3.1 Erstbeschreibung	23
1.3.2 Epidemiologie	24
1.3.3 Klinische Manifestationen	26
1.3.4 Histologische Untersuchungen und morphologisches Substrat	28
1.3.5 Hochrisikomerkmak bei AMD	29
1.4 Fragestellung	30
2 Patienten und Methoden	31
2.1 Patienten Bonn	31
2.2 Geographic Atrophy Progression- (GAP) Studie Patienten	32
2.3 Methoden	33
2.3.1 Simultane konfokale Scanning Laser Ophthalmoskopie (cSLO) und Spektral-Domain optische Kohärenztomographie (SD-OCT)	33
2.3.2 Heidelberg Eye Explorer	37
2.3.3 Funduskamera	38
2.3.4 Aufnahmeprotokoll	38
2.4 Auswertung	40
2.4.1 Detektion mittels Nahinfrarot-Imaging	40
2.4.2 Merkmale anderer en-face Aufnahmemodi	40
2.4.3 Merkmale in der SD-OCT Bildgebung	41
2.4.4 Vergleich der linearen Ausdehnung mittels 3D-Retinamapping	42
2.4.5 Prävalenz retikulärer Drusen	42
2.4.6 Topographische Verteilung retikulärer Drusen	44

3	Ergebnisse	47
3.1	Patienten Bonn	47
3.1.1	Nahinfrarot-Imaging	47
3.1.2	Andere en-face Bildgebungen	47
3.1.3	SD-OCT Imaging	52
3.1.4	Lineare Ausdehnung mittels kombiniertem cSLO+SD-OCT Imaging	55
3.1.5	„Upside-down SD-OCT Imaging“	55
3.2	GAP-Studienpatienten	56
3.2.1	Prävalenz retikulärer Drusen	56
3.2.2	Topographie retikulärer Drusen im Fundusbild	59
4	Diskussion	62
4.1	Hochauflösende retinale bildgebende Verfahren	62
4.2	Signalauswertung mittels verschiedener en-face Bildgebungen	64
4.3	Vergleich mit bisherigen Studien in Bezug auf Prävalenz und Verteilung im Fundusbild	66
4.4	3D-Mapping retikulärer Drusen	69
4.5	Mögliche Ursachen und klinische Relevanz	70
4.6	Retikuläre Drusen oder Retikuläre Pseudodrusen	72
4.7	Schlussfolgerungen	73
4.8	Ausblick	75
	Zusammenfassung	77
	Literaturverzeichnis	79

Abkürzungsverzeichnis

AMD	Altersabhängige Makuladegeneration
ARED-Studie	Age-related Eye Disease Study
ARMS2	Age-Related Maculopathy Susceptibility 2
CFH	Komplementfaktor H
CNV	Choroidale Neovaskularisation
cSLO	Konfokale Scanning Laser Ophthalmoskopie
EDI	Enhanced Depth Imaging
FAF	Fundusautofluoreszenz
FAG	Fluoreszein Angiographie
FAM-Studie	Fundus Autofluorescence in Age-related Macular Degeneration Study
GA	Geographische Atrophie
GAP-Studie	Geographic Atrophy Progression-Study
HEE	Heidelberg Eye Explorer
HRA	Heidelberg Retina Angiograph
ICGA	Indozyaningrünangiographie
IPRL	Übergang der Innen- und Außensegmente der Photorezeptoren
NIR	Nahinfrarot
OCT	Optische Kohärenztomographie
PDT	Photodynamische Therapie
RF	Rot-frei
RPE	Retinales Pigmentepithel
SD-OCT	Spektral-Domain optische Kohärenztomographie
SOP	Standard Operation Procedure

1 Einleitung

Die altersabhängige Makuladegeneration (AMD) ist heutzutage die häufigste Ursache für den Verlust des zentralen Sehens in den Industrienationen (Klaver et al., 2004; Klein et al., 2007; Wang et al., 2007). Nach Schätzungen der AMD Alliance International sind weltweit über 30 Millionen und in Deutschland etwa 4,5 Millionen Menschen betroffen (Holz et al., 2006). Über 50 % aller 65-jährigen und älteren Menschen in Europa weisen am Fundus pathologische oder zumindest AMD verdächtige Befunde auf (Augood et al., 2006). Ein exponentieller Anstieg von Prävalenz und Inzidenz jenseits des 50. Lebensjahr scheint vorzuliegen. Angesichts des demographischen Wandels der Bevölkerung ist mit einer deutlichen Zunahme der Zahl der Betroffenen zu rechnen (Klein et al., 2007).

Die AMD ist eine multifaktorielle, komplexe und progrediente Erkrankung des zentralen Netzhaut-Pigmentepithel-Aderhaut-Komplexes. Sowohl genetische Determinanten als auch Umweltfaktoren spielen eine Rolle (Ambati et al., 2003; Scholl et al., 2007).

Meist fällt die Sehstörung dadurch auf, dass die Patienten gerade Linien als verzerrt und gebogen wahrnehmen. Im späteren Verlauf können zentrale Gesichtsfeldausfälle dazu kommen (Abbildung 1). Dadurch werden alltägliche Sehleistungen wie Lesen, Auto fahren oder Fernsehen beeinträchtigt. Die Erkrankung führt typischerweise nicht zur vollständigen Erblindung, weil periphere Netzhautbereiche nicht betroffen sind und somit hell/dunkel Sehen und die räumliche Orientierung zumindest teilweise erhalten bleiben. Dennoch kann gerade in der heutigen, vorwiegend visuell orientierten Gesellschaft ein Verlust der selbstständigen Lebensführung resultieren, wodurch die Lebensqualität gravierend eingeschränkt wird (Finger et al., 2007; Holz et al., 2006). Es bestehen daher auch häufig depressive Begleiterkrankungen (Brody et al., 2001; Slakter und Stur, 2005). Da das Sehen eine wichtige Rolle in unserer Gesellschaft spielt, sind die Auswirkungen dieser Entwicklung bei einer stetig älter werdenden Bevölkerung von enormer Bedeutung und werden zu einer weiter steigenden Belastung der Gesundheitssysteme und der Gesellschaft führen (Finger et al., 2007; Schrader, 2006).

Der schwere Sehverlust bei AMD ist in ca. 80 % der Fälle durch die chorioidale Neovaskularisation (CNV) bedingt (Ferris et al., 1984). In der Vergangenheit wurde nach deren pathophysiologischen Mechanismen intensiv geforscht, und es sind glücklicherweise mittlerweile neue therapeutische Ansätze vorhanden. Dagegen gibt es für die trockene Spätform, die geographische Atrophie (GA) des retinalen Pigmentepithels (RPE), bislang noch keine gesicherte Therapie.

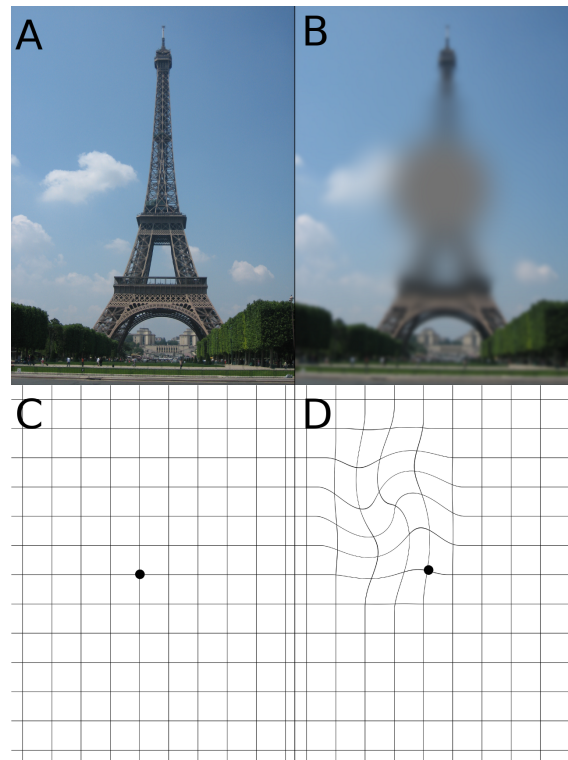


Abb. 1: Visuelle Beeinträchtigungen bei altersabhängiger Makuladegeneration (B und D) im Vergleich zu normaler Sehfunktion (A und C). Ein frühes Symptom stellt das „Verzerrtsehen“ dar. Die Linien im Amsler-Gitter werden als wellenförmig und verbogen wahrgenommen (D). Später kann ein zentraler Gesichtsfeldausfall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

Die Frühform der AMD ist durch das Auftreten von Pigmentierungen des RPE und von Drusen gekennzeichnet. Hierbei unterscheidet man harte, weiche und diffuse Drusen (siehe Abschnitt 1.1.3). Drusen im Allgemeinen stellen einen Risikofaktor für das Auftreten verschiedener visusmindernder Spätformen der AMD dar (Klein et al., 2002, 2007). In den 90er Jahren wurden erstmals retikuläre Drusen beschrieben (Mimoun et al., 1990). Sie fielen auf Farbfundusbildern als netzartige Strukturen mit gelblich-gräulich rundlich bis ovalen Unregelmäßigkeiten am hinteren Augenpol auf. Ihr genaues morphologisches Substrat ist unklar, ebenso ihre Lokalisation. Sie stellen allerdings einen Hochrisikofaktor für die Entwicklung der späten AMD dar (Cohen et al., 2007).

Durch die mittlerweile mögliche dreidimensionale Bildgebung mittels hochauflösender kombinierter konfokaler Scanning Laser Ophthalmoskopie (cSLO) und Spektral-Domain optischer Kohärenztomographie (SD-OCT) ist die Darstellung und Charakterisierung retikulärer Drusen heutzutage sehr viel besser möglich. Daher ist es Ziel dieser Arbeit, retikuläre Drusen in den verschiedenen Modalitäten der cSLO näher zu beschreiben und mit SD-OCT Befunden zu korrelieren, um die exakte Lokalisation retikulärer Drusen in der Netzhaut zu bestimmen. Außerdem erfolgte eine Datenauswertung von Bildern der *Geographic Atrophy Progression-Study* (GAP-Studie), einer umfangreichen, prospektiven Patientenstudie zum Verlauf der GA, um Prävalenz und Verteilung retikulärer Drusen mit neuer, hochauflösender Technik zu bestimmen.

1.1 Die altersabhängige Makuladegeneration (AMD)

1.1.1 Epidemiologie

Studien zur Bestimmung der Prävalenz und Inzidenz der AMD sind in verschiedenen Regionen und Populationen der Welt durchgeführt worden (Klein et al., 1999). Die Ergebnisse der verschiedenen Studien sind zum Teil sehr unterschiedlich. Wahrscheinlich liegt die Ursache für die Variabilität der erhobenen Prävalenzdaten an der Verwendung unterschiedlicher Kriterien für die Krankheitsdefinition und unterschiedlichen Erhebungsmethoden (Bird et al., 1995). Einige Studien berücksichtigen z.B. die Visusminderung als Hauptkriterium, während andere Studien diese nicht beachten. 1995 einigten sich mehrere Untersucher verschiedener epidemiologischer Studien auf eine gemeinsame Klassifikation der AMD, die auf der Beurteilung von Farbfundusaufnahmen der Makula basierte und die Sehschärfe nicht einschloss (Bird et al., 1995). Eine internationale Klassifikation wurde mit dem „Wisconsin Age-related Maculopathy Grading System“ (Klein et al., 1991) eingeführt.

Alle Studien zeigen mit dem Alter einen starken Anstieg sowohl für die frühe als auch für die späte AMD. Klaver et al. (2004) haben die Prävalenz von früher und später AMD bei Kaukasiern in Studien mit einheitlichen Klassifikationssystemen verglichen. Variabilitäten zwischen den einzelnen Studien sind vor allem bei den frühen Stadien zu erkennen. Dies kann durch das Krankheitsbild an sich verursacht sein, jedoch spielt auch das Klassifikationssystem von Drusengröße und -typ ebenfalls eine wichtige Rolle. Die Prävalenz für frühe AMD unter Kaukasiern in der Altersgruppe 65-74 Jahre beträgt ca. 15 % und steigt mit zunehmendem Alter auf bis zu 30 % an. Die durchschnittliche Prävalenz für die späten – atrophischen und neovaskulären – Formen der AMD liegt für 65-74-Jährige bei ca. 1 % und steigt mit höherem Lebensalter auf bis zu 13 % an (Klaver et al., 2004).

In der Bundesrepublik Deutschland sind ungefähr 4,5 Millionen Menschen von AMD betroffen (Holz et al., 2006). Inzidenzzahlen wurden von auch Klein in der „Beaver Dam Eye Study“ ermittelt. Demnach beträgt die kumulative Fünfjahresinzidenz für frühe AMD in den Vereinigten Staaten bei den 43-86-jährigen 14,3 % für frühe AMD und 3,1 % für späte Formen. Bei der Altersgruppe 43-54 Jahre bis zur Gruppe 65-74 Jahre stieg die Zahl der Neuerkrankungen deutlich an. In der Gruppe der über 75-Jährigen war eine gewisse Stagnation zu beobachten. Auffällig ist bei den über 85-Jährigen, dass die Inzidenz für reine GA vier mal so hoch ist wie die Wahrscheinlichkeit, eine CNV zu entwickeln (Klein et al., 2007). In Europa ist von etwas geringeren Neuerkrankungsraten auszugehen, auch wenn präzise Bestimmungen über einen Zeitraum von fünfzehn Jahren noch nicht vorliegen (Klaver et al., 2001).

1.1.2 Risikofaktoren

Die AMD ist durch eine komplexe, multifaktorielle und bisher unzureichend verstandene Pathogenese gekennzeichnet. Verschiedene Risikofaktoren konnten für das Auftreten und die Krankheitsprogression gefunden werden. Der wichtigste Risikofaktor ist das Alter (Jager et al., 2008). Auch eine aktuelle oder zurückliegende Raucheranamnese stellt einen gesicherten Risikofaktor für die Prävalenz der AMD dar (Chakravarthy et al., 2007; Smith et al., 2001). Rauchen scheint neben der Inzidenz auch die Progression innerhalb früher Erkrankungsformen – von mittelgroßen zu großen Drusen oder Pigmentveränderungen – zu beeinflussen (Chang et al., 2008). Man geht davon aus, dass weiße Bevölkerungsgruppen häufiger von AMD betroffen sind als schwarze. Hierbei scheint der Unterschied besonders ausgeprägt für späte Manifestationsformen zu sein (Bressler et al., 2008).

Untersuchungen zu anderen potenziellen Risikofaktoren wie Bluthochdruck, Irisfarbe, Arteriosklerose, Diabetes, Weitsichtigkeit und Lichtexposition sind inkonsistent.

Genetische Faktoren

Zahlreiche Befunde weisen darauf hin, dass es eine genetische Beteiligung bei der AMD gibt (Scholl et al., 2007, 2008). In den 90er Jahren wiesen Ergebnisse von Zwillingsstudien auf eine deutliche genetische Determination der Erkrankung hin (Hammond et al., 2002; Klein et al., 1994; Meyers et al., 1995; Seddon et al., 2005). Meyers und Mitarbeiter zum Beispiel zeigten eine Konkordanzrate von 100 % bei 25 betroffenen monozygoten Zwillingspaaren und eine 42 %-ige Konkordanz bei 12 dizygotischen Paaren.

Man kann das genetische Risiko auch mit familiären Korrelationsstudien erfassen. Ein Hinweis für eine familiäre Prädisposition von Drusen wurde von einer Studie gezeigt, die 53 Geschwisterpaare und 50 Ehepaare bezüglich der Konkordanz von Drusen untersuchte. Es stellte sich eine signifikant höhere Korrelation von Anzahl und Dichte der Drusen zwischen Geschwistern im Vergleich zu Ehepaaren heraus (Piguet et al., 1993).

Erst in den vergangenen Jahren sind deutliche Fortschritte gemacht worden, was die spezifischen genetischen Ursachen von AMD angeht. Seit 2005 konnten die beiden Genorte 1q32 und 10q26 in mehreren Studien repliziert werden. Sie machen zusammen schätzungsweise 50 % der Ursachen für AMD aus (Edwards et al., 2005; Gold et al., 2006; Hageman et al., 2005; Haines et al., 2005; Jakobsdottir et al., 2005; Klein et al., 2005; Rivera et al., 2005).

Auf Chromosom 1 handelt es sich hierbei um einen Polymorphismus (Y402H) im Komplementfaktor H (CFH) Gen (Edwards et al., 2005; Haines et al., 2005; Klein et al., 2005). Dies lässt auf eine Beteiligung von entzündlichen Reaktionen und des Immunsystems in der Ätiologie der AMD schließen. Despriet et al. (2006) zeigten in einer populationsbasierten Studie an 5681 Personen,

dass sich das Risiko bei homozygot betroffenen Individuen mit weiter fortschreitender AMD erhöht, bis zu einem Quotenverhältnis von 11,02 für späte AMD.

Auf Chromosom 10 lassen sich die gefundenen Assoziationssignale aufgrund des hohen Kopplungsungleichgewichts in der Region schwerer und deshalb noch nicht eindeutig zuordnen. Zwei Gene kommen als mögliche Kandidaten in Frage. Das ARMS2 (Age-Related Maculopathy Susceptibility 2) Gen, auch bekannt als LOC387715, ist ein evolutionsgeschichtlich gesehen relativ junges Gen und kodiert ein Protein ohne bekannte Funktion (Jakobsdottir et al., 2005; Rivera et al., 2005). Das distal davon gelegene HTRA1 (High-temperature requirement factor A1) ist dagegen ein evolutionär älteres Gen, das sich bereits in Bakterien findet (Dewan et al., 2006; Yang et al., 2006).

Weber und Mitarbeiter konnten mittels immunhistologischen Untersuchungen an menschlichen Netzhautschnitten zeigen, dass das ARMS2-Protein in den Innensegmenten der Photorezeptoren von Zapfen und Stäbchen zu finden ist. Durch Färbungen mit mitochondrialen Markern konnte nachgewiesen werden, dass ARMS2 spezifisch in der sogenannten Ellipsoidregion der Photorezeptorinnensegmente lokalisiert ist. Diese Region ist stark angereichert mit Mitochondrien, die den extrem hohen Energieumsatz in diesen spezialisierten Zellen überhaupt erst erlauben. Ein direkter Zusammenhang zwischen beeinträchtigter mitochondrialer Funktion und AMD-Pathogenese ist demnach vorstellbar (Fritsche et al., 2008).

Es scheint laut Maller et al. (2006) ein bis zu 250-fach erhöhtes Risiko für AMD zu geben, wenn Hochrisiko-Polymorphismen homozygot an drei Genorten (CFH, LOC387715/HTRA1 und C2-FB) auftreten. Auch von der Kombination aus genetischer Prädisposition und Raucheranamnese geht ein deutlich höheres Risiko für AMD aus als von jedem Faktor allein (Schmidt et al., 2006). Eine aktuelle Raucheranamnese bei Personen, die homozygot für Y402H sind, erhöht das Quotenverhältnis für späte AMD auf 34-fach erhöht, während Raucher ohne den Polymorphismus lediglich ein 3,36-fach erhöhtes Risiko für AMD haben (Despriet et al., 2006).

1.1.3 Drusen

Drusen sind die ersten ophthalmoskopisch sichtbaren Kennzeichen früher AMD. Es handelt sich hierbei um Ablagerungen von extrazellulärem Material zwischen der inneren kollagenen Schicht und der Basallamina des RPE und erscheinen funduskopisch als rundliche, gelbe Flecken unter der Netzhaut. Eine Klassifikation nach der Größe beschreibt kleine ($< 64 \mu m$), intermediäre ($65-125 \mu m$) und große ($> 125 \mu m$) Drusen. Größere Drusen können konfluieren und zur Abhebung des darüberliegenden RPE's führen (Mimoun et al., 1990).

Obwohl der genaue Mechanismus der Drusenentstehung noch unbekannt ist, geht man davon aus, dass es sich um unvollständig abgebautes Material von RPE-Zellen handelt. Sowie die molekulare

Analyse von Drusen als auch die Untersuchung von genetischen Risikovarianten der Gene des Komplementfaktors zeigen, dass eine „low grade“ Entzündung und eine atypische Regulation des Komplementsystems vorhanden ist (Anderson et al., 2002; Mullins et al., 2000). Neueren Untersuchungen nach bestehen Drusen neben CFH aus unverestertem Cholesterin, Apolipoprotein E, Vitronektin sowie membranösen Ablagerungen, die vor allem in weichen Drusen zu finden sind (Curcio et al., 2005; Hageman et al., 1999; Li et al., 2006; Mullins et al., 2000).

Je nach Untersuchungsmethode und Definition gibt es bei bis zu 80 % aller Patienten über 60 Jahren Drusen meist im makulären und paramakulären Bereich. Sie sind jedoch nicht spezifisch für die AMD, sondern finden sich auch bei einer Reihe anderer erworbener oder genetisch determinierter Netz- bzw. Aderhauterkrankungen. Klinisch-ophthalmoskopisch werden sie bei 15-30 % aller Untersuchten gefunden. Anscheinend besitzt die äußere Netzhaut nur eine relativ geringe Anzahl von Reaktionsmöglichkeiten auf eine Vielzahl zugrunde liegender molekularer und zellulär heterogener Schadensmechanismen (Klaver et al., 2004).

Drusen stellen einen Risikofaktor für das Auftreten verschiedener visusmindernder Spätformen der AMD dar (Holz et al., 1994b; Klein et al., 2002, 2007; Pauleikhoff et al., 1990). Bei Auswertungen der Age-related Eye Disease Studie (AREDS) wurde deutlich, dass bei der frühen Form der AMD (viele kleine Drusen oder wenige mittelgroße Drusen) ein Risiko von 1,3 % besteht, über einen Zeitraum von 5 Jahren eine fortgeschrittene AMD zu entwickeln. Bei Patienten mit vielen mittelgroßen oder großen Drusen beträgt das Risiko hingegen 18 % (Age-Related Eye Disease Study Research Group, 2001).

Die Symptomatik von Drusen ist abhängig vom Ausprägungsgrad. Bei alleinigem Vorliegen von Drusen besteht meist noch ein guter Visus. Gegebenenfalls existieren Leseschwierigkeiten, Farbsinnstörungen, geringe Metamorphopsien und verzögerte Dunkeladaptation (Dithmar und Holz, 2008).

Verschiedene Typen von Drusen können anhand ophthalmoskopischer, histologischer und angiographischer Kriterien unterschieden werden. Es wird zwischen harten (nodulären), weichen (exsudativen), diffusen (basal laminaren) und seit einigen Jahren auch retikulären Drusen unterschieden, wobei verschiedene Typen auch gleichzeitig nebeneinander im selben Auge vorhanden sein können. Drusen treten oft bilateral auf (Klaver et al., 2004).

Harte Drusen

Harte Drusen sind in der Regel kleiner als 50 μm im Durchmesser und stellen sich als kleine, scharf begrenzte, gelbliche aus hyalinem Material bestehende Ablagerungen dar. Sie werden meist als „normale“ Altersveränderungen angesehen (Age-Related Eye Disease Study Research Group, 1995) und sind nur selten für visuseinschränkende Manifestationen der AMD verantwortlich. In der Beaver

Dam Eye Studie konnten Klein et al. (2002) jedoch zeigen, dass eine größere Anzahl harter Drusen (mehr als 8) mit einem erhöhten Risiko für das Auftreten weicher Drusen und Spätmanifestationen einhergeht.

Weiche Drusen

Weiche Drusen sind meist größer und in der Regel unscharf begrenzt. Sie unterscheiden sich von den harten Drusen durch ihre granuläre, amorphe und vesikuläre Zusammensetzung. Das Risiko für die Entwicklung visusmindernder Läsionen wie der CNV ist deutlich größer. Sie können im Laufe der Zeit größer werden und umschriebene Abhebungen des RPE's bilden. Es ist auch möglich, dass weiche Drusen mit der Zeit verschwinden, wobei dieser Prozess zumeist eine korrespondierende Atrophie der äußeren Netzhautschichten hinterlässt (Klaver et al., 2004).

Diffuse Drusen

Diffuse Drusen werden auch basale laminare Drusen genannt. Sie sind klinisch nicht direkt sichtbar, allerdings kann eine verzögerte angiographische Füllung der Choriokapillaris ein indirekter Hinweis auf basal laminare Drusen sein (Pauleikhoff et al., 1990, 1992; Ramrattan et al., 1994). Elektronenmikroskopisch können diese Ablagerungen weiter unterteilt werden in „basal laminar deposits“ (Ablagerungen zwischen der RPE-Zellmembran und der RPE-Basalmembran) und „basal linear deposits“ (Ablagerungen zwischen der RPE-Basalmembran und den übrigen Schichten der Bruch'schen Membran) (Dithmar und Holz, 2008). Bei diffusen Drusen handelt es sich um eine spezielle Form von Drusen, die in der Regel im mittleren Lebensalter auftreten und mit einer relativ günstigeren Prognose einhergehen (Gass et al., 1985). Es handelt sich histologisch gesehen, im Gegensatz zu weichen Drusen, um noduläre, hyaline Verdickungen der Basalmembran des RPE's. Diffuse Drusen können funduskopisch in ihrer ganzen Ausprägung nicht abgeschätzt werden. Sie können aber mit gut sichtbaren zentralen Ablagerungen von gelblichem subretinalen Material einhergehen.

Die bisher genannten drei Drusenarten können spontanen Veränderungen unterliegen. Harte Drusen können mit der Zeit durch Konfluenz in weiche übergehen („drusen-softening“) (Sarks et al., 1980). Drusen können größer werden und konfluieren und eine Abhebung des RPE's bilden. Drusenanteile können Kalzifikationen entwickeln, die als refraktile, kristalline Strukturen imponieren. Drusen können ebenfalls spontan verschwinden.

Im Bereich von Drusen kann sowohl eine unveränderte, eine verstärkte wie auch eine verminderte Fundusautofluoreszenz (FAF) vorliegen. Insbesondere große weiche Drusen gehen in der Regel mit einem erhöhtem FAF-Signal einher (Lois et al., 2002).

In der Angiographie sind Drusen oftmals besser erkennbar als ophthalmoskopisch. Dabei können Drusen unterschiedliche Phänomene zeigen. Hypofluoreszente können von hyperfluoreszenten Drusen unterschieden werden in Abhängigkeit von ihrer Affinität zum Farbstoff bzw. ihrer chemischen Zusammensetzung und damit ihrer biophysikalischen Eigenschaften (Pauleikhoff et al., 1992). Die chemische Zusammensetzung von Drusen hängt möglicherweise mit der Ätiologie der Drusen und dem Alter des Patienten zusammen (Dithmar und Holz, 2008). Beim so genannten „Fensterdefekt“ wird aufgrund einer RPE-Atrophie über den Drusen in diesem Bereich die chorioidale Hintergrundfluoreszenz besser gesehen. Weiche Drusen sind in der Angiographie meist zunächst hypo- und dann hyperfluoreszent zu sehen. Bei diffusen Drusen sieht das Bild in der Fluoreszein Angiographie (FAG) aus wie ein Sternenhimmel („stars in the sky“). Es zeigen sich unzählige meist gleichgroße rundliche Fensterdefekte (Klaver et al., 2004).

Retikuläre Drusen

Im Gegensatz zu harten, weichen oder diffusen Drusen sind retikuläre Drusen (siehe Abschnitt 1.3 auf Seite 23) bislang wenig untersucht. Von Arnold et al. (1995) wurden sie „retikuläre Pseudodrusen“ genannt, da man davon ausging, dass es sich nicht um normale „Drusen“ handelte, sondern um pathologische Veränderungen in der a.

Retikuläre Drusen wurden erstmals in den 1990er Jahren als eine Sonderform von Drusen auf Farbfundusbildern beschrieben. Sie wiesen ein charakteristisches netzartiges Muster mit gelblich-grünlich, rundlich bis ovalen Unregelmäßigkeiten am hinteren Augenpol auf (Mimoun et al., 1990). Besser darstellbar sind sie jedoch in der FAF und im Nahinfrarot (NIR) Modus der cSLO (Bindewald et al., 2005; Smith et al., 2006). Retikuläre Drusen sind bisher nicht sichtbar gewesen in der FAG, erscheinen allerdings als hypofluoreszente Punkte in der Mittel- und Spätphase einer Indozyaninangiographie (ICGA) (Arnold et al., 1997). Ein mögliches Verschwinden retikulärer Drusen ist im Gegensatz zu anderen Drusen bislang nicht bemerkt worden. Die genaue Lokalisation und das morphologische Korrelat ist nicht bekannt, es wurden bisher Veränderungen in Höhe der a vermutet (Arnold et al., 1995). Dies genauer zu untersuchen, ist Ziel der vorliegenden Untersuchungen.

1.1.4 Klassifikation und klinische Manifestation

Die Heterogenität des Krankheitsbildes AMD wird durch die Existenz mehrerer Klassifikationssysteme deutlich (Age-Related Eye Disease Study Research Group, 2001; Bird et al., 1995; Klein et al., 1991).

Die AMD tritt normalerweise am hinteren Augenpol auf. Frühformen der Erkrankung werden durch Ablagerungen in der Bruch'schen Membran gekennzeichnet. Hierbei handelt es sich um Drusen

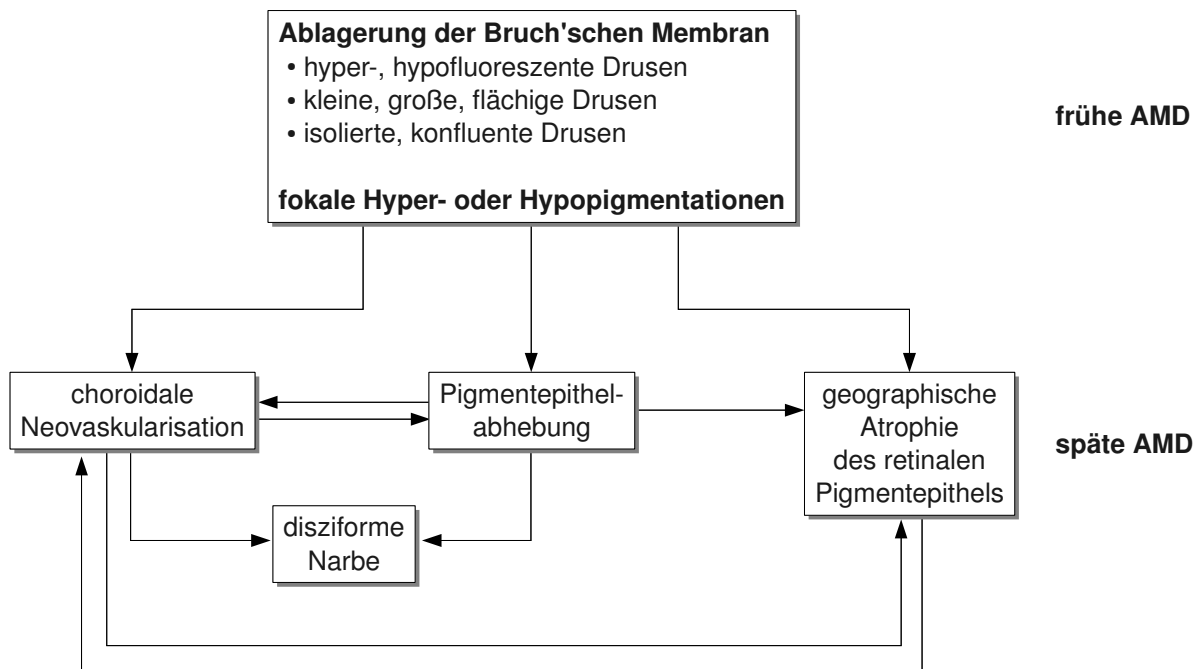


Abb. 2: Schematische Differenzierung der Erscheinungsformen der frühen und späten altersabhängigen Makuladegeneration (Schmitz-Valckenberg et al. 2002 und modifiziert nach Pauleikhoff et al. 1997).

sowie fokale Hyper- und Hypopigmentationen, die meist ohne Beeinträchtigung der Sehfunktion einhergehen.

Die Spätstadien hingegen sind durch teilweise erheblich visuseinschränkende Veränderungen charakterisiert. Zu ihnen gehören CNV, Abhebungen des RPE's, GA des RPE's sowie disziforme Narben. Abbildung 2 zeigt die Charakteristika von früher und später AMD.

Beim Auftreten von später AMD in einem Auge ist das Risiko erhöht, auch im Partnerauge eine Spätform zu entwickeln. Die Wahrscheinlichkeit für das Auftreten von AMD im 2. Auge für einen Fünfjahreszeitraum nach Manifestation im ersten Auge wurde mit 43 % angegeben (Age-Related Eye Disease Study Research Group, 2001).

Wie in Abschnitt 1.1.3 auf Seite 10 beschrieben, sind Drusen die ersten ophthalmoskopisch sichtbaren Veränderungen einer frühen AMD und können in der funduskopischen Untersuchung als runde, scharf begrenzte oder konfluierende, kleinere oder größere, gelbliche Ablagerungen imponieren. Das Sehvermögen wird nur in geringem Maße beeinträchtigt, jedoch werden sie als Vorstufen später AMD gesehen.

Außerdem geht die frühe AMD häufig mit fokalen Hyperpigmentationen oder Hypopigmentierungen einher. Hyperpigmentationen können sich sowohl auf Veränderungen in Höhe des RPE's darstellen, als auch auf Migration pigmentierter Zellen in die neurosensorische Netzhaut zurückzuführen sein. Auch sie sind mit einem erhöhten Risiko für die Entwicklung visusmindernder Spätformen verbunden (Bressler et al., 1990; Holz et al., 1994a; Smiddy und Fine, 1984). Fokale Hypopigmentationen

müssen nicht notwendigerweise mit einem Verlust retinaler Pigmentepithelzellen an Ort und Stelle verbunden sein, sondern können auch auf einem reduzierten Gehalt der pigmentepithelialen Zellen an Melanin basieren (Klaver et al., 2004).

Eine Form der späten AMD ist gekennzeichnet durch CNV. Hierunter werden Einsprossungen neugebildeter Kapillaren aus der Aderhaut durch die Bruch-Membran unter oder über das RPE bezeichnet. Hieraus resultiert häufig ein erheblicher zentraler Visusverlust. Als Synonyme werden „feuchte Makuladegeneration“ oder „subretinale Neovaskularisation“ benutzt. Auch Pigmentepithelabhebungen sind Zeichen der späten AMD. Sie imponieren als umschriebene, rundliche oder ovale, scharf begrenzte Erhebungen. Im Rahmen der AMD liegt ihnen meist eine CNV zugrunde. Disziforme Narben, die aus der Fibrosierung aller Neovaskularisationen resultieren, definieren das Endstadium der feuchten AMD (Klaver et al., 2004).

Von der feuchten Spätformen wird eine weitere Spätform, die trockene AMD unterschieden. Sie ist durch ein Absterben des RPE's mit Verlust der benachbarten Zellschichten, einschließlich der Choriokapillaris und der neurosensorischen Netzhaut gekennzeichnet. Dadurch entstehen sogenannte Atrophieareale. Da sich deren Entstehen und Wachstum anscheinend nicht an anatomischen Grenzen orientiert, wird die trockene Form auch als GA bezeichnet (Sarks, 1976; Schmitz-Valckenberg et al., 2007a).

1.1.5 Therapieansätze

Frühformen der AMD

In der ARED-Studie wurde bei 3640 Probanden zwischen 55 und 80 Jahren über einen durchschnittlichen Beobachtungszeitraum von 6,3 Jahren die Wirkung oraler antioxidativer Nahrungsergänzung (500 mg Vitamin C, 400 IE Vitamin E, 15 mg β - Karotin, 80 mg Zink und 2 mg Kupfer) auf das Fortschreiten der AMD untersucht. Für Patienten über 55 Jahre mit multiplen mittelgroßen Drusen, mindestens einer großen Druse oder nicht zentraler GA in einem oder beiden Augen, oder für Patienten mit später AMD in einem Auge, bei denen weder eine aktuelle noch eine vergangene Raucheranamnese vorhanden ist, kann diese Nahrungsergänzung sinnvoll eingesetzt werden, um das Risiko zu vermindern, eine späte AMD zu entwickeln (Risikoreduktion um ca. 25 %). Für Personen ohne Zeichen von AMD oder mit einzelnen harten Drusen konnte kein Effekt nachgewiesen werden. Patienten mit bilateraler, später AMD wurden nicht untersucht (Age-Related Eye Disease Study Research Group, 2001).

Trockene Spätform der AMD

Es gibt bislang keine gesicherte Therapie für die trockene Spätform der AMD, die GA des RPE's, die das kontinuierliche Fortschreiten der Erkrankung verlangsamen oder gar aufhalten könnte. Es befinden sich allerdings mehrere Therapieansätze in Erprobung.

Hierzu gehört die Einnahme von Fenretinide, einem oral einnehmbaren Vitamin-A-Derivat. Es vermindert den Retinol-Spiegel im Serum und soll dessen Bioverfügbarkeit auch in RPE-Zellen und Photorezeptorenaußensegmenten senken. Am Mausmodell wurde 2005 gezeigt, dass es durch die orale Gabe von Fenretinide zu einer Hemmung der Lipofuszinakkumulation im RPE kommt (Radu et al., 2005). Eine große randomisierte Doppelblindstudie der Firma Sirion Therapeutics untersuchte die Wirkung von Fenretinide im Vergleich zu Placebo bei Patienten mit trockener AMD. Die Zwischenergebnisse der Phase-2-Studie wurden 2009 auf der ARVO veröffentlicht. Sie zeigen Hinweise auf eine verlangsamte Progression der trockenen AMD bei Einnahme von Fenretinide in einer Subgruppe der Therapie im Vergleich zur Kontrollgruppe (Katz et al., 2009).

Ein weiterer therapeutischer Ansatz besteht in der sogenannten „Encapsulated Cell Technology“ (ECT). Hierbei wird in einem operativen Eingriff eine Kapsel in den Glaskörper eingesetzt, in der sich eine genetisch modifizierte RPE-Zellkultur befindet. In klinischen Studien der Firma Neurotech wird bei Patienten mit GA die Wirksamkeit von dem aus dem Kapselimplantat freigegebenen „Ciliary Neurotrophic Factor“ (CNTF) untersucht. Erste Ergebnisse zeigen, dass sich bei den behandelten Patienten eine Stabilisierung der Sehschärfe einstellte (Emerich und Thanos, 2008; MacDonald et al., 2007) Zusätzlich zeigte sich eine erhöhte Retinadicke, was einen möglichen positiven Effekt des CNTF auf Zellzahl und Zellvolumen vermuten lässt (Jaffe et al., 2009).

Auch die mögliche Anwendung von Augentropfen mit der Substanz OT-551 wird von der Firma Othera Pharmaceuticals Incorporation in klinischen Studien untersucht. Die Substanz OT-551 soll die Überexpression von „Protein Complex Nuclear Factor-Kappa B“ (NF-kB) vermindern und damit die RPE-Zellen und Photorezeptoren vor oxidativen Schäden schützen.

In der im April 2009 begonnenden GATE-Studie (Geographic Atrophy Treatment Evaluation) der Firma Alcon Incorporation werden Augentropfen, die einen hochselektiven Serotonin-Rezeptor-Agonisten enthalten, gegen Placebo über insgesamt 36 Monate getestet. Das Ziel soll sein, photooxidative Schäden der Netzhaut durch blaues Licht zu reduzieren und damit die Atrophieprogression zu verlangsamen.

Neovaskuläre AMD

Im Gegensatz dazu gibt es als Therapie der CNV mehrere schon länger erprobte und erfolgreich durchgeführte Ansätze. Laserkoagulation, photodynamische Therapie (PDT) und die intravitreale Injektion antiangiogen wirksamer Präparate als mittlerweile primäre Therapie, stehen zur Auswahl.

Bei einer klassischen extrafovealen CNV kann eine konventionelle **Laserkoagulation** erfolgen. Das Ziel liegt darin, die gesamte chorioidale Neovaskularisationsmembran zu zerstören. Bei einer Persistenz von Membrananteilen muss erneut laserkoagulierte werden. Es besteht eine hohe Rezidivrate (bis zu 60 %), wobei die Rezidive meist im Verlauf des 1. Jahres nach Laserkoagulation auftreten und in der Regel am zur Fovea gelegenen Rand der Laserkoagulationsnarbe entstehen (Dithmar und Holz, 2008).

Auch die **PDT** hat zum Ziel, die Gefäßneubildung einzudämmen. Das Grundprinzip bei PDT ist die Injektion einer photosensitiven Substanz, die sich relativ selektiv in neovaskulärem Gewebe ablagert, und die anschließende Aktivierung der Substanz durch einen nicht-thermischen Diodenlaser. Es wird hierdurch eine Kaskade biologischer Reaktionen in Gang gesetzt, in deren Folge es zu einer intravasalen Thrombose kommt. Diese ist aber häufig nicht dauerhaft, so dass in der Regel mehrere Behandlungen erforderlich sind, bevor ein endgültiger Verschluss der CNV erreicht werden kann (Dithmar und Holz, 2008).

In der Pathogenese der CNV spielen Faktoren, die die Angiogenese – das Wachstum neuer Kapillaren, welche aus bestehenden Kapillaren aussprossen – beeinflussen, eine zentrale Rolle (Grisanti und Tatar, 2008). Durch die relativ neu eingeführte intravitreale **anti-VEGF-Therapie** mit Ranibizumab (Lucentis®, Genentech/Novartis) oder Bevacizumab (Avastin®, Genentech/Roche) wird über die Blockierung des Gefäßwachstumsfaktors VEGF eine Abnahme der Permeabilität und auf diese Weise zu einer Reduktion der Leckage aus neugebildeten Gefäßen bewirkt. Durch die Hemmung des Neovaskularisationsreizes wird die Neovaskularisationsmembran langfristig in einen inaktiven Zustand überführt (Dithmar und Holz, 2008).

Ranibizumab ist ein humanisiertes, therapeutisches Antikörperfragment und neutralisiert alle VEGF-Isoformen. In mehreren randomisierten Doppelblindstudien von Novartis wurde bei über 1300 Patienten die Wirksamkeit und Sicherheit von Ranibizumab untersucht. In der ANCHOR-Studie wurde bei 423 Patienten mit einer vorwiegend klassischen CNV die Wirksamkeit monatlicher Ranibizumabinjektionen gegenüber einer photodynamischen Therapie mit Verteporfin untersucht (Brown et al., 2006). Die MARINA-Studie verglich bei 716 Patienten mit CNV die Wirksamkeit monatlich verabreichter Ranibizumab- mit Scheininjektionen (Rosenfeld et al., 2006a). Bei beiden Studien wurde der Visus untersucht. Er blieb bei 95 % der Patienten, die mit Ranibizumab behandelt wurden, erhalten. Bei 34-40 % der Behandelten verbesserte sich der Visus sogar. Die PIER-Studie untersuchte die Wirksamkeit eines Therapieschemas, bei dem zunächst vier Injektionen im Abstand von einem Monat erfolgten und anschließend auf ein Applikationsintervall von 3 Monaten umgestellt wurde. Initial kam es in dieser Studie zu einer Verbesserung des Visus, nach zwölf Monaten fiel dieser jedoch wieder auf den Ausgangswert zurück (Rosenfeld et al., 2006b).

Bevacizumab wurde ursprünglich zur Behandlung von metastasiertem Kolon- oder Rektumkarzinom in Kombination zur Chemotherapie zugelassen. Als komplett humanisierter monoklonaler Antikörper

gegen alle VEGF-Isoformen wird eine ähnliche Wirksamkeit wie bei Ranibizumab angenommen (Spaide et al., 2006). Michels et al. (2005) verabreichten erstmals Patienten mit neovaskulärer AMD systemisch Bevacizumab. In dieser und in nachfolgenden Studien, in denen Bevacizumab in den Glaskörper injiziert wurde, haben die Forscher Patienten klinisch beobachtet und über Verbesserungen in der Sehschärfe berichtet, ohne dass schwere unerwünschte Nebenwirkungen auftraten. Es liegen jedoch keine Daten aus randomisierten Studien vor. Bevacizumab ist demnach nicht für die intravitreale Injektion und damit auch nicht bei CNV zugelassen. Nicht zuletzt wegen der geringen Kosten und der guten Verfügbarkeit von Bevacizumab wird es aber weltweit „off-label“ für diese Indikation verwendet.

Zudem gibt es noch weitere alternative Therapieverfahren. Ein neuer Ansatz bei exsudativer AMD besteht in der Anwendung der RNA-Interferenz. Dabei wird „small-interfering-RNA“ (siRNA) intravitreal injiziert, die über den Abbau von messenger-RNA (mRNA) das Gen für den Wachstumsfaktor VEGF ausschaltet (Chappelou und Kaiser, 2008). Von Kleinman et al. (2008) wurde an Mäusen gezeigt, dass zwei der bereits in klinischen Studien getesteten siRNAs eine Aktivierung von TLR3 (toll-like receptor 3) bewirken. Da die TLR in Geweben weit verbreitet sind, ist der Stellenwert von siRNA noch nicht abschätzbar. Zudem zeigten Yang et al. (2008), dass das TLR3-Gen an der Pathogenese der trockenen AMD beteiligt sein könnte. Demnach könnten siRNA die feuchte AMD verbessern, jedoch bei den gleichen Patienten eine trockene AMD mit geographischer Atrophie auslösen. Möglicherweise könnte durch einen TLR3-Inhibitor eine protektive Wirkung vor GA erreicht werden.

1.2 Anatomie, Physiologie und altersabhängige Veränderungen der äußeren Netzhaut

Bei jedem menschlichen Auge entwickeln sich im Laufe des Lebens strukturelle und funktionelle Veränderungen. Allerdings entwickeln sich glücklicherweise nicht immer Befunde, die über normale Alterungsprozesse hinausgehen und mit z.T. gravierenden funktionellen Einbußen zu klassifizieren wären. Bei der Pathogenese der AMD geht man davon aus, dass Veränderungen im Bereich der äußeren Netzhaut einschließlich der Photorezeptoren, des RPE's der Bruch'schen Membran und der Aderhaut eine große Rolle spielen (Klaver et al., 2004).

1.2.1 Die Photorezeptoren

In der äußeren Schicht der Netzhaut sind Millionen von Photorezeptoren enthalten. Die für das Dämmerungs- und Nachtsehen verantwortlichen Stäbchen finden sich hauptsächlich in der Peripherie, während sich in der zentralen Netzhaut vorwiegend Zapfen befinden, die das Tag- und

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

Die Makula lutea, der Bereich des schärfsten Sehens, kann in der Funduskopie als querovaler „gelber Fleck“ durch die Anreicherung von Lutein und Zeaxanthin von der übrigen Netzhaut abgegrenzt werden. Sie befindet sich mit einem Durchmesser von ca. 5,5 mm temporal der Sehnerv-Papille am hinteren Augenpol. Die Foveola bildet mit einem Durchmesser von ca. 0,2 mm den zentralen Anteil der Makula. Hier befinden sich ausschließlich Zapfen. (Funk und Apple, 1997; Spalton und Marshall, 1996; Whitehead et al., 2006).

Wenn es zu einem Untergang von Zapfen, sei es durch „normale“ altersabhängige Veränderungen oder im Rahmen der AMD kommt, sind entsprechend den Aufgaben der Zapfen im Netzhautzentrum und ihrer Verteilung verschiedene retinale Funktionen betroffen (Zrenner et al., 2004):

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

Mit zunehmendem Alter treten in den Photorezeptoren verschiedene altersabhängige Veränderungen auf. Unter anderem findet eine Desorganisation der, in den Außensegmenten der Photorezeptoren eingebauten, Membranscheibchen statt. Da diese Substanzen einen sehr hohen Gehalt an lipoidalem Material einschließlich Phospholipiden mit langkettigen mehrfach ungesättigten Fettsäuren aufweisen, reagieren sie sehr empfindlich auf lichttoxische und lichtoxidative Schädigung durch freie Radikale (Beatty et al., 2000; Young, 1988). Durch oxidativen Stress kann es zur Peroxidation der Lipide kommen. De La Paz und Anderson konnten eine mit dem Alter zunehmende

Lipidperoxidation am hinteren Augenpol feststellen (Paz und Anderson, 1992). Als Folge kann die Peroxidation zur Bildung höhermolekularer Polymere führen, welche durch lysosomale Enzyme im RPE nicht mehr erkannt und abgebaut werden können. Eine Akkumulation von Material in lysosomalen Kompartimenten des RPE kann dadurch begünstigt werden und pigmentepitheliale Funktionen beeinträchtigen (Holz et al., 2004).

Außerdem kann es mit zunehmendem Alter zu einer Verbreiterung und Distorsion der Außensegmente der Photorezeptoren kommen, deren Ursache bislang ungeklärt ist (Holz et al., 2004). Zudem wird eine Verringerung der Dichte sowohl der Zapfen als auch der Stäbchen in höherem Alter beobachtet (Feeney-Burns et al., 1980; Gartner und Henkind, 1981).

1.2.2 Das retinale Pigmentepithel

Das RPE besteht aus einer einlagigen Zellschicht streng polarisierter hexagonaler Zellen zwischen Bruch'scher Membran und neurosensorischer Netzhaut. Es verfügt über eine Vielzahl von Aufgaben, die für die normale Funktion der Photorezeptoren von essentieller Bedeutung sind (Holz et al., 2004). Es entwickelt sich embryologisch aus dem äußeren Blatt des Augenbechers und ist damit, wie die neurosensorische Netzhaut, neuroektodermalen Ursprungs (Streeten, 1969). In Abbildung 3 ist die Struktur des Pigmentepithel- Photorezeptor-Außensegment-Komplexes aufgezeigt.

Im apikalen Bereich des Zytoplasmas der pigmentepithelialen Zellen sind zahlreiche melaninhaltige Vesikel vorhanden, die vorwiegend Licht im Wellenlängenbereich von 400-800 nm absorbieren. Somit werden die Photorezeptoren vor Lichtreflexion und Lichtstreuung geschützt (Spalton und Marshall, 1996). Jede Pigmentepithelzelle umgibt in ihrem apikalen Teil mehrere hundert Außensegmente mit fingerförmigen Zellfortsätzen und phagozytiert als statische Makrophage täglich eine Vielzahl verbrauchter Membranscheibchen, die von den Außensegmenten der Photorezeptoren periodisch über den Tag abgegeben werden (Bok, 1985; Klaver et al., 2004; Spitznas und Hogan, 1970). Die phagozytierten Fragmente – Phagosomen genannt – werden nach enzymalem Abbau in Lysosomen entweder zur Wiederverwertung an die Photorezeptoren abgegeben oder nach Diffusion durch die Bruch'sche Membran von den Aderhautgefäßen abtransportiert. Das RPE ist zwar nicht direkt an der Umwandlung von Licht in neuronale Signale beteiligt, jedoch unterstreicht seine Lage zwischen den Außensegmenten der Photorezeptoren und der Bruch'schen Membran seine herausragende Bedeutung für die normale Funktion der Photorezeptoren. So gehen bei Atrophie des RPE's auch die korrespondierenden Photorezeptoren zugrunde (Maguire und Vine, 1986; Sarks, 1976).

Neben der Phagozytose von Membranscheibchen besitzt das RPE weitere vielfältige Funktionen wie die Aufrechterhaltung der Blut-Retina-Schranke, die Teilnahme im Vitamin-A-Kreislauf (Sehzyklus), die Synthese der extrazellulären Matrix und Melanin zur Lichtabsorption und den Transport von Molekülen zu und von der Interphotorezeptormatrix (Boulton und Dayhaw-Barker, 2001).

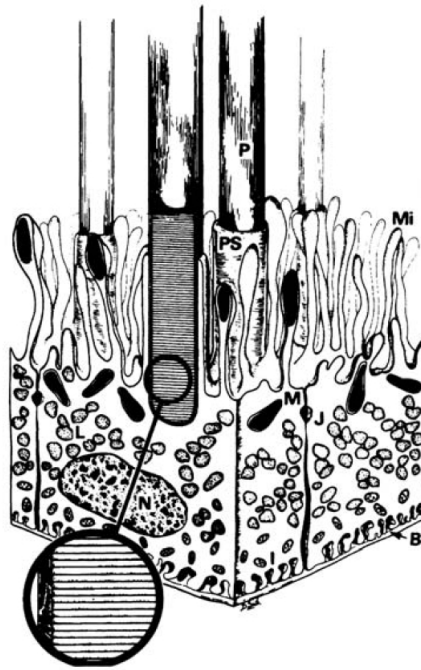


Abb. 3: Schematische Darstellung des Pigmentepithel-Photorezeptor-Außensegment-Komplexes. Interzelluläre junctionale Komplexe (J) finden sich zwischen benachbarten Zellen. Die apikale Membran des RPE weist zahlreiche Mikrovilli auf, die sich in 2 Typen unterscheiden lassen: lange, dünne Mikrovilli (Mi), die nicht in Kontakt mit den Außensegmenten der Photorezeptoren stehen, und kürzerer Mikrovilli, die eine Scheide für die Außensegmente bilden (PS). An der basalen RPE-Zellseite finden sich viele Invaginationen (I); darunter erkennt man die Bruch'sche-Membran (B). Das Zytoplasma der RPE Zellen enthält viele Organellen, einschließlich dem Nukleus (N), Melanin (M) und Lipofuszingranula (L) (Quelle: Klaver et al., 2004).

Im Laufe des Lebens nimmt die Zahl und damit die Dichte der Pigmentepithelzellen ab. Da sich die postmitotischen RPE-Zellen unter physiologischen Bedingungen nicht teilen, wird die gleichbleibende Fläche durch eine horizontale Vergrößerung der Zellen ausgefüllt (Holz et al., 2004). Hierdurch wird jede einzelne verbliebene Zelle funktionell mehr belastet. Dies führt zu einer Einschränkung des Abbaus von phagozytiertem Photorezeptormaterial. Durch die möglicherweise eingeschränkte lysosomale Funktion, findet eine Akkumulation von Lipofuszingranula im Zytoplasma der RPE-Zellen statt. Dadurch nehmen die Zellen progressiv mehr Volumen ein, was wiederum zu einem weiteren Funktionsverlust führt (Feeney-Burns et al., 1984; Hogan, 1972; Holz et al., 1999).

Außerdem scheint im Alter der Melaningehalt der RPE-Zellen von 8 % des Zellvolumens während der ersten beiden Lebensdekaden auf unter 3,5 % bei Menschen zwischen 40 und 90 Jahren abzusinken (Feeney-Burns et al., 1984). Da das Melanin durch das Auffangen freier Radikale eine protektive Rolle hat, könnte dieser Schutzmechanismus altersabhängig nachlassen (Holz et al., 2004).

1.2.3 Die Bruch'sche Membran

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

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

Die Bruch'sche Membran dient als semipermeable Filtrationsbarriere für den metabolischen Austausch zwischen Netzhaut und Blutkreislauf. Nutritive Moleküle können von der Choriokapillarisschicht der Aderhaut zum RPE und zu den Photorezeptoren gelangen, während zelluläre Abbauprodukte in Gegenrichtung entsorgt werden können (Bok, 1985; Boulton et al., 1989).

Im Laufe des Lebens unterliegt die Bruch'schen Membran vielfältigen Veränderungen. Es kommt zu einer diffusen Verdickung, einer zunehmenden Kalzifikation der elastischen Schicht und einem erhöhten Faseranteil (Okubo et al., 1999; Ramrattan et al., 1994; van der Schaft et al., 1991). Zudem wird granuläres und amorphes Material, sog. Debris angesammelt. Debris besteht vor allem aus Lipiden, Proteinen und Glykoproteinen (Feeney-Burns und Ellersieck, 1985; Pauleikhoff et al., 1990; Holz et al., 1994b; Kliffen et al., 1995). Funktionell gehen mit diesen strukturellen und biochemischen Veränderungen offensichtlich eine Abnahme der Elastizität sowie eine Zunahme des Diffusionswiderstandes einher (Fisher, 1987; Moore et al., 1995). Alle diese altersabhängigen Veränderungen führen zu weiterer funktioneller Beeinträchtigung im Zusammenwirken von Photorezeptoren, RPE, Bruch'scher Membran und Aderhaut.

1.2.4 Die Aderhaut

Die Aderhaut besteht aus einem schichtartig übereinanderliegenden System aus Blutgefäßen, die in lockeres Bindegewebe eingebettet sind. Sie befindet sich zwischen der Sklera (Lederhaut) und der Netzhaut. Die Choriokapillaris bildet die innere Schicht der Aderhaut. Sie besitzt ein gefenstertes Epithel und ermöglicht so die passive Diffusion von kleinen Molekülen und Flüssigkeit (Holz et al., 2004). Somit übernimmt die Aderhaut eine Nährfunktion für das RPE, die Photorezeptorenschicht, die äußere Körnerschicht und die äußere plexiforme Schicht der Netzhaut. Das über die ziliaren Arterien zufließende Blut verlässt die Aderhaut über die Vortexvenen. Da ein sehr hoher Blutstrom in Kombination mit einer geringen Sauerstoffausnutzung vorliegt, wird davon ausgegangen, dass die

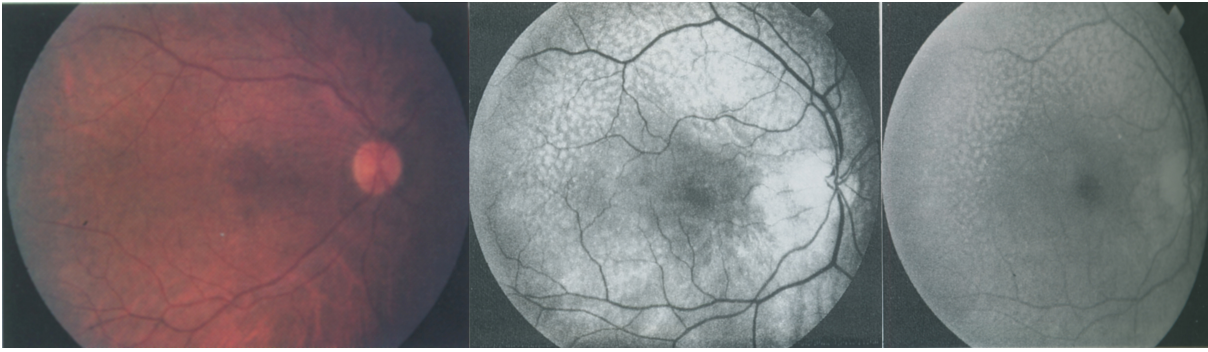


Abb. 4: Originalaufnahmen der Erstbeschreibung von Pseudodrusen durch (Mimoun et al., 1990) im *Journal Français D'Ophthalmologie*. Sie sind sie *links* sichtbar auf einem Farbfundusbild, in der *Mitte* fallen sie auf Grünlichtaufnahmen auf und *rechts* sind sie deutlich zu erkennen auf Blaulichtaufnahmen.

Aderhaut die Temperatur des hinteren Augenabschnitts konstant hält, indem sie die Wärmeenergie abführt, die beim photochemischen Prozess entsteht (Grehn, 2006).

Auch die Aderhaut verändert sich im Laufe des Leben. Eine Abnahme des Gefäßdurchmessers und der Anzahl chorioidaler Kapillaren geht oft mit einer Aufweitung und Verlängerung der interkapillären Räume einher (Olver et al., 1990). Es wird beobachtet, dass sich die Fläche des interkapillären Raumes erhöht von unter 25 % bei jungen Augen auf bis zu 60 % bei älteren Augen. Auch nehmen die Dicke der Aderhaut und auch der luminale Durchmesser der Choriokapillarisgefäße mit steigendem Alter ab (Ramrattan et al., 1994). Im Rahmen der AMD fallen neovaskuläre Prozesse als Reaktion auf die Veränderungen der Bruch'schen Membran und des RPE's auf. Die Gefäße der Choriokapillaris beginnen im Rahmen einer CNV zu proliferieren (Klaver et al., 2004).

1.3 Retikuläre Drusen

1.3.1 Erstbeschreibung

Im Jahre 1990 wurden retikuläre Drusen erstmals von Mimoun, Soubrane und Coscas im „Journal Francais D'Ophthalmologie“ erwähnt (Mimoun et al., 1990). In einem Artikel über makuläre Drusen wurden neben harten, weichen, basallaminären und kalzifizierten Drusen im Abschnitt „Drusen particuliers“, „Pseudo-drusen visibles en lumière bleue“ (im Blaulicht sichtbare Pseudodrusen) beschrieben. Den Wissenschaftlern war aufgefallen, dass bei einigen Patienten zahlreiche rundlich bis ovale Unregelmäßigkeiten vor allem in monochromatischen Blaulichtaufnahmen bei Fundusbildern zu sehen waren. Diese Läsionen besaßen einen variablen Durchmesser von ca. 100 μm und verteilten sich um die Arkaden großer temporaler Gefäße. Auch gut sichtbar waren diese Strukturen in Grünlichtaufnahmen (Abbildung 4). Nach einer Farbinjektion waren sie nicht hyperfluoreszierend. Pseudodrusen wurden sie genannt, weil sie den bisher bekannten Drusen ähnelten.

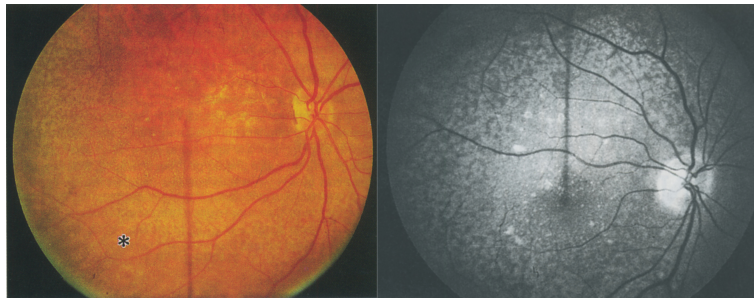


Abb. 5: Retikuläre Pseudodrusen beschrieben auf Originalaufnahmen von Arnold et al. (1995) in *Retina*. Die Abbildung zeigt *links* eine Farbfundusaufnahme, *rechts* sind retikuläre Pseudodrusen erstmals im NIR-Modus des cSLO dargestellt worden.

Klein et al. (1991) bezeichneten diese Strukturen als „retikuläre Drusen“ und fügten sie in „The Wisconsin age-related grading system“ ein. Hierbei handelt es sich um ein Einteilungssystem für Charakteristika von AMD. Retikuläre Drusen wurden auf Farbfundusbildern als „ill-defined networks of broad, interlacing ribbons“ (schlecht begrenzte Netzwerke mit weiten, vernetzen Bändern) beschrieben.

Arnold verwendete den Begriff „retikuläre Pseudodrusen“ 1995 in einer größerem Studie mit 100 Patienten, die diese netzartigen Strukturen aufwiesen. Pseudodrusen wurden sie genannt, weil man davon ausging, dass es sich nicht um eine Akkumulation von normalem Drusenmaterial handelte, sondern dass pathologische Veränderungen in der Aderhaut eine Rolle spielten. Auf Fundusaufnahmen in Rot-freiem Licht (RF) und auf Bildern, die erstmals mit Nahinfraroten Wellenlängen der cSLO aufgenommen wurden, fiel ein netzartiges Muster mit ovalen oder runden Läsionen mit einem Durchmesser von 125 bis 250 μm auf (Abbildung 5). Zunächst formten diese Strukturen Inseln, aus denen dann kleine Äste aussprossen und schließlich ein Netzwerk bildeten. Im schlimmsten Fall formten die retikulären Pseudodrusen eine einzige gelbe Masse (Arnold et al., 1995).

1.3.2 Epidemiologie

Eine Arbeitsgruppe von Klein untersuchte 2008 retikuläre Drusen in der bislang größten epidemiologischen Studie (Klein et al., 2008). In der sogenannten Beaver Dam Eye Studie wurden bei 4926 Personen der Bevölkerung der Stadt Beaver Dam in Wisconsin, USA, die zwischen 43 und 86 Jahre alt waren, Eingangs- sowie Follow-up Untersuchungen mit Hilfe von 30° Farbfundusbildern durchgeführt. Zur Bestimmung der Prävalenz wurden alle Personen bei Beginn der Studie auf das Vorkommen retikulärer Drusen hin untersucht. Es zeigten sich retikuläre Drusen bei 0,7 % der Personen. Die Häufigkeit im rechten und linken Auge war fast identisch; 0,7 % der rechten Augen und 0,5 % der linken Augen wiesen retikuläre Drusen auf. 63 % der Personen mit retikulären Drusen waren bilateral betroffen.

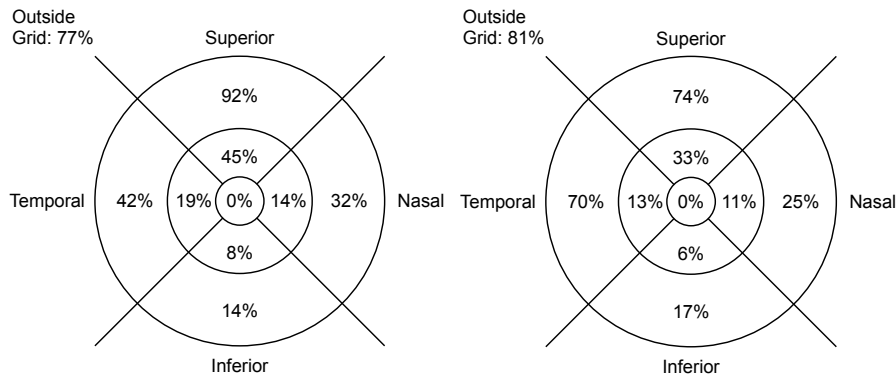


Abb. 6: Die Verteilung retikulärer Drusen in verschiedenen Feldern wurde bei Prävalenz (links) und Inzidenz (rechts) in einer Normalpopulation mit Hilfe eines Rasters bestimmt, welches auf die Makula aufgelegt wurde (Abbildung aus Klein 2008).

Die Inzidenz retikulärer Drusen nach 15 Jahren betrug durchschnittlich 3 % und stieg mit zunehmendem Alter an. Frauen waren häufiger vom Neuauftreten retikulärer Drusen betroffen (Odds Ratio = 2,59). Es gab erneut keinen Unterschied zwischen dem Auftreten retikulärer Drusen im rechten (2,4 %) und linken (2,5 %) Auge. Bilateral zeigten sich retikuläre Drusen bei 58 % der Betroffenen. Retikuläre Drusen traten vermehrt bei Personen mit niedrigem Einkommen, Rauchern, Übergewichtigen und bei der Einnahme von Antidepressiva sowie der „Antikonzeptiva“ bei Frauen auf. Es gab keine Personen, bei denen retikuläre Drusen im Laufe der Zeit verschwanden.

Außerdem beschäftigte sich die Arbeitsgruppe zusätzlich mit der Verteilung retikulärer Drusen im Fundusbild. Ein 1991 im Rahmen des „Wisconsin Age-Related Maculopathy Systems“ entwickeltes Raster zur Bestimmung der Charakteristika von AMD mit 9 Unterfeldern wurde aufgelegt. Der innerste Ring bedeckte die Fovea. Bei der Prävalenz- bzw. Inzidenz-Untersuchung befanden sich retikuläre Drusen vermehrt superior-temporal (Abbildung 6). Sie wurden bei 77 % der Bilder in der Prävalenz und bei 81 % der Aufnahmen in der Inzidenz aber auch außerhalb des Rasters gefunden. Diese Bereiche außerhalb des Rasters wurden nicht analysiert.

Klein geht jedoch davon aus, dass mit besseren Darstellungsverfahren wie der cSLO eine höhere Inzidenz von bis zu 12 % im Vergleich zu Fundusbildern hätte resultieren können.

Bisherige epidemiologische Zahlen beruhen zum Großteil auf normalen Fundusaufnahmen des Augenhintergrundes. Nur vereinzelt wurden andere bildgebende Verfahren benutzt, um das Auftreten retikulärer Drusen zu beschreiben. Smith et al. (2006) untersuchten in einer retrospektiven Studie neben Fundusbildern auch FAF-Bilder. 13 % der 166 Augen von 83 Patienten mit bilateralen weichen Drusen wiesen auch retikuläre Drusen auf.

Cohen et al. (2007) bestimmten die Prävalenz retikulärer Drusen bei Patienten mit neu diagnostizierter CNV. Zwei Patientenkollektive mit jeweils 100 AMD Patienten, die eine CNV aufwiesen, wurden mit Hilfe von Fundusbildern im RF- und Blaulichtmodus sowie zum Teil mit Angiographien untersucht. Insgesamt zeigten sich bei 24 % der Augen retikuläre Drusen.

Auch weitere Arbeitsgruppen untersuchten AMD Patientenkollektive auf retikuläre Drusen und konnten Prävalenzdaten liefern, auch wenn nur kleinere Patientengruppen analysiert wurden. Arnold et al. (1995) identifizierten bei 13 % der AMD Patienten retikuläre Drusen mit Hilfe von Farb- und RF-Fundusbildern. Auch hier war der Anteil von Frauen viel höher (87 %) als der von Männern. In einer retrospektiven Studie von Prenner et al. (2003) wurde bei nur 3 % der AMD-Patienten mit neovaskulärer AMD in einem Auge und 10 oder mehr großen ($> 63 \mu m$) Drusen im anderen Auge retikuläre Drusen gefunden. Hier wurden neben Fundusbildern auch FAG's durchgeführt.

Um den Einfluss des Alters und des Geschlechts auf die Häufigkeit von bilateraler AMD herauszufinden, führten Wang et al. (1998) die „Blue Mountains Eye“ Studie durch. Bei 3654 Australiern, die in der „Blue Mountain Region“ westlich von Sydney leben, wurden Fundusaufnahmen aufgenommen, um Zeichen früher oder später AMD zu identifizieren. Retikuläre Drusen wurden bei 15 % der AMD-Patienten gefunden, bei 91 % bilateral (96 % der Frauen und 80 % der Männer). 71 % der betroffenen Patienten waren Frauen.

Retikuläre Drusen sind demnach mit einer Prävalenz von 0,7 % und einer Inzidenz über 15 Jahre von 3 % in einer Normalpopulation aufgefallen. Die Prävalenz betrug zwischen 3 % - 24 % in verschiedenen kleineren Studien mit AMD- Patienten. Mehrere Studien belegten, dass sie sind meist bilateral zu finden waren und vermehrt bei Frauen auftraten.

Es gibt jedoch keine Daten aus einer repräsentativen AMD-Population mit neuerer Technologie, wie der cSLO.

1.3.3 Klinische Manifestationen

Retikuläre Drusen sind erstmals auf Farfundusbildern aufgefallen. Mimoun et al. (1990) beschrieben sie als multiple, rundliche Strukturen, die besonders gut in monochromatischem Blaulicht zu sehen waren. In Grünlicht waren sie ebenfalls zu erkennen (Abbildung 4 auf Seite 23). Sie hyperfluoreszierten auch nicht bei Angiographien. Auch Klein et al. (1991) beschrieb sie auf Farbfundusbildern als schlecht begrenzte netzartige Muster mit weiten, vernetzen Bändern.

Erstmals wurden retikuläre Drusen neben Farb- und RF-Fundusaufnahmen in der cSLO mit Nahinfraroten Wellenlängen von Arnold et al. (1995) untersucht. Es zeigte sich ein netzartiges Muster mit rundlich bis ovalen Läsionen, die eine Größe von 125-250 μm aufwiesen (Abbildung 5 auf Seite 24). Auch hier wurden retikuläre Drusen als nicht fluoreszierende Strukturen in der FAG oder der ICGA beschrieben.

Arnold et al. (1997) führte eine ICGA Studie über Drusen im Frühstadium von AMD durch. Retikuläre Drusen waren auf RF-Bildern sichtbar und als hypofluoreszierende Punkte in mittleren und späten Phasen der ICGA (Abbildung 7). In der FAG wurden retikuläre Drusen nicht gesehen.

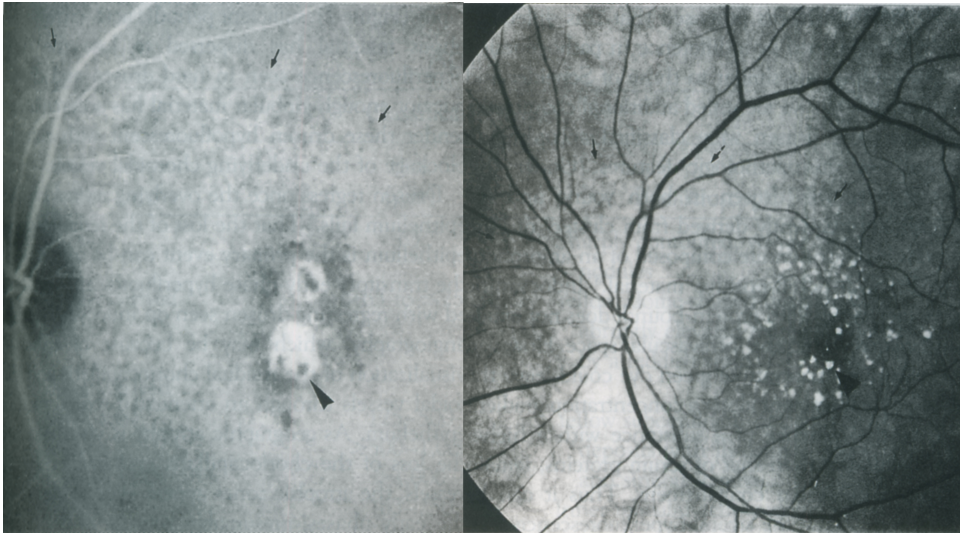


Abb. 7: Darstellung retikulärer Pseudodrusen auf Originalbildern einer ICGA von (Arnold et al., 1997) im *American Journal of Ophthalmology*. Rechts sind retikuläre Pseudodrusen deutlich sichtbar in rot-freien Aufnahmen (Pfeile). Links ist das netzartige Muster retikulärer Drusen als hypofluoreszierende Punkte dargestellt in der mittlere Phase einer ICGA (Pfeile).

Auch in der Beaver Dam Eye Study von Klein et al. (2008) werden nur Farbfundusaufnahmen gemacht. Die Autoren kommen zu der Erkenntnis, dass man mit besseren Darstellungsmethoden, wie der cSLO sicherlich höhere Prävalenzzahlen für retikuläre Drusen bekommen hätte, da somit die Unterscheidung retikulärer Drusen von anderen Läsionen sicherlich leichter und besser möglich gewesen wäre.

In FAF-Bildern mit der cSLO wurde von Lois et al. (2002) ein netzartiges Muster entdeckt. Es handelte sich um schlecht begrenzte kleine Areale von verminderter FAF, umgeben von Arealen erhöhter FAF. Ebenso entdeckten Bindewald et al. (2005) und Smith et al. (2006) netzförmige Muster in FAF-Aufnahmen mit der cSLO bei Patienten mit früher AMD. Auch hier handelte es sich um multiple kleine Areale mit einem Durchmesser kleiner als $200 \mu m$. Diese stimmten mit sichtbaren retikulären Drusen in korrespondierenden Fundusbildern überein (Abbildung 8).

Zusammengefasst lässt sich sagen, dass retikuläre Drusen auf Farbfundusbildern erstmals identifiziert und auch in weiteren Studien beschrieben wurden. Besonders gut kommen sie zum Vorschein in Blaulicht- oder in RF- Aufnahmen. Mittels neueren bildgebenden Verfahren wie der cSLO konnten retikuläre Drusen gut im NIR-Modus und in der FAF als Areale verminderter Intensität umgeben von Arealen erhöhter Intensität dargestellt werden. In der Angiographie wurden sie bisher nur in einer ICGA-Studie mit der cSLO als hypofluoreszierende Punkte gesehen.

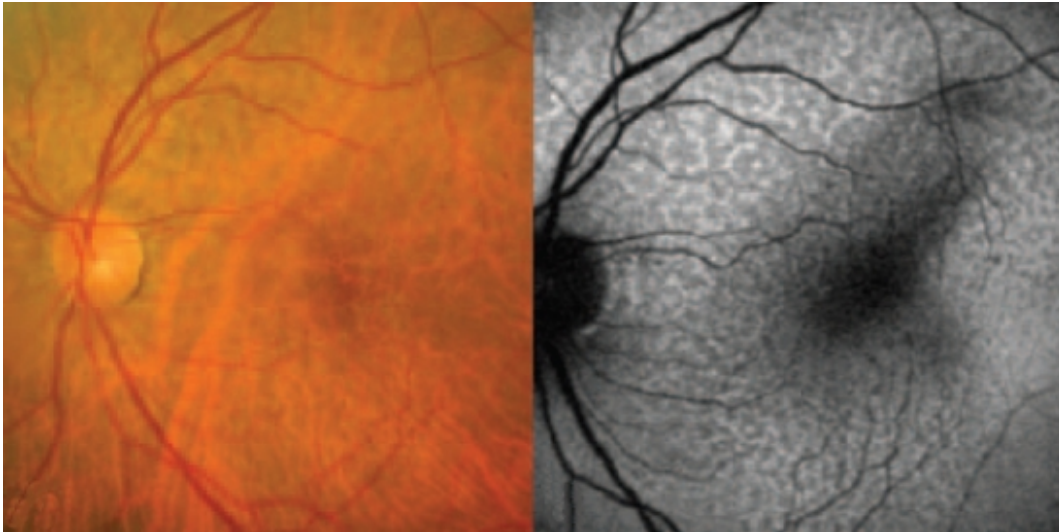


Abb. 8: Retikuläre Drusen auf einer FAF-Aufnahme (Bindewald et al., 2005) in *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. Links ist das netzartige Muster auf einer Farbfundusaufnahme schwach zu erkennen, während rechts das charakteristische netzartige Muster retikulärer Drusen in der FAF mit Arealen verminderter FAF, umgeben von Arealen erhöhter FAF deutlich sichtbar ist.

1.3.4 Histologische Untersuchungen und morphologisches Substrat

Die genaue Lokalisation und das morphologische Substrat retikulärer Drusen ist bislang noch nicht genau geklärt. Es gibt in einer Studie von Arnold et al. (1995) eine histopathologische Untersuchung zur Identifizierung des morphologischen Substrats retikulärer Pseudodrusen. Bei einem 71 Jahre alten Mann zeigten sich kurz vor seinem Tod neben bilateralen weichen Drusen auch retikuläre Drusen im linken Auge im NIR-Modus der cSLO. In der histopathologischen Untersuchung wurden Veränderungen in der Chorioidea bei dem Auge mit retikulären Drusen deutlich. In vertikalen Schnitten wurde eine dünnere Chorioidea auffällig mit einer verminderten Anzahl von kleinen Gefäßen vor allem in den mittleren chorioidalen Schichten im Vergleich zu dem anderen, nicht von retikulären Drusen betroffenen Auge. Tangentiale Schnitte zeigten eine netzartige Anordnung der Venen in einem fibrotischen, avaskulären Stroma mit einer verminderten Anzahl von chorioidalen Melanozyten bei dem Auge mit retikulären Pseudodrusen. Auch die Gefäße der Choriokapillaris wiesen ein netzartiges Muster auf. Arnold vermutete, dass die in der Bildgebung sichtbaren retikulären Drusen durch die netzartige Anordnung der Venen hervorgerufen werden. Diese netzartige Anordnung der Venen kommt ihrer Meinung nach durch einen fibrösen Ersatz des chorioidalen Stromas zustande. Die Arbeitsgruppe ging davon aus, dass retikuläre Drusen einen Indikator von schlechter chorioidaler Durchblutung darstellen.

Außer dieser einen histopathologischen Untersuchung von Arnold gibt es keine weiteren Erkenntnisse über den Ursprung und die genaue Lokalisation dieser Strukturen.

1.3.5 Hochrisikomerkmal bei AMD

In ihrer Studie 1995 war Arnold der Meinung, dass retikuläre Drusen nur einen Risikofaktor für die Entwicklung von feuchter AMD darstellen. 60 % der Patienten mit retikulären Drusen entwickelten eine CNV (Arnold et al., 1995).

In der Beaver Dam Eye Studie von Klein 2008 wurde neben Prävalenz und Inzidenz retikulärer Drusen auch die Entwicklung von früher AMD zu später AMD betrachtet. Augen mit retikulären Drusen wurden mit einer erhöhten Wahrscheinlichkeit des Auftretens von Zeichen der späten AMD und Sehbehinderung assoziiert. Bei 43 % der rechten und 46 % der linken Augen mit retikulären Drusen bei Beginn der Untersuchungen entwickelte sich über 15 Jahre hinweg eine späte AMD. Im Vergleich hierzu entwickelte sich bei weichen Drusen nur bei 18 % der rechten und 16 % der linken Augen eine späte AMD. Auch die Entwicklung einer reinen GA trat bei Augen mit retikulären Drusen viel häufiger auf. 21 % der rechten und 36 % der linken Augen mit retikulären Drusen entwickelten eine reine GA, während nur 9 % der rechten und 11 % der linken Augen mit weichen Drusen nach 15 Jahren von GA befallen waren. Ähnliche Zahlen liegen bei der Entwicklung von feuchter AMD vor. Retikuläre Drusen sind demnach ein Hochrisikofaktor für die Entwicklung von später feuchter oder trockener AMD (Klein et al., 2008).

Auch mit Daten der Age-related Eye Disease Studie zeigte Armstrong, dass bei Augen mit retikulären Drusen ein leicht erhöhtes Risiko vorlag, innerhalb von 5 Jahren GA oder feuchte AMD zu entwickeln. Eine GA zeigte sich bei 36 % der Augen mit retikulären Drusen während nur 27 % der Augen ohne retikuläre Drusen GA entwickelten. Feuchte AMD bekamen 29 % der Augen mit retikulären Drusen, während es bei Augen ohne retikuläre Drusen 27 % waren (Armstrong, 2005).

Da bisher keine genaue Lokalisation und kein exaktes morphologisches Substrat retikulärer Drusen vorliegt, ist die genaue Relevanz retikulärer Drusen als ein prognostischer Hochrisikomarker noch nicht geklärt. Es sollten weitere Studien mit hochauflösenden neueren Bildgebungsverfahren durchgeführt werden, um dies zu untersuchen.

1.4 Fragestellung

Ziel der vorliegenden Arbeit ist, retikuläre Drusen in verschiedenen Modalitäten der konfokalen Scanning Laser Ophthalmoskopie (cSLO) darzustellen. Zudem werden korrelierende Veränderungen im Nahinfrarot-Modus mit hochauflösender Spektral-Domain optischer Kohärenztomographie (SD-OCT) zur Bestimmung des morphologischen Substrats retikulärer Drusen analysiert. Außerdem wird die Prävalenz retikulärer Drusen sowie deren Verteilung im Fundusbild bei Aufnahmen der *Geographic Atrophy Progression-* (GAP) Studie bestimmt.

Im einzelnen werden folgende Aspekte untersucht:

- Darstellung retikulärer Drusen im Nahinfrarot-Modus der cSLO
- Messung der Größe retikulärer Drusen
- Darstellung retikulärer Drusen in Aufnahmen in Rot-freiem Licht , Fundusautofluoreszenzbildern, Fluoreszein- und Indozyaningrünangiographien sowie Farbfundusaufnahmen
- Korrelat in der SD-OCT
- Vergleich der linearen Ausdehnung von Veränderungen retikulärer Drusen im Nahinfrarotbild der cSLO mit den korrelierenden Unregelmäßigkeiten auf SD-OCT-Bildern
- Prävalenz retikulärer Drusen mit Hilfe von Fundusautofluoreszenz-, Nahinfrarot und rotfreien Bildern innerhalb der GAP-Studie
- Verteilung retikulärer Drusen in Fundusautofluoreszenzbildern der GAP-Studie

2 Patienten und Methoden

2.1 Patienten Bonn

Die untersuchten Patienten wurden in der Universitäts-Augenklinik Bonn rekrutiert. Über einen Zeitraum von 12 Monaten wurden Patienten mit AMD und retikulären Drusen in den wöchentlichen AMD-Sprechstunden sowie in der Injektions-Sprechstunde¹ rekrutiert. Untersuchungsbefunde des Spektralis HRA+OCT und einer Farbfunduskamera wurden gesammelt und archiviert.

Außerdem wurden die bereits existierenden Datenbanken des Spektralis HRA+OCT, des Heidelberg Retina Angiographs 2 (HRA2) sowie der Farbfunduskamera nach schon vorhandenen Aufnahmen von Patienten mit retikulären Drusen durchsucht. Es handelt sich demnach um ein sowohl prospektiv als auch retrospektiv untersuchtes Patientengut.

Retikuläre Drusen wurden als ein netzartiges Muster mit verminderten Intensitäten im NIR-Modus definiert. Es handelte sich um runde oder ovale Unregelmäßigkeiten mit einem Durchmesser von $150\text{-}250\mu\text{m}$ am hinteren Augenpol.

Insgesamt wurden 130 Augen von 85 Patienten mit retikulären Drusen im NIR-Modus untersucht. Davon waren 18 Männer und 67 Frauen. Das Durchschnittsalter betrug 79,6 Jahre (SD 6,06 Jahre, 65,6-93,9 Jahre). Zusätzlich zu den NIR-Aufnahmen lagen bei 60 Augen von 38 Patienten Bilder im RF-Modus vor. Bei 101 Augen von 66 Patienten konnten Bilder im FAF-Modus analysiert werden. FAG-Aufnahmen lagen bei 54 Augen von 39 Patienten vor, während bei 15 Augen von 12 Patienten ICGA-Aufnahmen aufgenommen wurden. Bei 121 Augen von 79 Patienten wurden kombinierte cSLO und SD-OCT Bilder aufgenommen. Bei 65 Augen von 45 Patienten waren Farbfundusbilder aufgenommen worden.

Ausgewählt wurden Patienten über 50 Jahre, die retikuläre Drusen und weitere sichtbare Merkmale der AMD aufwiesen. Alle Patienten wurden nach der Klassifikation der ARED-Studie eingeteilt (Age-Related Eye Disease Study Research Group, 2001). Hierbei werden Patienten, dem Schweregrad ihrer AMD entsprechend, in vier Gruppen eingeteilt. Entscheidende Parameter sind Größe der Drusen und des Drusengebietes, Zustand des Pigmentepithels und Veränderungen im Partnerauge. Es wiesen 5 Patienten das Stadium 2, 7 Patienten das Stadium 3 und 21 Patienten das Stadium 4 auf. 52 Patienten hatten eine bilaterale fortgeschrittene AMD, die nicht in der Klassifikation der

¹In der Injektions-Sprechstunde wird Patienten mit feuchter AMD Ranibizumab (Lucentis®, ein VEGF = Vascular Endothelial Growth Factor) intravitreal verabreicht.

ARED-Studie festgehalten wird. Bei 17 Patienten fand sich in beiden Augen eine CNV, bei 28 Patienten in beiden Augen eine GA und bei 7 Patienten auf einem Auge eine GA und auf dem anderen Auge eine CNV.

Ausschlusskriterien waren das Vorliegen anderer Netzhauterkrankungen wie diabetische Retinopathie oder hereditäre Makuladystrophie. Auch bei stattgefundenen Netzhautchirurgie, Laserkoagulation oder Strahlentherapie und unzureichender Compliance wurden Patienten nicht in die Studie eingeschlossen.

Die Studie wurde von der Ethikkommission der Universität Bonn genehmigt und folgte der Deklaration von Helsinki. Die Patienten, die prospektiv in die Studie aufgenommen wurden, wurden aufgeklärt und ihr schriftliches Einverständnis eingeholt.

2.2 Geographic Atrophy Progression- (GAP) Studie Patienten

Zur Bestimmung der Prävalenz retikulärer Drusen und deren Verteilung im Fundusbild wurden systematisch Bilder der GAP-Studie ausgewertet.

Bei der GAP-Studie handelt es sich um eine prospektive, multizentrische, longitudinale Fallstudie über einen Zeitraum von 18 Monaten von AMD- Patienten mit GA, die von Alcon Research Ltd. initiiert und gesponsort wird. Klinische Studienzentren befinden sich in den Vereinigten Staaten von Amerika, Australien, Israel und Europa. In Deutschland sind die Universitätskliniken Bonn, Freiburg und Würzburg, sowie das St. Franziskus-Hospital in Münster beteiligt. Primärer Endpunkt ist die Beurteilung der Atrophie-Progression anhand FAF- und Farbfundus-Aufnahmen. Die Universitäts-Augenklinik Bonn ist Forschungskooperationspartner. Im hiesigen GRADE Reading Center werden die FAF-Aufnahmen nach Standard Operation Procedure (SOP) ausgewertet.

Allgemeine Einschlusskriterien der GAP-Studie sind eine gut begrenzte GA-Fläche auf mindestens einem Auge mit einer Mindestgröße von $1,25 \text{ mm}^2$. Die Gesamtgröße aller Atrophieareale darf $17,5 \text{ mm}^2$ nicht überschreiten. Weitere Kriterien sind ein Visus von mindestens 20/200 und ein Alter über 55 Jahre. Bei Vorhandensein einer CNV (sowohl im Studien- als auch Partnerauge) können Patienten nicht eingeschlossen werden.

Im Hinblick auf retikuläre Drusen ist die GAP-Studie die erste internationale, multizentrische AMD-Studie, bei der bei allen Patienten cSLO-Aufnahmen nach SOP angefertigt wurden. Dieses einzigartige Patientenkollektiv erscheint daher für die systematische Untersuchung retikulärer Drusen, inklusive Vorkommen und topographische Verteilung, besonders geeignet.

Zum Zeitpunkt der vorliegenden Auswertung lagen Aufnahmen der Erstuntersuchung von 608 Patienten im GRADE Reading Center vor. Das Durchschnittsalter der Patienten betrug $77,1 \pm 7,7$ Jahre.

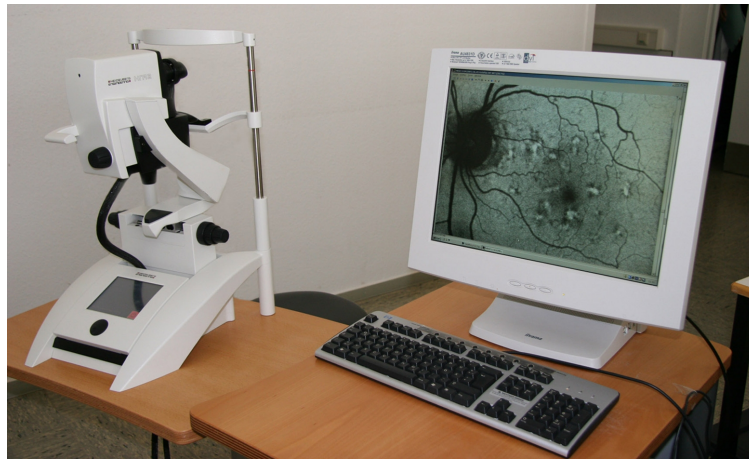


Abb. 9: Spektralis HRA+OCT

2.3 Methoden

2.3.1 Simultane konfokale Scanning Laser Ophthalmoskopie (cSLO) und Spektral-Domain optische Kohärenztomographie (SD-OCT)

Das Spektralis HRA+OCT des Herstellers Heidelberg Engineering ist ein Aufnahmegerät mit zwei unabhängigen Scansystemen (Abbildung 9). Simultan zur Bildgebung mit dem HRA 2 können hochaufgelöste Schnitt- und Volumenaufnahmen retinaler Schichten mit der SD-OCT erzeugt werden. Es ist möglich, die beim HRA 2 verfügbaren Aufnahmemodalitäten wie NIR-Aufnahmen, Aufnahmen im RF-Modus, FAF-Aufnahmen und FAG/ICGA mit einzelnen hochaufgelösten SD-OCT-Schnitten oder einem OCT-Volumenscan zu kombinieren. Einzelne cSLO Bilder werden fixiert und es kann simultan ein Schnittbild mit der SD-OCT durchgeführt werden. Dadurch wird dreidimensionale in-vivo Bildgebung mit genauer Untersuchung pathologischer Veränderungen möglich (Fleckenstein et al., 2008; Helb et al., 2009). Die HRA-Aufnahmemodi (NIR, RF, FAF und Angiographien) können auch ohne OCT aufgenommen werden.

Konfokale Scanning-Laser-Ophthalmoskopie

Das optische Prinzip des HRA ist die konfokale Scanning-Laser-Ophthalmoskopie, die entwickelt und erstmalig beschrieben wurde von Webb und Hughes (1981) und Webb et al. (1987). Hierbei wird der Augenhintergrund punktweise mit einem monochromatischem Laserstrahl abgetastet und das von der Netzhaut reflektierte Licht mit Hilfe eines lichtempfindlichen Detektors an jedem Punkt registriert. Das konfokale System ermöglicht die Erhöhung des Bildkontrastes durch Minimierung des Streufluoreszenzlichtes außerhalb der Fokalebene.

Zunächst läuft das Laserlicht durch einen Modulator, über den die Beleuchtungsintensität gesteuert werden kann. Mit Hilfe von zwei Spiegeln (x-y-Ablenkung) wird das Licht auf den Fundus gelenkt.

Hierbei handelt es sich um einen Polygonspiegel für die schnelle horizontale Ablenkung und einen oszillierenden Planspiegel für die langsamere vertikale Ablenkung. Das Drehzentrum für Ablenkung und Abtastbewegung liegt in der Pupille (Jean et al., 1990; Plesch et al., 1986; Webb et al., 1987).

Das vom Fundus reflektierte Licht bzw. das emittierte Fluoreszenzlicht passiert erneut die beiden Spiegel und erreicht durch eine konfokale Blende, die nur reflektiertes Licht einer konfokalen Ebene scharf abbildet, einen lichtempfindlichen Detektor. Auf diese Weise kann die reflektierte Lichtmenge einzelnen Netzhautpunkten zugeordnet werden und es entsteht ein Analogsignal auf einem Monitor. Das Bild kann abgespeichert und digital verarbeitet werden.

Heidelberg Retina Angiograph 2

Der HRA ist ein konfokales Scanning-Laser-System, das ursprünglich für die digitale FAG und ICGA entwickelt wurde (Holz et al., 1998). Der HRA 2, eine Weiterentwicklung des HRA Classic, ermöglicht sogar eine Erfassung einzelner RPE Zellen (Bindewald et al., 2004).

Der HRA 2 enthält drei unterschiedliche Laser, die Licht verschiedener Wellenlänge emittieren. Die maximale retinale Strahlenbelastung liegt unter den durch das amerikanische nationale Standards Institut und anderen internationalen Standards festgelegten Grenzen (The Laser Institut of America 1993).

Für die Aufnahme von Infrarot Bildern wird ein Diodenlaser mit einer Wellenlänge von 830 nm verwendet.

Eine Wellenlänge von 488 nm erzeugt RF-Reflexionsbilder. Diese Bilder sind von besonderem Interesse bei manchen pathologischen Strukturen, wie zum Beispiel Mikroaneurysmen, da diese bei der Bildaufnahme mit rotem Licht aufgrund der Kontrastschwäche kaum sichtbar sind. Auch die Nervenfaserbündel zeigen eine erhöhte Reflektivität im kurzwelligen Strahlenbereich, so dass hier lokalisierte Defekte im RF-Modus gut dargestellt werden (Dithmar et al., 1995).

Zur Erfassung der FAF wird durch einen Festkörperlaser blaues Licht mit einer Wellenlänge von 488 nm auf den Fundus projiziert und die Emission nach Ausblendung des kurzwelligen Lichtes mittels eines Sperrfilters in einem Wellenlängenbereich zwischen 500 und 700 nm erfasst (Bindewald-Wittich et al., 2005). Dieser Sperrfilter unterdrückt das blaue Anregungslicht bei einer Wellenlänge von 488 nm mit einem Faktor von ca. 10^{-6} . Somit wird sichergestellt, dass keine Artefakte aufgrund der Reflexion des 488 nm Anregungslichtes die Aufnahme der Autofluoreszenz beeinflussen. Die Blockade ist so gut, dass sogar Reflexe des Objektivs unterdrückt werden können (Reflexionskoeffizient der Objektivlinsen ca. 1 %). Das FAF-Imaging ist ein bildgebendes Verfahren zur Evaluierung alters- und krankheitsbedingter Veränderungen auf der Ebene des RPE. Die FAF

beruht im Wesentlichen auf Fluorophoren der Lipofuszin- Granula in den RPE-Zellen (Delori et al., 1995).

Bei FAG-Aufnahmen wird Natriumfluoreszein, ein wasserlöslicher Farbstoff, intravenös appliziert. Der Farbstoff breitet sich mit dem Blut im Organismus aus. Da das Absorptionsspektrum zwischen 465-490 nm liegt, wird Laserstrahlung von 488 nm zur Anregung des Farbstoffes generiert. Das Emissionsspektrum liegt zwischen 520 und 530 nm. Ein Sperrfilter von 500 nm sorgt demnach für die Darstellung des emittierten langwelligeren Lichtes und lässt hier nur grünes Licht entsprechend einer Wellenlänge von 520-530 nm durch (Lang, 2008). Somit wird der Durch- und Abfluss des Farbstoffes am Augenhintergrund aufgenommen und elektronisch gespeichert.

ICG-Farbstoff ist ein Tricarbocyaninfarbstoff, bei dem das Absorptionsspektrum und das Emissionsspektrum im Infrarotbereich liegen (Absorptionsspektrum: 790-805 nm, Emissionsspektrum: 825-835 nm). Er wird mit einem Diodenlaser mit einer Wellenlänge von 790 nm angeregt. Zur Trennung des angeregten Lichtes vom emittierten Fluoreszenzlicht wird ein Sperrfilter von 830 nm verwendet. Die ICG-Angiographie ist besonders gut zur Untersuchung der Aderhautzirkulation geeignet. Dies liegt daran, dass die Infrarotstrahlung eine höhere Transmission durch das RPE im Vergleich zur FAG aufweist (Lang, 2008).

In jedem Aufnahmemodus können Einzelbilder, Bildsequenzen oder eine fokale Bildserie (dreidimensionales Gesamtbild) aufgenommen werden. Generierte Bilder werden mit einer Auflösung zwischen 384 x 384 und 1536 x 1536 Pixel bei einem Bildfeld zwischen 10° und 30° digitalisiert und bereits während der Aufnahme auf dem Computerbildschirm angezeigt und abgespeichert. Durch Einstellung am Refraktionsgrad kann sphärische Fehlsichtigkeit der Patienten im Bereich -24 bis über +30 Dioptrien kompensiert werden (Klaver et al., 2004).

Optische Kohärenztomographie

Die optische Kohärenztomographie (OCT) wurde ursprünglich von Huang et al. (1991) entwickelt und ermöglichte eine verbesserte in vivo Bildgebung retinaler Krankheiten. Sie wird in der Augenheilkunde für eine Vielzahl von Indikationen angewendet und ist zu einem nichtinvasiven Standard-Diagnoseverfahren geworden (Soliman et al., 2007; Spaide et al., 2002), das mit optischen Mitteln zwei- oder dreidimensionale Schnittbilder von biologischem Gewebe mit hoher räumlicher Auflösung erzeugt. Die Beurteilung der Netzhaut und des vorderen Augenabschnittes ist möglich. Einblicke in morphologische Veränderungen und Oberflächen werden gegeben und Struktur und Dicke der Gewebe können analysiert werden.

Die OCT ist vom Prinzip her mit einer Ultraschalluntersuchung vergleichbar, nur dass anstelle von Schallwellen nahinfrarotes Licht ins Gewebe eingestrahlt, dort reflektiert und wieder detektiert

wird. Es können Papille, retinale Nervenfaserschicht und Retina analysiert werden. Die einzelnen retinalen Schichten und das RPE lassen sich so gut darstellen.

Das OCT Verfahren basiert auf dem Prinzip der „Michelson-Interferometrie“. Ein, von einer Superlumineszenzdiode emittierter, breitbandiger Lichtstrahl im Bereich von 870 nm wird auf die Retina projiziert. Durch einen Strahlenteiler wird das niedrigkohärentes Infrarotlicht auf die Netzhaut und auf einen Referenzspiegel projiziert. Dieses Licht wird von den verschiedenen Schichten der Retina unterschiedlich reflektiert. Die Laufzeit des an der Retina reflektierten Lichts wird mit der Laufzeit des aus demselben Lichtstrahl am Referenzspiegel bei bekannten Entfernungen reflektierten Lichts verglichen. Ein Interferometer führt die reflektierten Lichtimpulse zusammen und es trifft ein als Interferenz bekanntes Phänomen auf. Diese Interferenz wird von einem Photodetektor erkannt und gemessen. Aus dem Interferenzmuster beider Signale lässt sich die relative optische Weglänge innerhalb eines A-Scans (einzelnes Signal in Richtung der z-Achse) ablesen. Die transversale Aneinanderreihung mehrerer A-Scans entlang der Horizontalen (x-Achse) oder Vertikalen (y-Achse) ergibt die Darstellung des B-Scans, bei der Kombination beider Scan-Richtungen entsteht ein dreidimensionales Tomogramm (C-Scan), das auch als Volumen-Scan bezeichnet wird (Lang, 2008).

Die transversale (x-y-Achse) und die longitudinale (z-Achse) Auflösung sind bei der OCT entkoppelt. Begrenzt wird die Auflösung bei der OCT durch die Bandbreite des eingesetzten Lichtes. Durch weite Spektren wird eine hohe Auflösung erreicht, die quasi histologische in vivo-Schnitte liefert, Früher wurde meist die Zeitbereich- („Time-Domain“) OCT angewandt. Dabei wird der Referenzarm in der Länge verändert und kontinuierlich die Intensität der Interferenz gemessen, ohne auf das Spektrum Rücksicht zu nehmen (Burk, 2007).

In den letzten Jahren wurden große Fortschritte im Hinblick auf die Bildauflösung durch die Entwicklung hochauflösender OCT gemacht. Durch die Einführung von Spektral-Domain optischer Kohärenztomographie (SD-OCT), auch Frequenzbereich-OCT genannt, wurden Geschwindigkeit, Signal-Rausch-Verhältnis und Sensitivität verbessert (Cense et al., 2004; Drexler et al., 1999, 2001, 2003; Drexler, 2004; Leitgeb et al., 2004; Wojtkowski et al., 2004, 2005). Es wird die Interferenz der einzelnen spektralen Komponenten bestimmt und simultan die vollständige Information über die Tiefe gewonnen, ein beweglicher Referenzarm wird nicht benötigt. Dies erhöht Stabilität und Geschwindigkeit. Die Abtastrate im Frequenzbereich-OCT ist mit der Messtiefe verbunden. Eine schnellere Abtastrate eines Detektors innerhalb des gleichen Spektralbereiches erhöht den Bereich, in dem mehrere Objekte voneinander differenziert werden können. Die Frequenzbereich-Verfahren besitzen eine mehrfach höhere Empfindlichkeit gegenüber den Zeitbereichverfahren in Kombination mit hoher Geschwindigkeit (Burk, 2007). Erhöhte Geschwindigkeit erlaubt Bilder in Sekundenbruchteilen zu generieren und dadurch Bewegungsartefekte zu minimieren. Es werden

etwa 40.000 A-Scans pro Sekunde durchgeführt. Die Tiefe der Scans liegt bei 1,8 mm mit einer Tiefenauflösung von 3,5 μm pro Pixel (Fleckenstein et al., 2008; Helb et al., 2009).

Mit OCT war es bisher schwer, gute Aufnahmen der Chorioidea oder anderer tieferer Netzhautschichten zu erhalten, da die Auflösung mit zunehmender Tiefe abnimmt und da das RPE das Licht stark streut und reflektiert. Somit nimmt die Signalstärke in tieferen Schichten ab und die Qualität des Bildes wird beeinträchtigt. Gute Visualisation der Chorioidea mit OCT wurde bei der Entwicklung eines neuen fovealen Hypoplasie Grading Systems bei Menschen mit Albinismus gezeigt (Seo et al., 2007). Bei Menschen ohne Albinismus wäre eine gute Visualisierung der Chorioidea möglich mit einem OCT-Gerät mit einer Lichtquelle, die langwelligere infrarote Wellenlängenregionen aussendet als herkömmliche Geräte (Povazay et al., 2007). Konsequenz dieser Wellenlänge ist allerdings die verminderte Auflösung für retinale Strukturen. Daraus resultiert ein limitierter klinischer Gebrauch.

(Spaide et al., 2008) entwickelten eine Methode, um mit dem OCT die Dicke der Chorioidea zu bestimmen. Mit diesem „Enhanced Depth Imaging“ (EDI) wurden so genannte „Upside-down“ Bilder durch Inversion des OCT-Scan Feldes angefertigt. Spaide und Mitarbeiter profitierten von der Tatsache, dass bei jedem „normalen“ OCT Bild auch ein umgekehrtes Bild aufgenommen, wenn auch nicht angezeigt wird. Durch näheres Heranführen des OCT-Gerätes an den Patienten wird nur das umgekehrte Bild gezeigt. Die Chorioidea oder die innere Sklera sind mit guter Auflösung und Qualität zu sehen, während weiter vorne liegende Strukturen mit geringerer Auflösung und Qualität dargestellt sind.

2.3.2 Heidelberg Eye Explorer

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

Eine weitere wichtige Funktion des HEE besteht in der Erstellung eines Durchschnittsbildes aus mehreren Einzelaufnahmen (Funktion „Compute Mean“). Dies ermöglicht eine Verstärkung des Bildkontrastes und führt zu einem günstigeren Signal-Rausch-Verhältnis des Bildes. Es können auch mit Hilfe der „Compute Composite“ Funktion einzelne Bilder zusammengeschnitten werden. Außerdem können Bilder von verschiedenen Aufnahmezeitpunkten zusammen in einer so genannten Lightbox archiviert werden. So können ausgewählte Bilder zu einem späteren Zeitpunkt abgerufen werden.

2.3.3 Funduskamera

Um Farbaufnahmen des Augenhintergrundes zu generieren, wurde für diese Arbeit die Funduskamera FF 450plus zusammen mit dem Visupac System der Zeiss Meditech AG, Jena, als digitales Imaging Programm verwendet.

2.3.4 Aufnahmeprotokoll

Klinische Patienten Bonn

Folgendes Protokoll wurde zur Aufnahme von NIR-, RF-, FAF-, Angiographie- und SD-OCT-Bildern mit dem Spektralis HRA+OCT verwendet.

1. Grundeinstellungen:

- a) Pupillenerweiterung mit mindestens einem Tropfen 1 % Tropicamide Lösung
- b) Positionierung des Patienten vor das Spectralis HRA+OCT mit Auflegen des Kopfes auf die Kinnstütze
- c) Bildausschnitt mit $30^\circ \times 30^\circ$ mit Fovea in Mitte und temporaler Hälfte des Sehnervenkopfes, High-speed mode (Auflösung 768x768 Pixel), Voreinstellung des Focus nach spährischem Äquivalent

2. NIR-Aufnahme:

- a) Fokussierung
- b) Anpassung der Sensitivität bis zum Erhalten eines scharf abgebildeten und gut ausgeleuchteten Bild
- c) Erzeugung eines gemittelten Bildes aus mehreren Einzelaufnahmen mit Hilfe des ART (Automativ Real Time)
- d) Abspeichern der Aufnahmen

3. RF-Aufnahme:

- a) Adjustierung des Focus auf kurzwelligeren Wellenlängenbereich
- b) Anpassung der Sensitivität bis zum Erhalten eines scharf abgebildeten und gut ausgeleuchteten Bild
- c) Erzeugung eines gemittelten Bildes aus mehreren Einzelaufnahmen mit Hilfe des ART (Automativ Real Time)
- d) Abspeichern der Aufnahmen

4. FAF-Aufnahme:

- a) Einschalten des Emissionsfilters
- b) Erhöhung und Anpassung der Sensitivität bis zum Erhalten eines scharf abgebildeten und gut ausgeleuchteten Bild
- c) Erzeugung eines gemittelten Bildes aus mehreren Einzelaufnahmen mit Hilfe des ART (Automativ Real Time)
- d) Abspeichern der Aufnahmen

5. SD-OCT-Aufnahme:

- a) Umschalten in den SD-OCT-Modus
- b) Justierung der Kamera bis zum Erhalten eines scharf abgebildeten Bildes
- c) Erzeugung eines gemittelten Bildes aus mehreren Einzelaufnahmen
- d) Anfertigung verschiedener horizontaler und vertikaler Schnitte
- e) Erstellung von „Upside-down“ Bildern durch näheres Heranführen der Kamera
- f) Anfertigung verschiedener horizontaler und vertikaler Schnitte
- g) Abspeichern der Aufnahmen

6. Angiographie:

- a) Umschalten in den FAG- oder ICGA Modus
- b) Injektion von Fluoreszein- oder Indozyaningrün-Farbstoff in die Armvene
- c) Erhöhung und Anpassung der Sensitivität bis zum Erhalten eines scharf abgebildeten und gut ausgeleuchteten Bild
- d) Anfertigung einer Vielzahl von Aufnahmen in den verschiedenen Phasen der Angiographie
- e) Abspeichern der Aufnahmen

GAP-Studien Patienten

Für die Patienten der GAP-Studie wurden nach SOP Bilder im NIR-, RF- und FAF-Modus aufgenommen. An allen Zentren erfolgte vor Studienbeginn eine Zertifizierung der Photographen. Im FAF-Modus wurden immer Aufnahmen von drei sich überlappenden Feldern des Augenhintergrundes erstellt. Zunächst wurde ein normales Bild mit der Fovea in der Mitte und der Papille am nasalen Rand aufgenommen. Dann wurde die Kamera nach nasal geschwenkt, um zusätzlich ein Bild, bei dem der temporale Rand des Sehnervenkopfes die Mitte des Bildes darstellt, aufzunehmen. Schließlich wurde die Kamera weiter nach temporal bewegt und eine Aufnahme erstellt, bei der sich die temporale Region der Makula in der Mitte befindet (Abbildung 10).

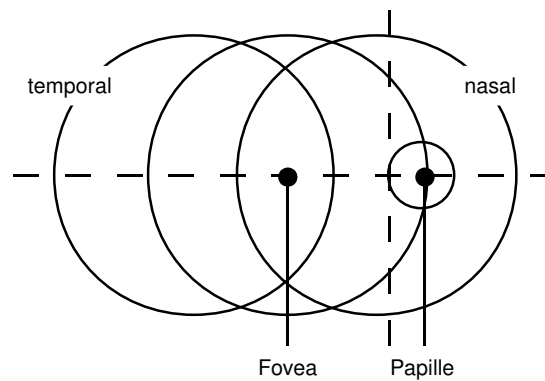


Abb. 10: Modell der 3-Felder Aufnahmen bei FAF-Bildern in der GAP-Studie am Beispiel des rechten Auges. Grafik modifiziert nach dem GAP-Studienprotokoll.

2.4 Auswertung

2.4.1 Detektion mittels Nahinfrarot-Imaging

Es wurden nur Patienten in die Studie eingeschlossen, bei denen im NIR-Modus retikuläre Drusen als ein charakteristisches netzförmiges Muster mit kleinen, runden, teils konfluierenden Arealen mit verminderter Intensität vorhanden waren.

Wenn nötig wurde mit dem Bildbearbeitungsprogramm Adobe Photoshop der Kontrast der Bilder verbessert oder die Helligkeit verändert. Zusätzlich wurde die Größe von Drusen bei jeweils 10 Drusen von 16 Patienten mit einem Maus-gesteuerten Messlineal ausgemessen. Hierbei wurden, soweit möglich, die fünf größten und fünf kleinsten sichtbaren retikulären Drusen ausgewählt.

2.4.2 Merkmale anderer en-face Aufnahmemodi

Neben NIR-Bildern wurden, falls vorhanden, auch die anderen Modi der cSLO sowie Farbfundusbilder ausgewertet, um klinische Manifestationen retikulärer Drusen zu beschreiben.

Um die Unterschiede, die durch Drehen oder Rotation bei der Aufnahme verschiedener Modalitäten bei einem Patienten entstehen, auszugleichen, wurden die Bilder nach manueller Markierung von Blutgefäßkreuzungen mit Hilfe von Picture Windows Pro 4.0, Digital Light and Color, Belmont, MA) automatisch übereinandergelagert und dann für jeden Patienten in einer Grafik festgehalten. So konnten Auffälligkeiten in den verschiedenen Modalitäten übereinandergelagert und besser miteinander verglichen werden. Es wurde zunächst festgestellt, in welchen Modalitäten ein Bild vorlag. Dann wurde bei jedem Bild untersucht, ob retikuläre Drusen vorhanden waren (1), ob sie nicht vorhanden waren (2) oder ob die Qualität zu schlecht war, um eine Aussage treffen zu können (3).

2.4.3 Merkmale in der SD-OCT Bildgebung

Bei den Patienten mit Bildern im SD-OCT-Modus wurde das Muster der hyperreflektiven Banden beschrieben. Es besteht nach wie vor eine Kontroverse über die anatomische Bezeichnung und das histologische Korrelat der verschiedenen hyperreflektiven Banden, besonders die der äußeren Netzhaut (Drexler, 2007; Pircher et al., 2006). In dieser Arbeit wurde die von Pircher und Mitarbeitern vorgeschlagene Bezeichnung, wie in Abbildung 11 gezeigt wird, verwendet.

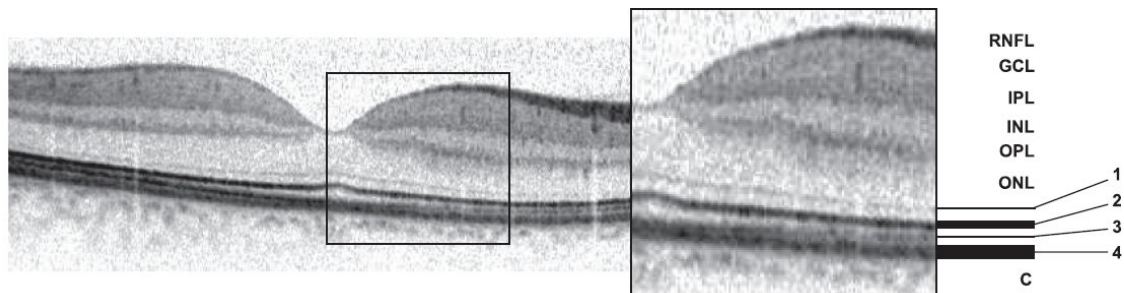


Abb. 11: SD-OCT Scan durch die Fovea einer gesunden Netzhaut. Verschiedene hyperreflektive Banden korrelieren mit den anatomischen Schichten der Retina. Zur Erläuterung der Zahlen 1-4 sowie der Abkürzungen ziehe Text (Quelle: Pircher et al., 2006).

Demnach folgen auf die retinale Nervenfaserschicht (*RNFL*) die Ganglienzellschicht (*GCL*), die innere plexiforme Schicht (*IPL*), die innere Körnerschicht (*INL*), die äußere plexiforme Schicht (*OPL*) und die äußere Körnerschicht (*ONL*). Unter der hyporeflektiven Bande der äußeren Körnerschicht liegt als plausibles morphologisches Korrelat der mit *1* bezeichneten ersten dünnen hyperreflektiven Bande die äußere Grenzschicht. Die darunterliegende etwas dickere hyperreflektive Bande *2* scheint mit dem Übergang der Innen- und Außensegmente der Photorezeptoren (IPRL) zu korrelieren. Dann folgt eine nur manchmal sichtbare hyperreflektive Bande *3*, die wahrscheinlich das Äquivalent der Außensegment/RPE-Verzahnung ist. Von der dicken, hyperreflektiven Bande *4* wird angenommen, dass sie dem RPE/Bruch'schen Membrankomplex entspricht. Als letztes folgt nun die im normalen SD-OCT meist nur mit einer schlechteren Qualität darstellbaren Chorioidea (*C*).

Im Rahmen dieser Arbeit erfolgte nicht nur eine Konzentrierung auf mögliche Veränderungen in den äußeren Netzhautschichten, sondern es wurden auch tiefere Strukturen, wie die Chorioidea genauer untersucht. Hierzu wurden bei einigen Patienten zusätzlich zu „normalen“ SD-OCT-Bildern an der gleichen Stelle des Bildes in der cSLO so genannte „Upside-down“ Bilder aufgenommen. Diese Bilder wurden mit dem von Spaide und Mitarbeitern entwickelten EDI-Verfahren erzeugt, bei dem eine Invertierung des SD-OCT Bildes durch Veränderung des Kornea-Laser Abstandes eine bessere Darstellung von tiefer liegenden Strukturen wie zum Beispiel der Chorioidea ermöglicht.

2.4.4 Vergleich der linearen Ausdehnung mittels 3D-Retinamapping

Zum Vergleich der linearen Ausdehnung im kombinierten SD-OCT und cSLO Modus wurden die vorhandenen Spektralis-Aufnahmen der Patienten mit retikulären Drusen nach Bildern, bei denen in der cSLO gut abgrenzbare Areale mit retikulären Drusen vorhanden waren, durchsucht. Es wurden Bilder mit besonders guter Qualität ausgewählt, da ansonsten das genaue Identifizieren und Abgrenzen retikulärer Drusenareale erschwert ist.

Von 16 Patienten wurde jeweils ein kombiniertes cSLO-SD-OCT Bild als Bitmap-Datei in Adobe Photoshop 7.0 (Adobe Systems Inc., Mountain View, CA) exportiert. Mit Hilfe des Grafikprogramms wurden die Bilder in der Mitte durchgeschnitten und als zwei getrennte Dateien abgespeichert, um sie unabhängig voneinander ausmessen zu können. Zunächst wurde die lineare Ausdehnung der Areale mit retikulären Drusen in den cSLO Bildern mit einem Maus-gesteuerten Messlineal ausgemessen, die Veränderungen in den SD-OCT-Bildern erst eine Woche später (Abbildung 12). Es ist zu betonen, dass nur die Bilder einer Darstellungsform zugleich ausgewertet wurden, nie die sich entsprechenden cSLO und SD-OCT Bilder, um eine unabhängige Ausmessung zu garantieren. Die gemessenen Pixel Werte wurden mit Hilfe des Skalierungsfaktors von Spektralis HRA+OCT in μm umgerechnet. Statistische Analyse von Bland-Altman wurde benutzt, um die Variabilität zwischen den Messungen zu bestimmen.

2.4.5 Prävalenz retikulärer Drusen

Für die Bestimmung der Prävalenz wurden Bilder von Patienten der GAP-Studie, bei denen klinische Zeichen der AMD vorlagen, auf das Vorkommen retikulärer Drusen untersucht. Es wurden Bilder beider Studien-Augen im NIR-, RF- und FAF-Modus von zwei Readern ausgewertet sowie einem dritten Reader arbitriert (1. Reader: Julia Steinberg, 2. Reader: Dr. med. Florian Alten, 3. Reader: Dr. med. Schmitz-Valckenberg). Cohens Kappa Statistik zur Bestimmung der Interrater-Reliabilität wurde angewandt.

Retikuläre Drusen wurden definiert als netzförmige Veränderungen mit kleinen, runden, teils konfluierenden Arealen mit verminderten Intensitäten im NIR- oder FAF-Modus und erhöhten Intensitäten in der RF-Darstellungsform.

In einer Tabelle wurde festgehalten, ob retikuläre Drusen vorliegen (1), ob keine retikulären Drusen vorliegen (2) oder ob die Qualität zu schlecht war, so dass keine Aussage getroffen werden konnte (3).

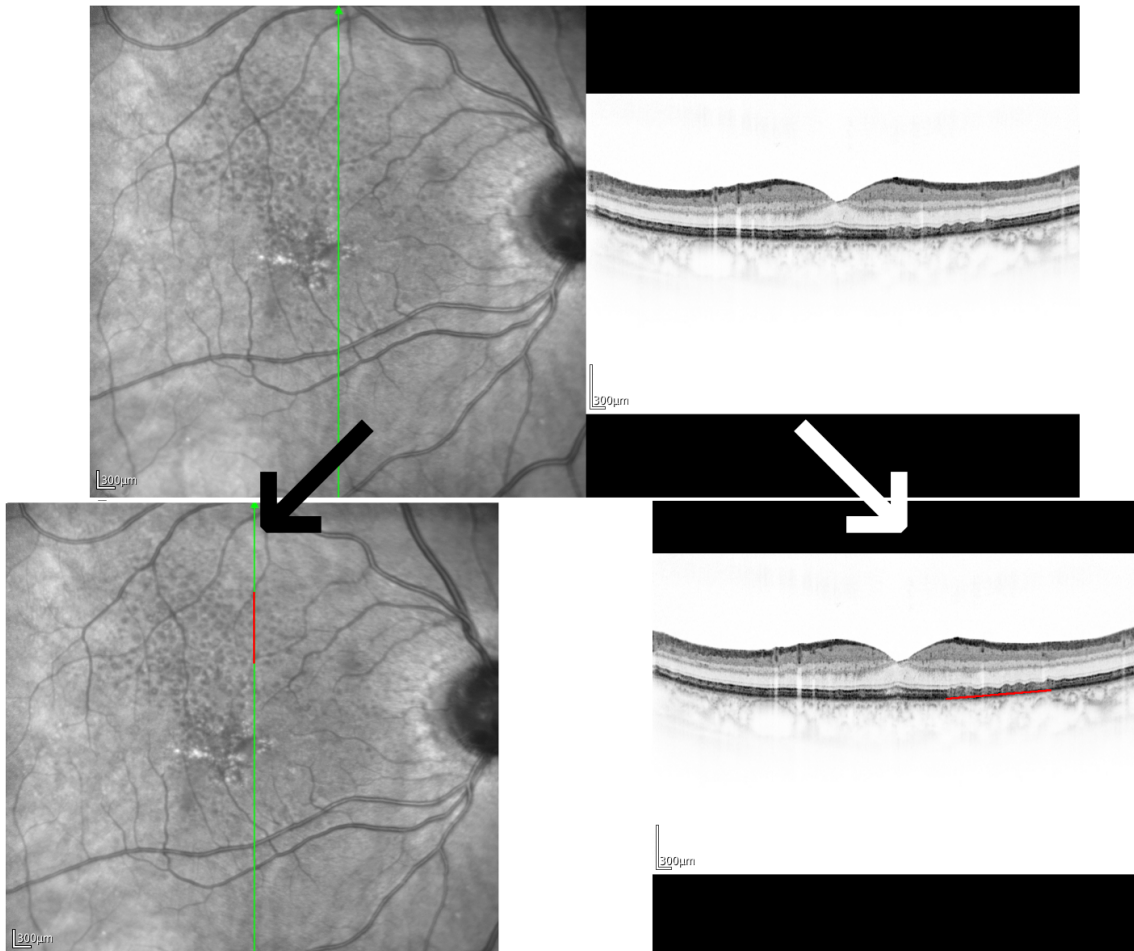


Abb. 12: Vergleich der linearen Ausdehnung durch getrennte Vermessung des cSLO und SD-OCT Bildes. *Obere Reihe:* Unbearbeitetes Originalbild *Untere Reihe:* Das Bild wurde auseinandergeschnitten und das Drusenareal (roter Strich) getrennt vermessen. Der Sehnervenkopf hilft bei der Einschätzung des Maßstabes. Er hat im Durchschnitt einen Durchmesser von 1,5mm. Das cSLO Bild (links) sowie das SD-OCT Bild (rechts) sind zueinander automatisch Pixel für Pixel ausgerichtet. Die grüne Linie gibt den Schnitt des B-Scans an.

Eine Gesamtprävalenz des Auftretens retikulärer Drusen pro Patient und eine Prävalenz pro Patientenaugewurde bestimmt. Auch ließ sich zeigen, bei welcher Anzahl von Patienten retikuläre Drusen bilateral vorlagen.

Schließlich wurde ermittelt, in welchem Darstellungsmodus retikuläre Drusen am besten sichtbar waren, wobei zu beachten ist, dass in der GAP-Studie der Fokus besonders auf den FAF-Bildern liegt und demnach die Qualität der Bilder in dieser Darstellungsform im Vergleich zu den anderen Modalitäten besonders gut ist.

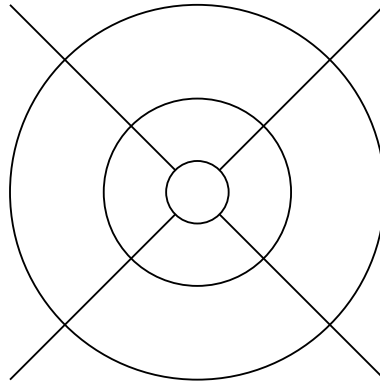


Abb. 13: ETDRS-Schablone beschrieben von Klein et al., 1991

2.4.6 Topographische Verteilung retikulärer Drusen

Für die Bestimmung der topographischen Verteilung retikulärer Drusen im Fundusbild wurde eine Schablone entworfen mit Anlehnung an das Early Treatment Diabetic Retinopathy Study (ETDRS) Grid, ein Raster, das von Klein et al. (1991) in „The Wisconsin age-related Maculopathy Grading-System“ beschrieben wurde. Charakteristika von AMD wurden hierbei in Farbfundusbildern in verschiedenen Feldern eines Gitters festgehalten.

Bei dieser Schablone handelt es sich um ein Raster, welches aus 3 Kreisen besteht. Der innere Kreis hat einen Durchmesser von $1.000 \mu m$, der mittlere $3.000 \mu m$ und der äußerste $6.000 \mu m$. Nach Konvention nimmt man dabei an, dass der Papillendurchmesser $1500 \mu m$ beträgt. Die Kreise werden jeweils im rechten Winkel kreuzförmig (bei 1h30, 4h30, 7h30 und 10h30) von 4 Linien geschnitten, die den mittleren und den äußeren Kreis in jeweils 4 Felder unterteilen. Hierdurch entstehen 9 Unterfelder (Abbildung 13).

Im Rahmen dieser Arbeit wurde diese Schablone mit Hilfe von Adobe Photoshop verändert, um auch peripherer liegende retikuläre Drusen klassifizieren zu können.

Zunächst wurden die, das Raster im rechten Winkel schneidenden Linien verlängert. Eine waagerechte Linie, welche durch Fovea und Papille verläuft, wurde eingefügt. Zudem wurde eine senkrechte Gerade, die durch die Papille verläuft, eingezeichnet. Somit entstanden weitere Felder.

Da die Größe der Schablone für einen Papillendurchmesser von $1500 \mu m$ geeicht ist, sollte sie bei abweichenden Papillendurchmessern verkleinert oder vergrößert werden können. Hierfür wurde in die Schablone ein gelber Kreis mit dem Papillendurchmesser von $1500 \mu m$ eingefügt. Die neu entwickelte Schablone mit Größenangaben ist in Abbildung 14 zu sehen. Vor Beginn der Auswertungen der Felderverteilung wurde die Schablone mit dem gelben Kreis auf die Papille gelegt und die Größe nach Bedarf variiert.

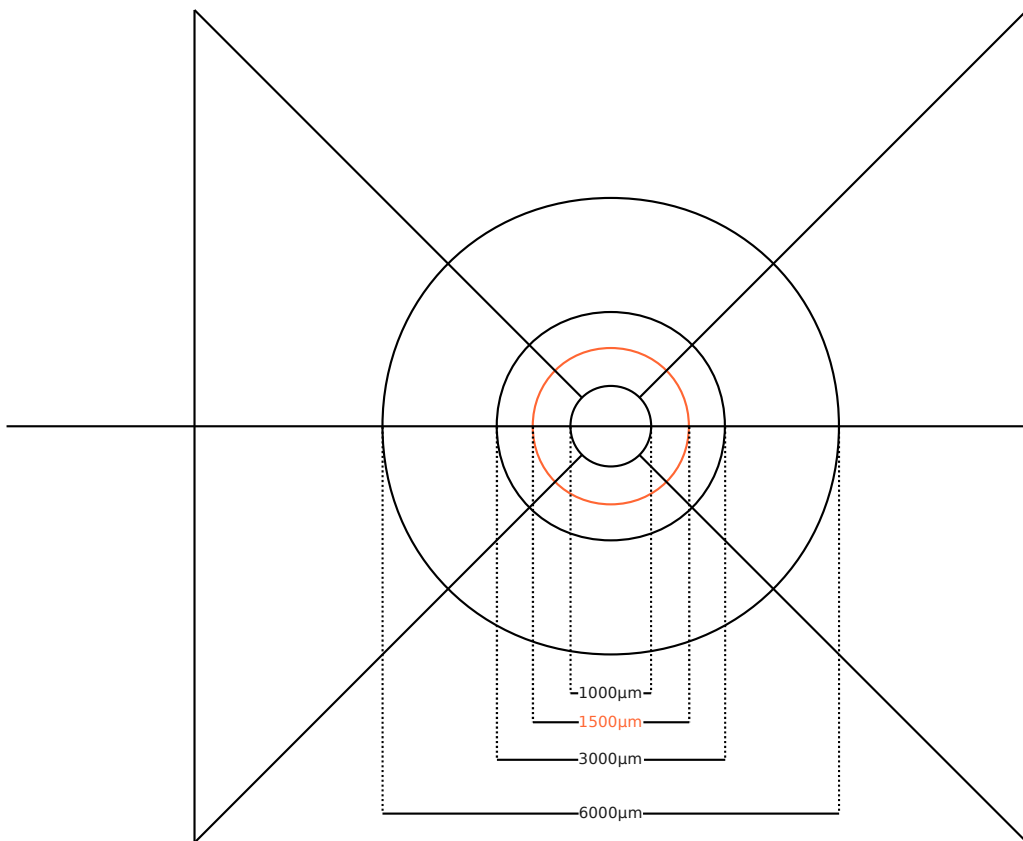


Abb. 14: Modifizierte Schablone eines linken Auges nach (Klein et al., 1991) mit Angaben zu den Durchmessern der einzelnen Kreise. Zur besseren Sichtbarkeit ist der gelbe Kreis, der den Durchmesser der Papille markiert, in dieser Abbildung orange angefärbt.

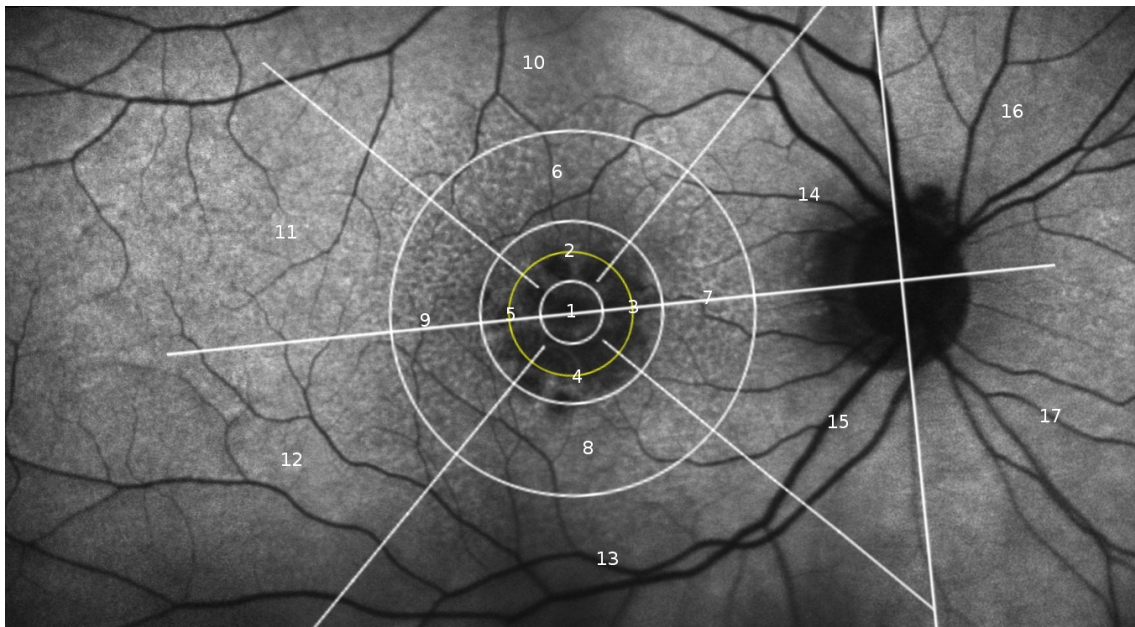


Abb. 15: Die modifizierte Schablone von (Klein et al., 1991) zur Bestimmung der topographischen Verteilung retikulärer Drusen, aufgelegt auf ein Fundusautofluoreszenz-Bild eines rechten Auges. Die Zahlen 1-17 markieren die verschiedenen Felder. Der gelbe Kreis wird stets auf die Größe der Papille angepasst. Relativ dazu verändert sich die Größe der Schablone.

Die Schablone wurde auf die FAF-Bilder mit retikulären Drusen der GAP-Studie gelegt, wobei der innerste Kreis die Fovea markierte. Die FAF-Bilder mit retikulären Drusen wurden bei der Prävalenzbestimmung (siehe Abschnitt 2.4.5 auf Seite 42) identifiziert. Da in der GAP-Studie im FAF-Modus jeweils ein temporales, ein nasales und ein „normales“ Bild mit der Fovea in der Mitte aufgenommen wurde, konnten die 3 Bilder mittels der „Compute Composite“ Funktion des HEE's zu einer Montageaufnahme zusammengefügt werden. Es war demnach möglich, ein größeres Übersichtsbild des Fundus zu analysieren.

Bei jedem Bild entstanden 17 Felder, die auf das Vorhandensein von Drusen (1), keine Drusen, aber GA (mindestens 50 % des Feldes) (2), keine Drusen, keine GA, aber andere Pathologie (mindestens 50 % des Feldes) (3), keine Drusen, keine GA, keine andere Pathologie (4), unzureichende Qualität (5), Ausschnitt nicht vorhanden (6) und Bedecken des Feldes mit Makulapigment (7) untersucht wurden.

Anschließend wurde ausgewertet, in welchen Feldern retikuläre Drusen am häufigsten zu sehen waren. Abbildung 15 zeigt ein Beispiel, bei dem die erweiterte Schablone auf ein zusammengeschnittenes FAF-Bild gelegt wurde. Die Ziffern 1-17 markieren die Felder, bei denen bestimmt wurde, ob retikuläre Drusen vorhanden waren oder nicht.

3 Ergebnisse

3.1 Patienten Bonn

3.1.1 Nahinfrarot-Imaging

Bei Augen mit früher AMD waren häufig kleinere Drusenareale sichtbar, meist superior-temporal gelegen (Abbildung 16, obere Reihe). Im Falle einer fortgeschrittenen AMD nahmen die Drusenareale meist eine größere Fläche des Fundusbildes ein (mittlere Reihe) und bei später AMD war oft das gesamte Fundusbild mit retikulären Drusen bedeckt (untere Reihe).

Zudem wurde der Durchmesser retikulärer Drusen bestimmt, gemessen an jeweils 10 Drusen von 16 Patienten auf NIR-Bildern. Im Durchschnitt wiesen retikuläre Drusen einen Durchmesser von $175 \mu\text{m}$ ($\pm 91 \mu\text{m}$) auf. Die Vermessung einzelner Drusen war manchmal erschwert, da gerade in Arealen mit vielen Läsionen retikuläre Drusen häufig konfluieren und schwerer voneinander zu differenzieren waren. Auffällig war, dass sich kleinere Drusen oft am Rand der Drusenareale befanden.

Häufig sah man bei einzelnen, größeren retikulären Drusen einen Ring mit verminderter Intensität, der einen Halo mit erhöhter Intensität in der Mitte aufwies (siehe Pfeile in Abbildung 17 auf Seite 49). Da diese Strukturen mit besonderen Veränderungen im SD-OCT korrespondierten, wird in Abschnitt 3.1.3 auf Seite 52 nochmals darauf eingegangen.

3.1.2 Andere en-face Bildgebungen

Neben NIR-Aufnahmen wurden auch auch FAF-Bilder, Farbfundusaufnahmen, RF-Bilder sowie Angiographien auf das Auftreten und Aussehen retikulärer Drusen hin untersucht.

Fundusautofluoreszenz-Modus

Auf FAF-Bildern wurden bei 93 % retikuläre Drusen als netzförmige Muster mit kleinen, teils konfluierenden Arealen verminderter Intensität umrandet von Arealen normaler bis leicht erhöhter Intensität gesehen. Meist zeigten sich retikuläre Drusen als kleine rundliche Punkte (Abbildung 18 auf Seite 49, linkes Bild), manchmal waren sie größer, eher konfluierend und verliefen geschlängelt

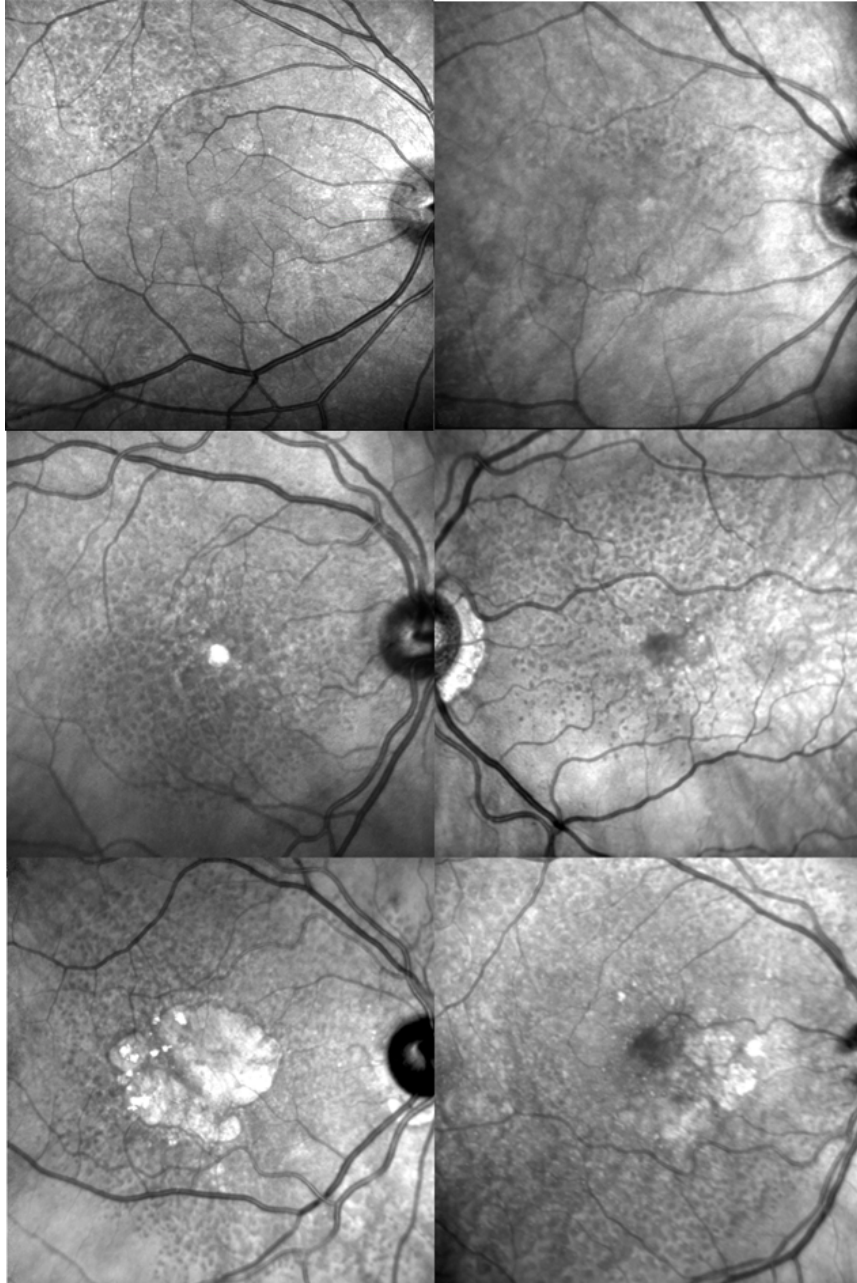


Abb. 16: Retikuläre Drusen im NIR-Modus: *Obere Reihe:* Patienten mit früher AMD wiesen meist kleine, superior-temporal gelegene Drusenareale auf. *Mittlere Reihe:* Bei fortgeschrittener AMD war eine größere Fläche von retikulären Drusen betroffen. *Untere Reihe:* Häufig ist das gesamte Fundusbild bei Patienten mit später AMD mit retikulären Drusen bedeckt.

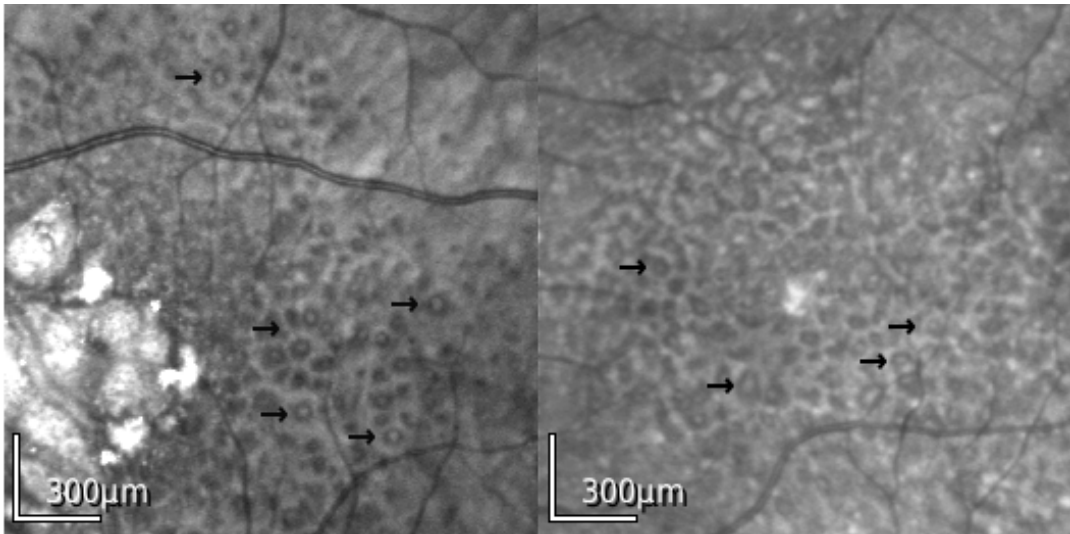


Abb. 17: Bei einigen NIR-Bildern zeigten sich retikuläre Drusen als ringartige Strukturen verminderter Intensität mit einem Halo erhöhter Intensität in der Mitte (hier bei zwei Patienten mit einem Pfeil markiert).

(rechtes Bild). Auch in der FAF fiel auf, dass retikuläre Drusen bei früher AMD meist einen kleinen Bereich im superioren Fundusbild aufwiesen und bei fortgeschrittener und später AMD größere Areale ausmachten. Zur Beurteilung der Aufnahmen musste die Bildqualität ausreichend hoch sein.



Abb. 18: FAF-Bilder mit retikulären Drusen. *Links:* typisches netzartiges Muster mit rundlichen Arealen verminderter Intensität umrandet von Arealen normaler bis leicht erhöhter Intensität. *Rechts:* Netzartiges, fast konfluierendes Muster größerer, langgestreckter retikulärer Drusen.

Farbfundusaufnahmen

Auf Farbfundusaufnahmen waren nur selten Netzwerke mit gelblich, gräulich, rundlich bis ovalen Unregelmäßigkeiten zu sehen. Oft waren keine Veränderungen an Stelle retikulärer Drusen in NIR- oder FAF-Bildern zu erkennen oder die Qualität der Bilder war nicht ausreichend. In Abbildung 19 wird an zwei Beispielen gezeigt, wie schwierig die Detektion retikulärer Drusen in Farbbildern ist. Bei dem oberen Patienten können mit Hilfe des korrespondierenden FAF-Bildes retikuläre Drusen als gelbliche Veränderungen identifiziert werden. Bei dem unteren Patienten ist dies erheblich schwieriger.

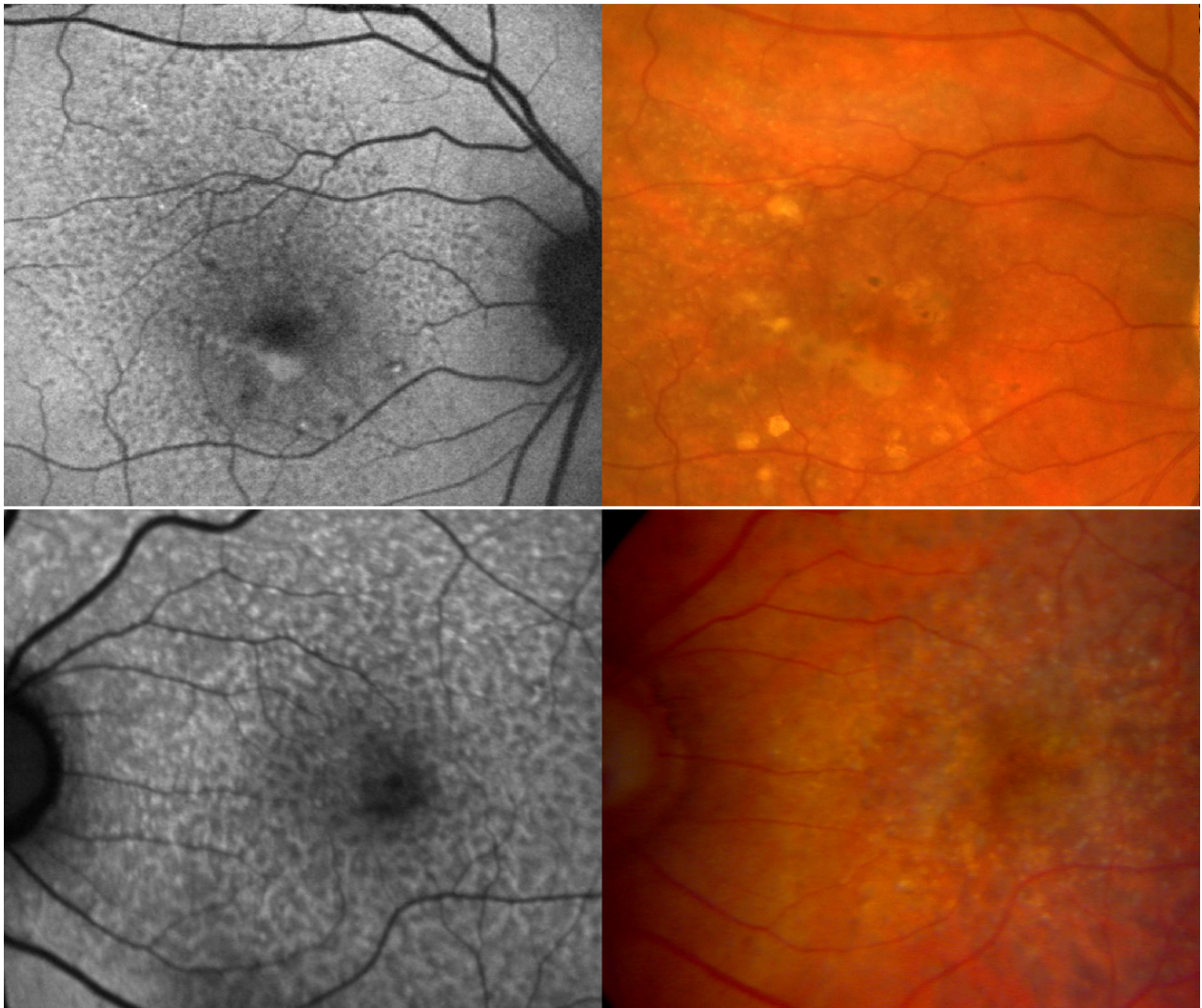


Abb. 19: Aufnahmen von 2 Patienten jeweils im FAF-Modus (*links*) sowie als Farbbild (*rechts*). Im FAF-Modus sind retikuläre Drusen deutlich zu erkennen, während die Detektion im korrespondierenden FAF-Bild erschwert ist. Im Farbbild rechts oben lassen sich noch retikuläre Drusen erahnen, während im Farbbild rechts unten die Erkennung nicht eindeutig ist.

Rot-frei-Modus

Auf RF-Aufnahmen waren retikuläre Drusen gelegentlich als Läsionen mit erhöhtem oder vermindertem Signal, hier manchmal mit einem Halo erhöhter Intensität in der Mitte, sichtbar. Diese Veränderungen waren allerdings vor allem dann zu erkennen, wenn man NIR- oder FAF-Bilder mit RF-Aufnahmen übereinandergelagert hatte und die Unregelmäßigkeiten genau vergleichen konnte. In Abbildung 20 ist bei 2 Patienten jeweils auf der linken Seite ein FAF-Bild mit deutlich sichtbaren retikulären Drusen zu sehen. Rechts gegenübergestellt sieht man retikuläre Drusen in den korrespondierenden RF-Aufnahmen. Im oberen Bild ist das geschlängelte Muster genau zu sehen, während die Veränderungen im unteren Bild nicht so deutlich auszumachen sind.

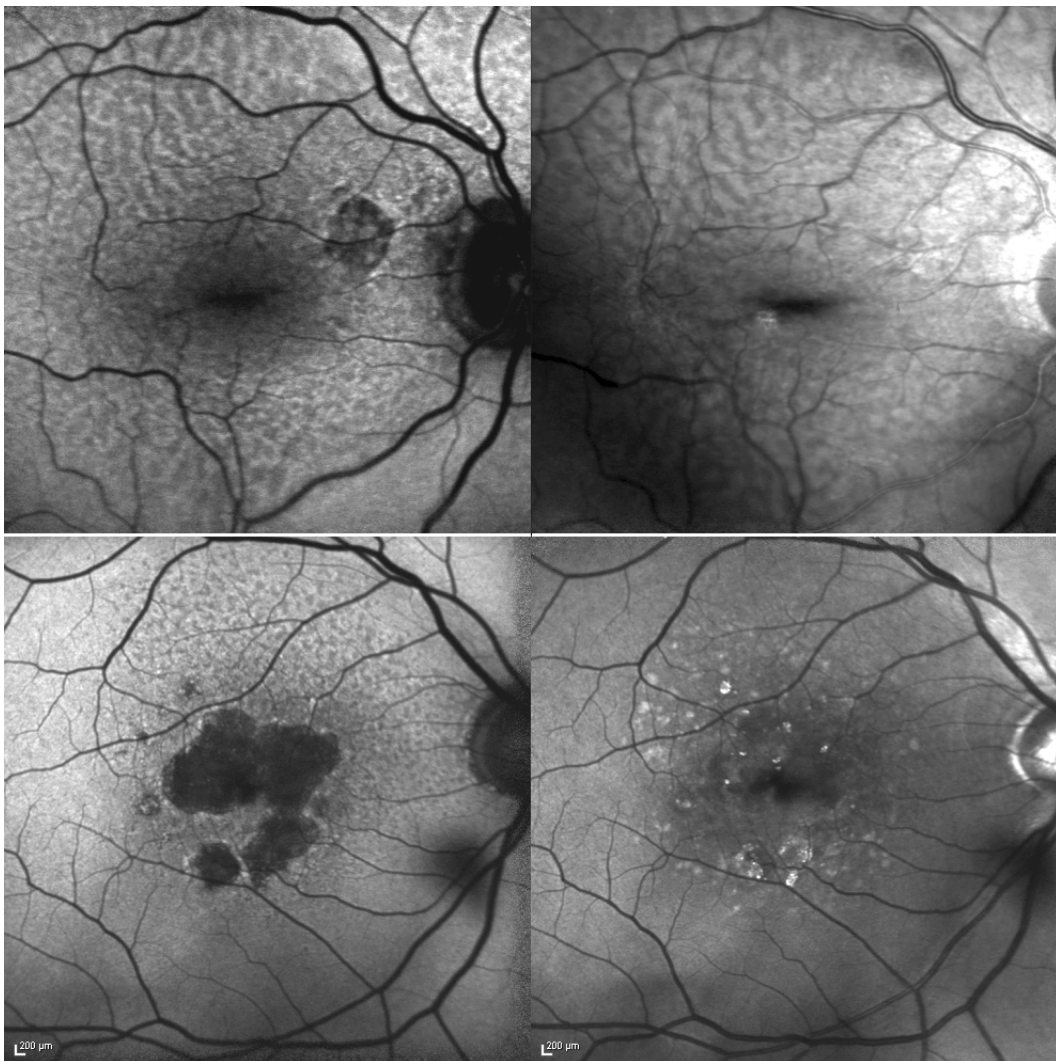


Abb. 20: Aufnahmen von zwei Patienten im FAF-Modus (*links*), zusammen mit einem Bild im RF-Modus (*rechts*). Die geschlängelt aussehenden retikulären Drusen sind im Bild oben rechts gut zu erkennen, während im Bild unten rechts die Identifikation wie bei den meisten RF-Aufnahmen nur zu erahnen ist. Hier ist das Vorliegen eines Bildes in einer weiteren Aufnahmemodalität sehr hilfreich.

Angiographie

In der FAG und der ICGA stellten sich retikuläre Drusen gelegentlich als netzförmige Muster mit kleinen Arealen verminderter Intensität besonders in der späten Phase dar. In Abbildung 21 wird bei 2 Patienten das Erscheinungsbild retikulärer Drusen in der FAF (links), in der späten Phase der FAG (mitte) und der ICGA gezeigt (rechts). Das netzartige Muster retikulärer Drusen ist bei diesen Beispielen auf allen Bildern deutlich zu sehen. Jedoch ist zu betonen, dass retikuläre Drusen in den vorliegenden Angiographie Aufnahmen nur selten so gut zu erkennen waren. Besonders schwierig erscheint die Detektion retikulärer Drusen, wenn gleichzeitig harte Drusen oder andere Pathologien vorliegen.

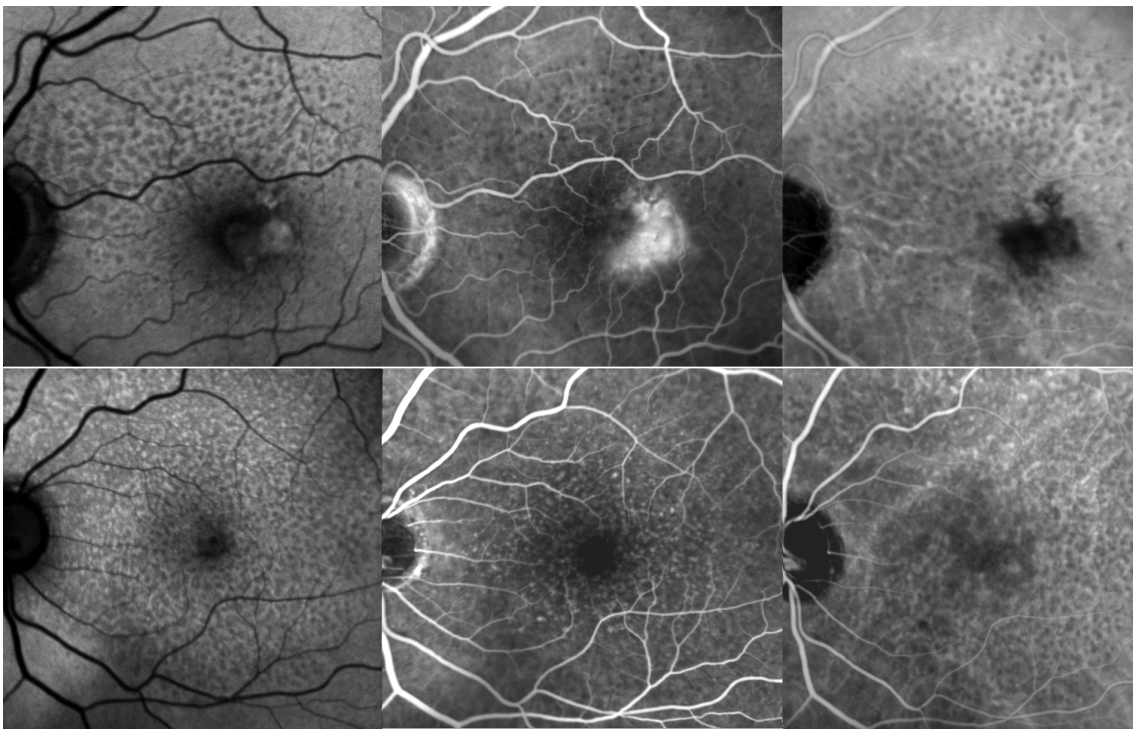


Abb. 21: Zwei Patienten mit deutlich sichtbaren retikulären Drusen im FAF-Bild (*links*) in der späten Phase der FAG (*Mitte*) und in der späten Phase der ICG-Angiographie (*rechts*). In allen Modalitäten fallen sie als ein netzförmiges Muster mit Arealen verminderter Intensität auf.

3.1.3 SD-OCT Imaging

In der SD-OCT-Bildgebung wurden an Stelle des netzartigen charakteristischen Musters retikulärer Drusen im NIR-Bild meist Veränderungen in den äußeren Netzhautschichten, die den Banden 2 und 3 nach Pircher et al. entsprechen, vorgefunden (Pircher et al., 2006). Es handelt sich hier anatomisch gesehen um Veränderungen von dem RPE/Bruch'sche Membran Komplex bis zum IPL.

Meist war ein wellenförmiges Muster des IPRL (Bande 2) mit Ansammlung von hochreflektivem Material zwischen dem IPRL und dem RPE sichtbar. Der RPE/Bruch'sche Membran Komplex schien, im Gegensatz zu Erhebungen oder Ablagerungen von Material bei „normalen“ harten oder weichen Drusen, unverändert zu sein. Abbildung 22 zeigt deutlich das wellenförmige Muster retikulärer Drusen im SD-OCT Bild.

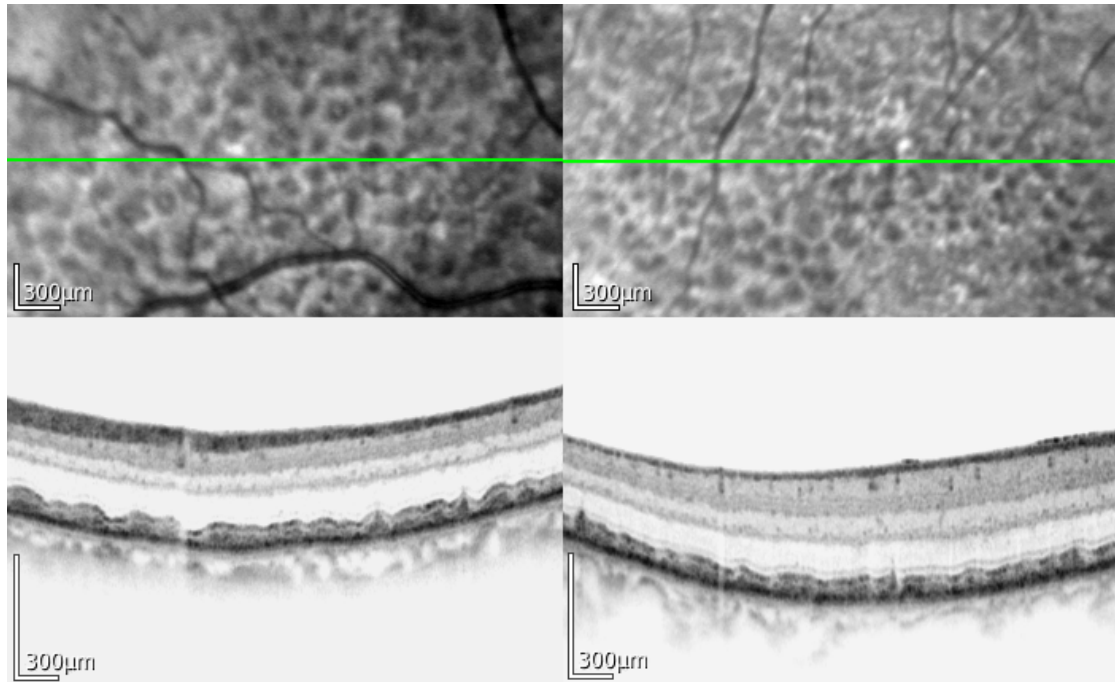


Abb. 22: Kombiniertes cSLO und SD-OCT Scan bei zwei Patienten mit retikulären Drusen. In der *oberen Reihe* sieht man jeweils im NIR-Bild der cSLO das charakteristische netzartige Muster retikulärer Drusen. Die grüne Linie zeigt die Stelle, durch die das SD-OCT Bild verläuft. In der *unteren Reihe* fällt im SD-OCT Bild ein wellenartiges Muster mit einer Ansammlung von hochreflektivem Material zwischen dem IPRL und dem RPE auf.

Die externe limitierende Membran (Bande 1) war meist unverändert, jedoch zeigten sich manchmal individuelle „spikes“ im OCT, die die externe limitierende Membran durchbrachen. Hochreflektive Materialansammlungen unterhalb der IPRL waren hier sichtbar und es zeigte sich manchmal ein Schatten in Richtung der Chorioidea. Der Abstand zwischen dem IPRL und dem RPE war vergrößert. Im korrespondierenden cSLO Bild zeigten sich an dieser Stelle vergrößerte retikuläre Drusen, die durch ringartige Veränderungen mit verminderten Signalen und einem Halo mit erhöhtem Signal in der Mitte, charakterisiert waren. Abbildung 23 zeigt zwei Beispiele, bei denen die ringartigen Strukturen mit Halo in der cSLO zusammen mit den, hier durch Pfeile markierten, Spikes im SD-OCT Bild sichtbar werden.

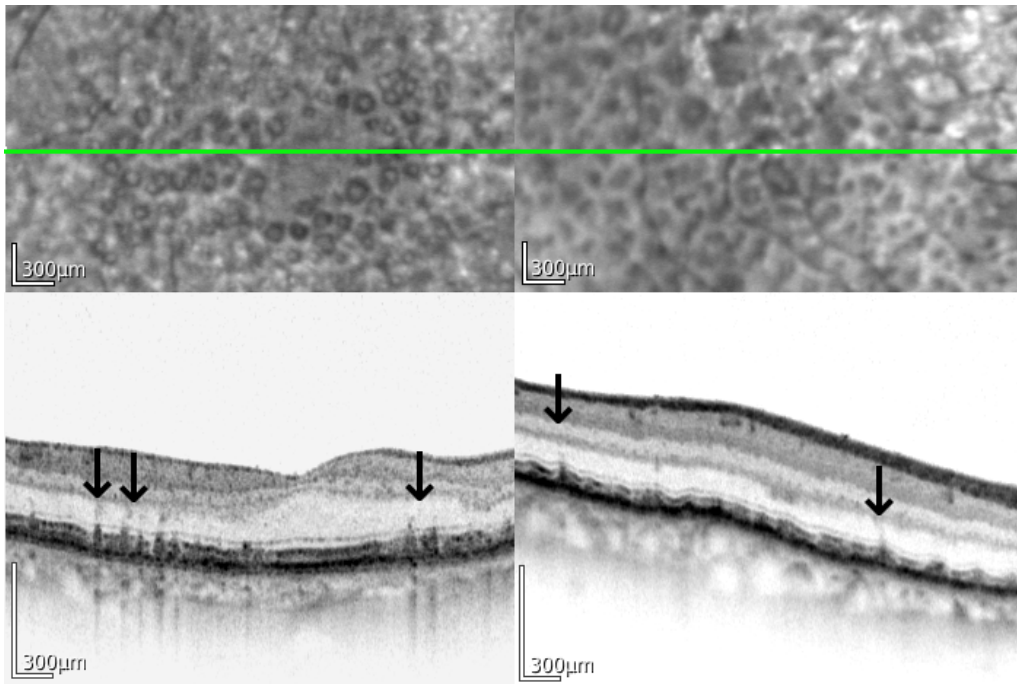


Abb. 23: Zwei kombinierte SD-OCT und cSLO Aufnahmen zeigen die ringartigen Läsionen verminderter Intensität mit einem Halo erhöhter Intensität in der Mitte in der cSLO Bilder und die dazu im SD-OCT korrespondierenden, hier mit Pfeilen markierten „spikes“, welche die externe limitierende Membran durchbrechenden Strukturen darstellen.

In Bereichen ohne retikuläre Drusen im cSLO Bild fanden sich im SD-OCT Bild keine veränderten Signale und es zeigte sich ein normaler Abstand zwischen dem IPRL und dem RPE.

Andere bei AMD vorkommende Veränderungen, wie GA oder andere Drusen, wurden im SD-OCT ebenfalls dargestellt und waren klar zu unterscheiden von retikulären Drusen. Die unterschiedliche Ausprägung der Charakteristika von AMD im SD-OCT Bild wird in Abbildung 24 demonstriert.

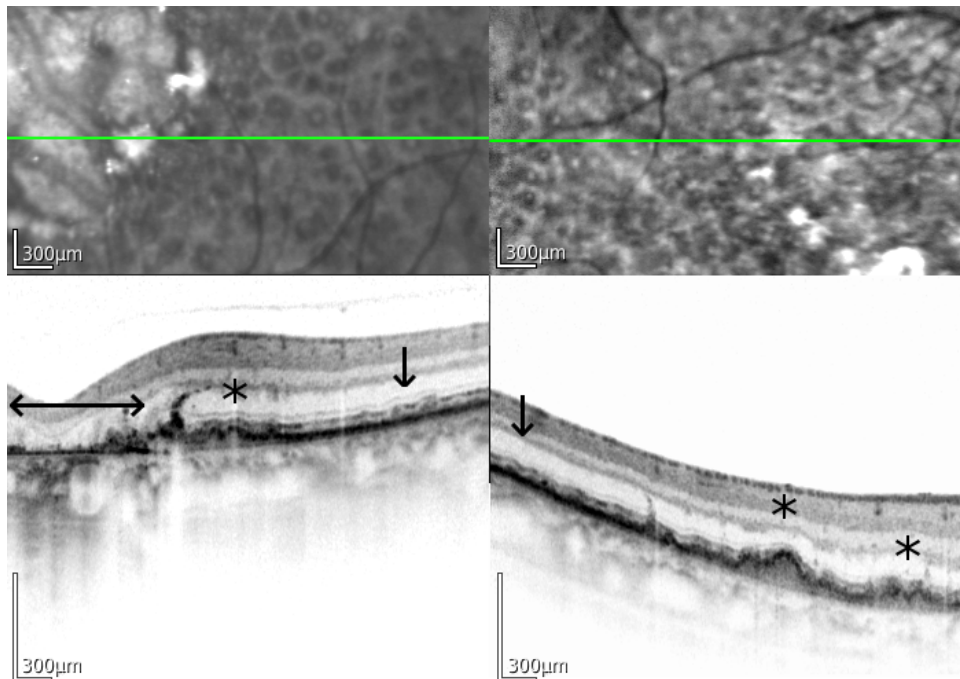


Abb. 24: Eine klare Abgrenzung des wellenartigen Musters retikulärer Drusen (*senkrechter Pfeil*) zu anderen klinischen Manifestationen der AMD wie GA (*waagerechter Doppelpfeil*) oder weiche Drusen (*Sternchen*) ist gut möglich.

3.1.4 Lineare Ausdehnung mittels kombiniertem cSLO+SD-OCT Imaging

Zum Vergleich der linearen Ausdehnung wurde bei 16 Patienten eine Strecke scharf begrenzter Drusenareale durch getrennte Vermessung von SD-OCT und cSLO Bild bestimmt. Die durchschnittliche Ausdehnung in der cSLO lag bei $5990 \mu\text{m}$ mit einem durchschnittlichen Messunterschied zum SD-OCT von $3,8 \mu\text{m}$, wobei der kleinste Messunterschied $-1615 \mu\text{m}$ und der größte Messunterschied $+3032 \mu\text{m}$ betrug.

In einem Bland-Altman Diagramm (Abbildung 25) wurde die Differenz der gemessenen Werte der beiden Messmethoden gegen den Mittelwert der cSLO und SD-OCT Werte aufgetragen. Es wird deutlich, dass bei einigen Patienten die Differenz zwischen den gemessenen cSLO und SD-OCT Arealen nur sehr gering war, während bei anderen Patienten die Übereinstimmung nicht sehr groß war.

3.1.5 „Upside-down SD-OCT Imaging“

Mit Hilfe des von Spaide et al. (2008) entwickelten EDI-Verfahrens ist es möglich, auch tiefer liegende Strukturen wie zum Beispiel die Chorioidea genauer zu analysieren. Durch die Umkehrung des Bildes wird eine verbesserte Auflösung und Signalstärke in der Chorioidea erreicht.

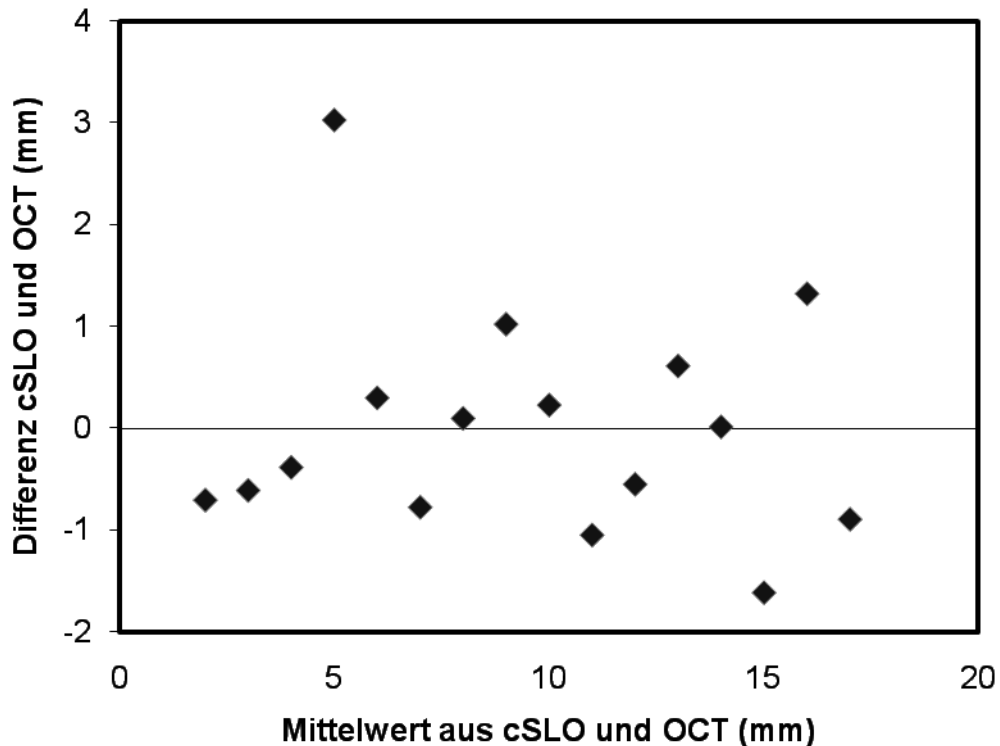


Abb. 25: Zum Vergleich der linearen Ausdehnung in der cSLO und SD-OCT wurde im Bland-Altman Plot der Mittelwert der gemessenen cSLO und OCT Werte in Abhängigkeit zur Differenz zwischen den gemessenen cSLO und SD-OCT Werten aufgetragen. Es zeigt sich bei einigen Bildern eine gute Übereinstimmung der Werte, es gibt allerdings auch einzelne Ausreißer.

Es wurde bei einigen Patienten gezeigt, dass man sowohl in der Chorioidea als auch unterhalb des RPE's an Stelle retikulärer Drusen im cSLO Bild keine Veränderungen sieht. Die Chorioidea im invertierten SD-OCT Bild sieht bei retikulären Drusen im cSLO Scan genauso aus wie in nicht betroffenen cSLO Arealen. Bei guter Qualität der Aufnahmen kann man sogar im „Upsite-Down“ Bild trotz nachlassender Auflösung und Signalstärke in den äußeren Netzhautschichten das charakteristische wellenförmige Muster retikulärer Drusen wahrnehmen. Neben einem „normalen“ SD-OCT Schnitt sieht man in Abbildung 26 auch einen reinvertierten SD-OCT Scan durch ein cSLO Bild, das retikuläre Drusen aufweist.

3.2 GAP-Studienpatienten

3.2.1 Prävalenz retikulärer Drusen

Von 608 Patienten der GAP-Studie hatten 561 (92 %) klinische Zeichen der AMD im FAF-, NIR- oder RF-Modus. Retikuläre Drusen waren auf mindestens einem Auge in mindestens einer der drei Modalitäten bei 60 % (336 Patienten) sichtbar. Die Interrater-Reliabilität der Kappa Statistik

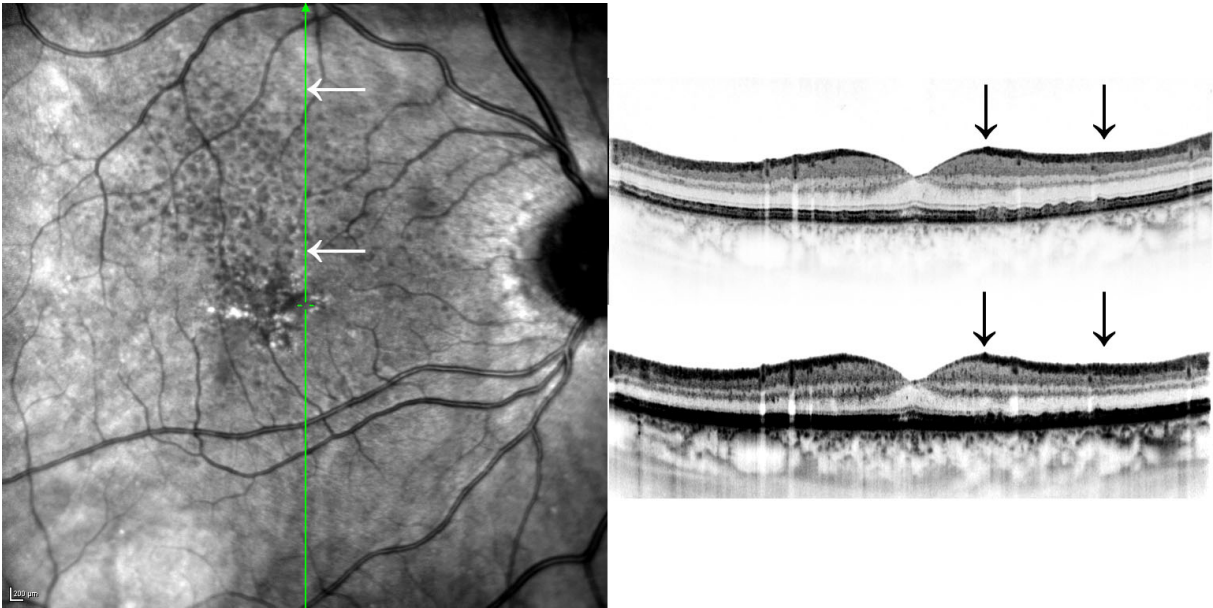


Abb. 26: Das *linke* Bild: zeigt ein cSLO Bild mit einem Areal retikulärer Drusen zwischen den beiden Pfeilen. Die grüne Linie markiert den Schnitt der SD-OCT. *Rechts oben* sieht man deutlich zwischen den Pfeilen das charakteristische wellenförmige Muster des „normales“ SD-OCT Bildes im Bereich retikulärer Drusen. *Rechts unten* wird das reinvertierte „Upside-down“ Bild abgebildet. Man sieht bei guter Bildqualität mit hoher Auflösung zwischen den Pfeilen keine Veränderungen in der Chorioidea oder unter dem RPE, sondern sogar eine Andeutung eines wellenförmigen Musters in den äußeren Netzhautschichten.

liegt auf dem rechten Auge bei $k=0,84$ und auf dem linken Auge bei $k=0,76$. Bei den restlichen 40 % waren bei 24 % auf beiden Augen keine retikulären Drusen sichtbar, während bei 16 % auf mindestens einem Auge die Qualität nicht ausreichend war, um eine Aussage treffen zu können. Bei 70 % (234 Patienten) lagen retikuläre Drusen bilateral vor. Abbildung 27 verdeutlicht dieser Ergebnisse.

Insgesamt wiesen 274 der rechten und 296 der linken Augen retikuläre Drusen auf. Sowohl beim rechten als auch bei linken Auge waren retikuläre Drusen am Besten im NIR-Modus zu sehen (88 % rechtes Auge ($k=0,91$) und 84 % linkes Auge ($k=0,77$)). Auch im FAF-Modus konnten retikuläre Drusen sehr gut detektiert werden (82 % rechtes Auge ($k=0,81$) und 83 % linkes Auge ($k=0,76$)). Im RF-Modus zeigten sich bei nur bei 23 % des rechten und bei 20 % der linken Augen retikuläre Drusen. Der Kappa-Wert war hier deutlich schlechter (rechts $k=0,46$, links $k=0,45$). Im RF-Modus wurde bei 63 % der rechten und 69 % der linken Augen die Qualität der Aufnahmen als nicht ausreichend bewertet. Abbildung 28 zeigt anschaulich die Prävalenzzahlen für retikuläre Drusen im rechten und linken Auge in den verschiedenen Darstellungsmodalitäten.

Interessanterweise waren bei beiden Augen retikuläre Drusen in 68 bzw. 70 % im NIR- *UND* im FAF-Modus sichtbar. In nur 18 bzw. 16 % waren retikuläre Drusen *NUR* im NIR-Modus zu erkennen und in 12 bzw. 16 % *NUR* im FAF-Modus. Nur bei einem linken Auge sind retikuläre Drusen *NUR* im RF-Modus zu erkennen (Abbildung 28).

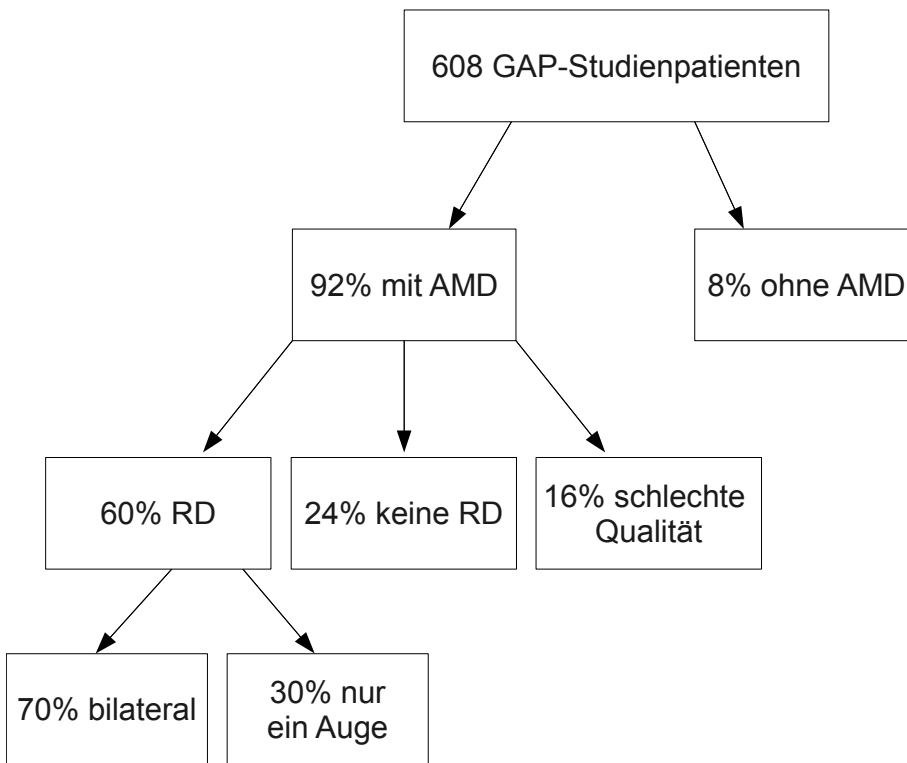


Abb. 27: Prävalenz retikulärer Drusen bei Patienten der GAP-Studie. RD= retikuläre Drusen

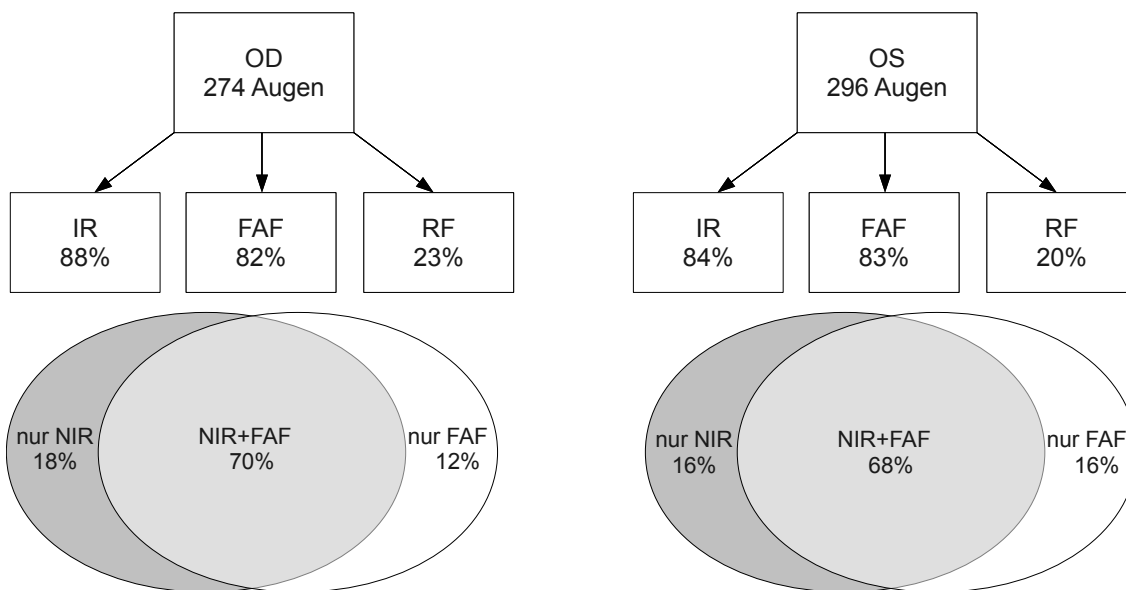


Abb. 28: Prävalenz retikulärer Drusen in verschiedenen Modalitäten der GAP-Studie. RD= retikuläre Drusen

3.2.2 Topographie retikulärer Drusen im Fundusbild

Zur Bestimmung der Verteilung retikulärer Drusen im Fundusbild wurden 226 FAF-Bilder des rechten und 247 FAF-Bilder des linken Auges ausgewertet. Schwierigkeiten bestanden zum einen darin, die Größe der Papille festzustellen und damit die Schablone richtig anzupassen, da häufig eine papilläre Atrophie vorlag und zum anderen die Fovea zu bestimmen, da bei 50 % der Augen GA in und um die Fovea herum vorlag.

Retikuläre Drusen waren am Häufigsten im äußeren superioren Feld 10 zu sehen, in 98 % der rechten und 95 % der linken Augen. Desweiteren sind auch die anderen superioren Areale 11, 14 und 16 oft betroffen. In inferioren Arealen manifestieren sich retikuläre Drusen weniger ausgeprägt und meist nur bei Befall des gesamten Fundus. Retikuläre Drusen finden sich ansonsten meist mehr oder weniger ausgedehnt um die GA-Zonen herum. In den inneren Feldern 1-5 sind retikuläre Drusen sehr selten (<1 %) zu finden, da diese Felder oft mit GA oder anderen klinischen Manifestationen von AMD bedeckt sind. Auch die Felder 6-9 sind oft von GA bedeckt. Im superioren Feld 6 finden sich retikuläre Drusen noch am Meisten mit 25 % im rechten und 30 % im linken Auge. Der Vergleich von temporalen zu nasalen Feldern zeigt ein leichtes Überwiegen retikulärer Drusen in den temporalen Feldern. Die Zahlen für das linke und rechte Auge sind ähnlich.

Abbildung 29 zeigt die Verteilung retikulärer Drusen in den verschiedenen Feldern des rechten und linken Auges.

Zudem fiel auf, dass retikuläre Drusen unterschiedliche netzartige Muster verminderter Intensitäten hervorrufen können. Meistens sind die Drusen rundlich bis oval und gut voneinander abgrenzbar (Abbildung 30 auf Seite 61, links oben). Manchmal waren die Drusen nicht mehr rundlich, sondern unterschiedlich geformt und lagen näher beieinander. Sie wirkten fast wie zueinander passende Förmchen, die durch einen kleinen Spalt getrennt sind (Abbildung 30 auf Seite 61, untere Reihe). Selten waren retikuläre Drusen als relativ weit auseinanderliegende Punkte mit verminderten Intensitäten sichtbar (Abbildung 30 auf Seite 61, rechts oben).

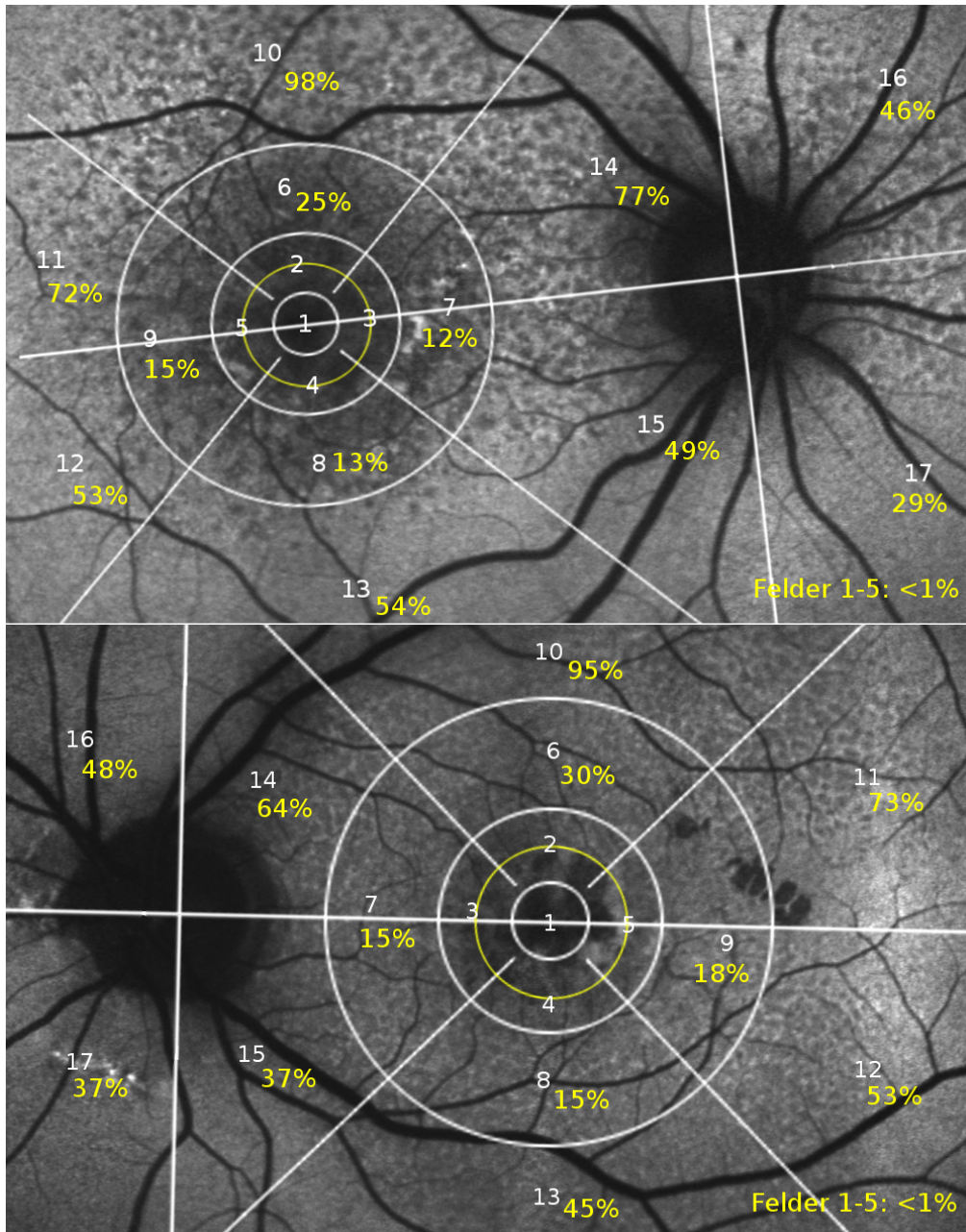


Abb. 29: Abbildung 3.14 zeigt die Verteilung retikulärer Drusen in den verschiedenen Feldern der Schablone. Sowohl bei den rechten Augen (*oberes Beispiel*) als auch bei den linken Augen (*unteres Beispiel*) wird deutlich, dass vor allem superior gelegene Areale betroffen sind. Eine leichtes Übergewicht ergibt sich auch bei den temporal gelegenen Feldern im Vergleich zu den nasalen Arealen. In den Gebieten um die Fovea herum sind selten retikuläre Drusen zu finden, bedingt durch meist vorliegende GA oder Makulapigment. In der Grafik sind die Felder 1-17 in weiß beschriftet, während die jeweils entsprechenden Prozentangaben in gelb angezeigt werden.

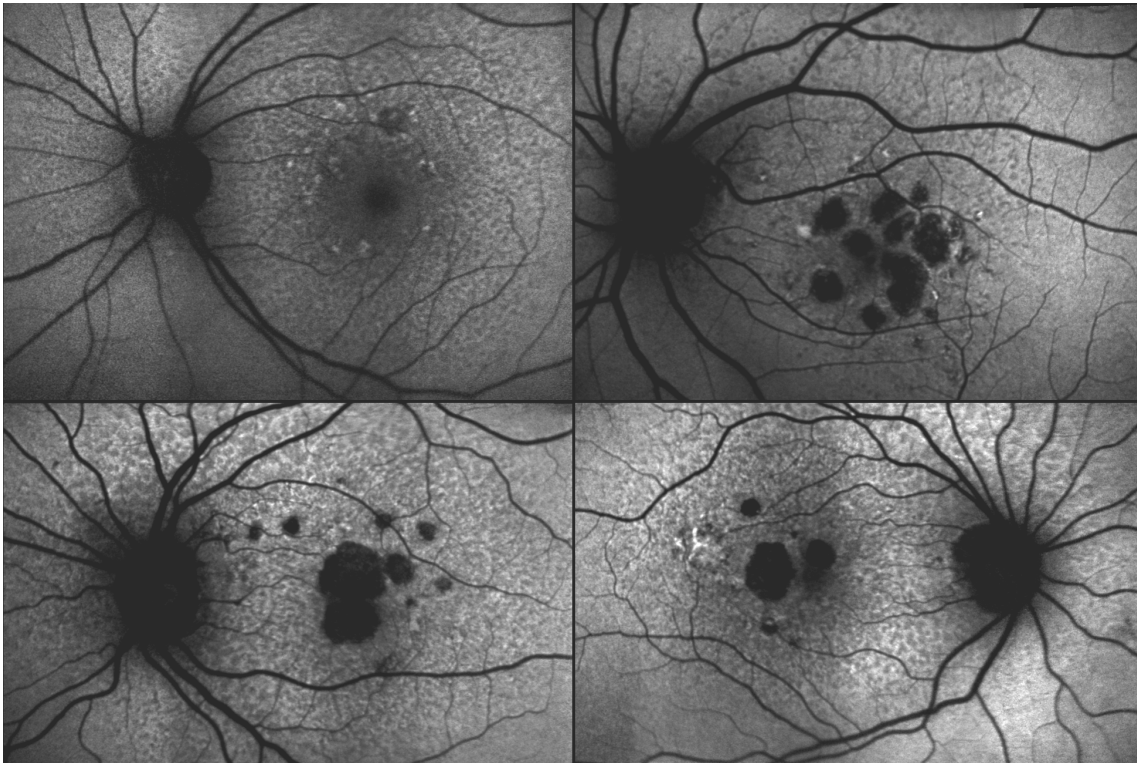


Abb. 30: Verschiedene Ausprägungen retikulärer Drusen im Autofluoreszenzmodus. *Links oben:* „Normales“ retikuläres Muster. *Rechts oben:* Zwischen einzelnen retikulären Drusen ist der Zwischenraum größer als gewöhnlich. *Untere Reihe:* Ein Patient weist sowohl auf dem rechten als auch auf dem linken Auge unregelmäßig geformte, zur Konfluenz neigende retikuläre Drusen auf.

4 Diskussion

4.1 Hochauflösende retinale bildgebende Verfahren

Mittels dreidimensionaler, hochauflösender, kombinierter cSLO / SD-OCT des Spektralis HRA+OCT wird erstmals ein häufig auftretendes, netzartiges Muster bei Patienten mit AMD in einer bisher nicht erreichten Qualität und Auflösung erfasst und analysiert: die retikulären Drusen.

Bei der Untersuchung retikulärer Drusen mittels cSLO und OD-OCT werden simultan zur Bildgebung mit dem HRA2 hochaufgelöste Schnittbilder retinaler Schichten mit der SD-OCT erstellt. Dies gelingt unter Verwendung von zwei unabhängigen Scansystemen. Dadurch wird eine dreidimensionale in-vivo Bildgebung möglich.

Der HRA kann Licht verschiedener Wellenlängen (488 nm ohne Filter für RF-Bilder, 488 nm mit einem Filter zwischen 500 und 700 nm für FAF-Bilder und für FAG, 830 nm für NIR-Bilder und 790 nm mit einem Sperrfilter bei 830 nm für die Anregung von Indozyaningrün) erzeugen und aufgrund der konfokalen Optik Streulichteffekte minimieren, das Signal-Rausch-Verhältnis gegenüber nicht-konfokalen Systemen optimieren und einen hohen Bildkontrast erreichen (Bindewald-Wittich et al., 2005; Schmitz-Valckenberg et al., 2007b). Durch die Weiterentwicklung der cSLO ist es mittlerweile möglich, eine Auflösung von $5 \mu\text{m}$ pro Pixel zu erreichen (Dithmar und Holz, 2008). Im FAF-Modus der cSLO konnten erstmals metabolische Veränderungen des Pigmentepithels in-vivo dargestellt werden, die weder durch die Funduskopie noch durch andere bisherige Untersuchungsmethoden erfasst werden konnten. Dies ist wichtig für die Untersuchungen von GA bei AMD, die aufgrund fehlendem RPE eine erheblich verminderte Autofluoreszenz aufweist. Auch andere alters- und krankheitsbedingte Veränderungen auf Ebene des RPE wie die idiopathische Chorioretinopathie und monogenetische Erkrankungen wie der M. Best und der M. Stargardt können somit erfasst werden (Dithmar und Holz, 2008).

Außerdem können retikuläre Drusen bei AMD in den verschiedenen Darstellungsformen der cSLO gut dargestellt werden, wie die vorliegenden Untersuchungen gezeigt haben. Kürzlich analysierten auch Smith et al. (2009) von der Columbia University in New York Merkmale retikulärer Drusen mit Hilfe der hochauflösenden cSLO.

Dank der Weiterentwicklung der optischen Kohärenztomographie seit 1991 wurde eine wesentliche verbesserte in-vivo Bildgebung retinaler Krankheiten wie diabetischer Makulopathie, Glaukom und AMD möglich. Durch zweidimensionale Schnittbilder mit immer höherer räumlicher Auflösung ist

eine verbesserte Beurteilung der Netzhaut und des vorderen Augenabschnittes realisierbar. Auch Dickenmessungen der Netzhaut sind möglich. Vom Prinzip her mit einer Ultraschalluntersuchung vergleichbar, wird beim OCT Nahinfrarotes Licht (870 nm) ins Gewebe eingestrahlt, dort reflektiert und wieder detektiert. Die Laufzeitunterschiede des reflektierten Lichts werden als Interferenz von einem Photodetektor erkannt und gemessen (A-Scan). Die transversale Aneinanderreihung mehrerer A-Scans entlang der Horizontalen oder Vertikalen ergibt einen B-Scan (Lang, 2008).

Mit der Entwicklung der Time-Domain OCT zur Spektral-Domain OCT haben sich Geschwindigkeit, Signal-Rausch-Verhältnis und Sensitivität verbessert. Bei der früher verwendeten Time-Domain OCT erfolgte die Abtastung des Signals in Bezug zu einem mechanischen Referenzarm. Dies beanspruchte mehr Zeit und führte zu mehr Artefakten. Bei den neueren Geräten mit Spektral-Domain OCT werden die vom Gewebe zurückgestreuten Spektralkomponenten mit Hilfe einer Fourier-Transformation sofort aufgelöst. Dadurch erhöht sich die Scangeschwindigkeit. Es können mittlerweile etwa 40.000 A-Scans pro Sekunde gemacht werden bei einer Tiefe von 1,8 mm und einer Tiefenauflösung von bis zu 5 μm pro Pixel (Fleckenstein et al., 2008; Helb et al., 2009).

Mikrostrukturelle Veränderungen der Netzhaut, wie die bisher wenig erforschten retikulären Drusen, sind mit der neueren Technik besser beurteilbar. Retikuläre Drusen wurden bisher in der Literatur im Zusammenhang mit optischer Kohärenztomographie erwähnt (Fleckenstein et al., 2008). Zudem wurden Erkenntnisse über retikuläre Drusen neben den vorliegenden Ergebnissen (Schmitz-Valckenberg et al., 2010) in einem gleichzeitig veröffentlichten Artikel von Zweifel et al. (2009) beschrieben. Retikuläre Drusen wurden bisher in der Literatur als kleine Strukturen mit einer Größe von 150-250 μm beschrieben und benötigen daher zur genauen Darstellung eine hohe Auflösung und Qualität.

Auch bisherige Prävalenz- und Inzidenz-Studien haben retikuläre Drusen meist in Farbfundusbildern analysiert (Klein et al., 2008). Klein ist jedoch der Ansicht, dass retikuläre Drusen in der cSLO besser zu sehen und demnach höhere Inzidenz-Zahlen möglich seien. Es gibt nur wenige Studien, die retikuläre Drusen überhaupt in der cSLO untersuchten (Arnold et al., 1995; Lois et al., 2002; Smith et al., 2006). Prävalenzdaten einer repräsentativen AMD Population mit neuerer hochauflösender Bildgebung lagen bis zur Fertigstellung dieser Arbeit nicht vor.

Da retikuläre Drusen nur ansatzweise in der cSLO beschrieben wurden und es in der Literatur bisher keine Erkenntnisse zum Aussehen retikulärer Drusen in der OCT gibt, bietet die vorliegende Arbeit zusammen mit den Erkenntnissen von Zweifel et al. (2009) erstmalig genaue Analysen retikulärer Drusen mittels hochauflösender dreidimensionaler Bildgebung.

4.2 Signalauswertung mittels verschiedener en-face Bildgebungen

Retikuläre Drusen wurden auf Farbfundusbildern erstmals von Mimoun et al. (1990) beschrieben. Die meisten Studien zur Bestimmung der Prävalenz oder zur Beschreibung retikulärer Drusen basieren auf Farbfundusbildern (Arnold et al., 1995; Klein et al., 1991, 2008; Wang et al., 1998). Diese Darstellungsform erwies sich basierend auf unseren Ergebnissen als unzureichend zur Detektion retikulärer Drusen. Vereinzelt waren auf Farbfundusbildern gelbliche oder dunkle Unregelmäßigkeiten an Stellen zu erkennen, an denen in NIR-Aufnahmen retikulärer Drusen erkennbar waren. Meistens jedoch waren retikuläre Drusen entweder gar nicht sichtbar, von anderen Strukturen wie weichen Drusen überlagert oder die Qualität der Aufnahmen war unzureichend.

Interessanterweise ermittelten Smith et al. (2009) in einer kürzlich erschienenen Studie zur Beschreibung retikulärer Drusen quasi identische Zahlen zur Identifikation retikulärer Drusen in Farbfundusbildern wie cSLO Bildern. Die Farbbilder wurden mit einer anderen Kamera als der in dieser Studie vorliegenden aufgenommen, einer Topcon TRC 50 EX. Anscheinend lassen sich retikuläre Drusen auf Farbfundusbildern anderer Farbkameras häufiger erkennen.

Bei Angiographien wurden retikuläre Drusen bisher meist nicht gesehen; nur Arnold et al. (1997) stellte in einer Studie über Drusen in der Angiographie fest, dass retikuläre Drusen in der mittleren oder späten Phase einer ICGA bei Aufnahmen mit der cSLO als hypofluoreszierende Punkte zu sehen seien. In den vorliegenden Untersuchungen wurden retikuläre Drusen nur selten als Signale verminderter Intensität in den späten Phasen entdeckt. Auch in diesen Darstellungsformen war es schwer, retikuläre Drusen zu erkennen. Besonders wenn zusätzlich andere harte Drusen oder andere Pathologien vorhanden waren, war die Identifikation retikulärer Drusen erschwert. Da Angiographien zudem invasiv und zeitaufwendig sind, sind auch sie keine optimale Imaging Modalität zur Detektion retikulärer Drusen.

Auch der RF-Modus der cSLO stellt keine optimale Darstellungsform dar, um retikuläre Drusen zu beschreiben. Sie sind, wenn überhaupt, beim Überlagern von Bildern verschiedene Darstellungsformen als Signale verminderter oder erhöhter Intensitäten zu erkennen. Die erschwerte Detektion retikulärer Drusen im RF-Modus des cSLO könnte an einer Beeinträchtigung der Aufnahme durch den Tränenfilm liegen. Im RF-Modus einer Farbfunduskamera sind retikuläre Drusen eventuell besser sichtbar. Auch wenn Arnold et al. (1995) und Mimoun et al. (1990) retikuläre Drusen in RF-Bildern dargestellt haben, sind RF-Aufnahmen mit der cSLO als alleinige Darstellungsform nicht zur Detektion retikulärer Drusen geeignet.

Anders sieht es hingegen bei FAF-Bildern aus. Hier wurden bei 93 % der Bilder retikuläre Drusen als ein netzförmiges Muster verminderter Intensitäten umgeben von einem Areal normaler bis leicht erhöhter Intensität gesehen. Die FAF ist demnach eine geeignete Imaging Modalität zur Detektion retikulärer Drusen. Seitdem erstmals ein retikuläres Muster in der FAF beschrieben

wurde, hat sich die FAF wie bei vielen anderen Pathologien als ein diagnostischer Meilenstein bei retikulären Drusen erwiesen. Auffällig war, dass retikuläre Drusen meist als punktförmige Veränderungen auffielen, vereinzelt auch als länglich gestreckte Strukturen sichtbar wurden. In der SD-OCT sah man in korrelierenden Schnitten bei beiden Darstellungsformen ein wellenförmiges Muster in den äußeren Netzhautschichten. Zukünftige Studien über retikuläre Drusen sollten daher FAF-Aufnahmen beinhalten.

NIR-Aufnahmen mit der cSLO sind ebenfalls geeignet zur Identifikation retikulärer Drusen. Auch bisherige Arbeitsgruppen benutzten NIR-Bilder zur Untersuchung retikulärer Drusen (Arnold et al., 1995). Zweifel et al. (2009) waren der Meinung, dass retikuläre Drusen im NIR-Modus der cSLO besser zu sehen seien als mit Blaulichtkanälen von Farbfundusbildern. Es wurde auch der Durchmesser retikulärer Drusen bei einigen Patienten bestimmt. Mit einem durchschnittlichen Durchmesser von $175 \mu\text{m}$ lagen die gemessenen Daten im Bereich wie bisher in der Literatur beschrieben (Arnold et al., 1995).

Auffällig war auch hier, dass retikuläre Drusen bei früher AMD vermehrt in superior-temporalen Arealen auftraten, während bei fortgeschrittener AMD die Drusenareale größer wurden und bei später AMD oft auch den gesamten Fundus bedeckten. Bei der Bestimmung der Felderverteilung (siehe auch Abschnitt 4.3) wurde deutlich, dass bei Patienten mit GA, also später AMD, retikuläre Drusen ebenfalls vor allem in superioren und, wenn auch weniger ausgeprägt, temporalen Arealen zu finden sind. Eine Ursache für diese Beobachtung ist allerdings noch nicht bekannt.

Im Rahmen dieser Studie wurden retikuläre Drusen erstmals im SD-OCT untersucht. Neben den kürzlich von Zweifel und Mitarbeitern veröffentlichten Ergebnissen sind in der Literatur bisher keine Arbeiten über retikuläre Drusen im OCT bekannt. Durch den simultanen Aufnahmemodus des Spektralisgeräts konnten die Veränderungen deutlich sichtbarer retikulärer Drusen auf cSLO Bildern mit korrespondierenden SD-OCT Bildern korreliert werden. Hier zeigte sich ein wellenförmiges Muster in Höhe des IPRL sowie eine Ansammlung hochreflektiven Materials zwischen diesem Übergang und dem RPE. Die äußere Grenzmembran war meist nicht verändert, es zeigten sich allerdings manchmal, mit ringartigen Strukturen im cSLO Bild korrelierende, „spikes“, die äußere Grenzmembran durchbrechende Strukturen. Vielleicht stellen diese „spikes“ das Endstadium retikulärer Drusen dar. Zu dieser Schlussfolgerung kommen auch Zweifel et al. (2009), die die unterschiedlichen Veränderungen retikulärer Drusen in drei Stadien einteilen. Stadium 1 beschreibt die auch in dieser Studie gezeigten Veränderungen mit Ablagerungen hyperreflektiven Materials zwischen IPRL und dem RPE. Als Stadium 2 wird das wellenförmige Muster des IPRL bezeichnet. Stadium 3 sind die in den vorliegenden Untersuchungen beschriebenen „Spikes“, die äußere Grenzmembran durchbrechenden Strukturen.

Die Unregelmäßigkeiten retikulärer Drusen waren im OCT klar abgrenzbar von anderen klinischen Manifestationsformen der AMD. Es konnte somit gezeigt werden, dass retikuläre Drusen sich in

der äußeren Netzhaut befinden und nicht, wie bislang angenommen, auf Veränderungen in der Chorioidea beruhen. Als mögliche Erklärung für das morphologische Korrelat retikulärer Drusen wurde eine netzartige Ansammlung von Venen, bedingt durch einen fibrösen Ersatz des chorioidalen Stromas postuliert (Arnold et al., 1995).

Desweiteren ermöglicht ein von Spaide et al. (2008) entwickeltes EDI-Verfahren, mit der SD-OCT tiefere Netzhautschichten wie die Chorioidea genauer zu untersuchen. Zum Beispiel lässt sich hiermit die Dicke der Chorioidea bestimmen. Herkömmliche Sonographie und ICGA sind hilfreich bei der Untersuchung, ermöglichen jedoch keine akkurate, hochauflösende Schnittbildgebung. Es wurde nun ein Verfahren gefunden, bei dem durch Verringerung des Abstandes zwischen Laserkamera und Kornea ein invertiertes Bild erzeugt wurde, welches tiefere Netzhautschichten mit guter Qualität und Auflösung darstellte.

Bei Patienten mit gut sichtbaren Drusen im NIR-Modus der cSLO wurde sowohl ein „normales“ SD-OCT Bild als auch an gleicher Stelle ein „Upside-Down“ Bild aufgenommen. Hier zeigten sich auf Höhe der Chorioidea und unter dem RPE keine Veränderungen. Dies untermauert die Annahme, dass es sich bei retikulären Drusen nicht um Veränderungen in der Chorioidea handelt, sondern um Strukturen, die ihre Lokalisation in den äußeren Netzhautschichten haben.

4.3 Vergleich mit bisherigen Studien in Bezug auf Prävalenz und Verteilung im Fundusbild

Vergleich mit bisherigen Prävalenzstudien

Bisherige Prävalenz- und Inzidenzstudien verwendeten zur Auswertung retikulärer Drusen meistens Fundusaufnahmen. In einer großen Studie von Klein et al. (2008) mit knapp 5.000 Personen einer Normalpopulation in den USA fand sich bei Farbfundusbildern eine Prävalenz von 0,7 % für retikuläre Drusen. Die Inzidenz lag nach 15 Jahren bei 3 %. Cohen et al. (2007) untersuchten retikuläre Drusen in einem Patientenkollektiv mit AMD. Hier zeigten sich in Fundusbildern im RF- und Blaulichtmodus bei 24 % der Patienten retikuläre Drusen. Smith et al. (2006) untersuchte Patienten mit früher AMD mit Hilfe von FAF-Bildern der cSLO auf das Vorkommen retikulärer Drusen. Es zeigte sich nur bei 13 % der 166 Augen von 83 Patienten retikuläre Drusen. Zudem ermittelte Smith et al. (2009) eine Prävalenz von nur 6,7 % bei einem 625 Personen umfassenden AMD-Patientenkollektiv. Es handelte sich hierbei um eine retrospektive Auswertung von FAF-, NIR- sowie ICGA-Aufnahmen mit der cSLO und Farbfundusbildern.

In der vorliegenden Studie wurden die Bilder von zwei Readern unabhängig voneinander ausgewertet und von einem dritten Reader arbitriert. Insgesamt wiesen 60 % der Patienten der GAP-Studie in FAF-, NIR- oder RF-Bildern auf einem oder beiden Augen retikuläre Drusen auf. Da zusätzlich bei

16 % der Patienten die Qualität der Aufnahmen nicht gut genug war, könnten retikuläre Drusen bei bis zu 76 % vorhanden sein. Bei den Augen mit retikulären Drusen sind diese bei über 80 % der Augen im NIR- sowie FAF-Modus zu erkennen. Die ermittelten Cohens Kappa-Werte zur Interrater-Reliabilität variierten zwischen 0,76 und 0,91. Interessanterweise war es im RF-Modus nur bei 23 % der Bilder der rechten und 20 % der Bilder der linken Augen möglich, retikuläre Drusen zu detektieren, während die Qualität der Aufnahmen bei über 60 % der Aufnahmen nicht ausreichte, um eine Aussage treffen zu können. Die Kappa-Werte betragen hier nur 0,46 für die rechten und 0,45 für die linken Augen. Neben der oft ungenügenden Qualität der Aufnahmen zeigte eine schlechte Übereinstimmung zwischen den beiden Readern die Schwierigkeit, retikuläre Drusen im RF-Modus sicher zu detektieren. Zudem war auffällig, dass retikuläre Drusen bei 68 % bzw. 70 % der rechten und linken Augen im NIR- und im FAF-Modus zu erkennen sind. Zu weniger als 20 % sind sie *nur* im FAF- oder NIR-Modus sichtbar. Dies spricht dafür, dass beide Imaging-Modalitäten geeignet sind und beide zur Visualisierung retikulärer Drusen herangezogen werden sollten.

Hauptursache für die viel höhere Prävalenz in den vorliegenden Untersuchungen im Vergleich zu bisherigen Studien ist die verbesserte Qualität der Aufnahmen mit der cSLO im Vergleich zu Studien mit Farbfundusaufnahmen. Zudem standen für jeden Patienten Bilder in drei Darstellungsmodalitäten (FAF-, NIR- und RF-Bilder) zur Auswahl. Klein et al. (2008) prognostizierte schon in seiner Studie höhere Prävalenzzahlen aufgrund besserer Geräte. Deshalb ist es bemerkenswert, dass Smith in seinen Studien geringere Prävalenzzahlen mit der cSLO ermittelte (Smith et al., 2006, 2009). Ein möglicher Grund dafür könnte sein, dass die Patienten retrospektiv rekrutiert wurden. Weiche Einschlusskriterien und kein Verwenden eines SOP sind weitere Erklärungen.

Übereinstimmung zwischen den vorliegenden Auswertungen und Ergebnissen anderer Studien gab es in der Annahme, dass retikuläre Drusen vermehrt bilateral auftreten. In den ermittelten Ergebnissen fanden sich retikuläre Drusen bei 70 % der Patienten bilateral, bei Klein et al. (2008) bei 63 % und bei Wang et al. (1998) bei 91 % der Patienten. Auch die Tatsache, dass retikuläre Drusen vermehrt bei Frauen auftraten, findet sich bei Wang et al. (1998) mit 71 %, Arnold et al. (1995) mit 87 % und Klein et al. (2008) (Odds Ratio = 2,67).

Die beschriebenen Untersuchungen mit Bildern von AMD-Patienten der GAP-Studienbank stellen die ersten Prävalenz-Daten dar, die mit einer großen repräsentativen AMD-Population durchgeführt wurden. 561 Patienten mit AMD ergeben die größte Patientenzahl, die bisher mit qualitativ hochwertigen Bildern der cSLO auf retikuläre Drusen hin untersucht wurde. Die Prävalenz retikulärer Drusen betrug hier 60 %.

Vergleich mit Studien zur Felderverteilung

In verschiedenen Studien wurde die Verteilung von Charakteristika der AMD im Fundusbild untersucht. Arnold et al. (1995) beschrieben erstmals das Vorkommen retikulärer Drusen besonders in der superioren äußeren Makula. Auch auf FAF-Bildern wurde retikuläre Hypoautofluoreszenz besonders in superioren Arealen gefunden (Smith et al., 2006).

Klein et al. (1991) entwickelte ein Raster, mit dessen Hilfe er den Fundus in Felder einteilte und das Vorkommen verschiedener Charakteristika von AMD analysierte. Er untersuchte 2008 in der Beaver Dam Eye Studie unter anderem das Auftreten und die Verteilung retikulärer Drusen in einer Normalpopulation von fast 5.000 Personen (Klein et al., 2008). Es fiel auf, dass retikuläre Drusen bei der Bestimmung der Prävalenz und der Inzidenz vor allem in superioren (74 % bei Prävalenz und 92 % bei Inzidenz) und temporalen (70 % bei Prävalenz und 42 % bei Inzidenz) Arealen des Rasters zu finden waren und nie in der Fovea. Auffällig war außerdem, dass bei 81 % der Personen, bei denen retikuläre Drusen auftraten, diese auch außerhalb des Rasters gefunden wurden. Eine genauere Untersuchung dieser Areale erfolgte nicht.

Um auch die periphereren Areale zu untersuchen, wurde in dieser Studie das Raster um 8 Felder erweitert. Hierbei zeigten sich bei Patienten der GAP-Studie retikuläre Drusen vor allem im superioren Feld oberhalb des ursprünglichen Rasters bei 98 % der Bilder aller rechten und bei 95 % der Bilder aller linken Augen mit retikulären Drusen. Das entsprechende inferiore Areal unterhalb des Rasters war nur mit 54 % bzw. 45 % betroffen. Ein leichtes Übergewicht zeigte sich bei temporalen Arealen, allerdings sind bei unserer konstruierten Schablone die temporalen Felder größer als die entsprechenden Felder auf der nasalen Seite. Das Hauptinteresse der normalen augenärztlichen Untersuchungen mit dem cSLO sind die Fovea und die angrenzenden Gebiete, einschließlich Papille. Weiter außerhalb liegende Areale werden eventuell durch die Grenzen der Fokussierung und die Kameraausrichtung nicht richtig erfasst. Dies ist für die Untersuchung retikulärer Drusen in peripherer liegenden Gebieten zu beachten.

In den inneren Feldern waren seltener retikuläre Drusen zu sehen, was aber auch daran lag, dass im GAP-Studienkollektiv in den Arealen um die Fovea herum oft GA vorlag. Es sollte auch beachtet werden, dass bei allen Patienten der GAP-Studie GA vorlag. Die vorliegenden Zahlen beziehen sich demnach nur auf diese Form der späten AMD.

Dennoch entstand auch bei den Aufnahmen des Patientenkollektivs der Bonner Klinik der Eindruck, dass wenn nur kleine Areale mit retikulären Drusen vorliegen, diese vermehrt in superior-temporalen Arealen auftraten (siehe Abschnitt 4.2 auf Seite 64). Die kürzlich in einer Studie von Smith et al. (2009) veröffentlichten Ergebnisse zeigten ebenfalls, dass vor allem superiore sowie temporale Areale betroffen sind .

Über die Gründe, wieso retikuläre Drusen vor allem in superioren Arealen zu finden sind, können nur Vermutungen angestellt werden. Klein et al. (2008) erwog, ob unterschiedliche Lichtexposition eine Ursache für den schon deutlichen Unterschied bei der Verteilung sein könnte. Auch Unterschiede im chorioidalen Blutfluss wurden als mögliche Ursache gesehen. Dies beruhte jedoch auf der Annahme, dass sich retikuläre Drusen in der Chorioidea befinden. In den hier beschriebenen Erkenntnissen der Untersuchungen von retikulären Drusen mit hochauflösenden SD-OCT Schnitten konnte die äußere Netzhaut als Lokalisation retikulärer Drusen determiniert werden. Retikuläre Drusen haben ihren Ursprung demnach wahrscheinlich nicht in chorioidalen Veränderungen, auszuschließen ist dies allerdings nicht. Weitere Studien sind nötig, um hierfür eine Erklärung zu finden.

4.4 3D-Mapping retikulärer Drusen

Da das Spektralis HRA+OCT erst seit wenigen Jahren existiert und es damit erstmals möglich wurde, mit hoher Auflösung einzelne Netzhautschichten in beliebigen Schnitten durch das Fundusbild zu analysieren, gibt es keine Vergleiche zu den vorliegenden 3D-Mapping Untersuchungen.

Der Vergleich der linearen Ausdehnung retikulärer Drusenareale schien bei Beginn der Untersuchungen einfach zu sein. Auf vielen Bildern wurden retikuläre Drusen im NIR-Modus einwandfrei identifiziert, und das wellenförmige Muster in den äußeren Netzhautschichten auf OCT-Bildern wirkte charakteristisch. Bei vielen Patienten lagen auch andere klinische Manifestationen der AMD vor, wie weiche oder harte Drusen, GA und CNV. Retikuläre Drusen wurden in der cSLO und SD-OCT unterschiedlich überdeckt und erschwerten somit eine klare Abgrenzung, was eine präzise Abmessung erschwerte. Die Qualität der Aufnahmen musste außerdem exzellent sein, bei Unschärfe, Überblendung oder zu dunklen Abschnitten war es schwer, eine Aussage zu treffen, wo der Bereich mit retikulären Drusen anfängt und wo er endet.

Bei den vorliegenden Untersuchungen zeigte sich eine durchschnittliche Ausdehnung in der cSLO von $5.990 \mu m$ mit einem durchschnittlichen Messunterschied zum SD-OCT von $3,8 \mu m$. Die Varianz war recht stark ausgeprägt, sie lag zwischen $-1.615 \mu m$ und $3.032 \mu m$. Bei einigen Patienten war es sehr gut möglich, die Drusenareale abzugrenzen, bei anderen war dies erschwert.

Diese Ergebnisse zeigen, dass es bei optimaler Bildqualität und geringem Auftreten anderer Pathologien von AMD eine gute Übereinstimmung zwischen gemessenen Drusenarealen in der cSLO und SD-OCT Bild gibt. Dies belegt, dass das kombinierte Einsetzen von cSLO und SD-OCT zur Untersuchung retikulärer Drusen sehr gut geeignet ist, um Erkenntnisse über das Aussehen und die Lokalisation zu gewinnen.

4.5 Mögliche Ursachen und klinische Relevanz

Über die Ätiologie und Pathogenese retikulärer Drusen kann bislang nur spekuliert werden. In der Literatur ging man bislang aufgrund einer histologischen Untersuchung von Arnold et al. (1995) davon aus, dass retikuläre Drusen auf Veränderungen in der Chorioidea beruhen. In vertikalen und horizontalen Schnitten bei einem Auge eines Patienten, bei dem man zu Lebzeiten retikuläre Drusen identifiziert hatte, wurden auffällige, geschlängelte Gefäßverläufe deutlich, die inmitten eines fibrösen Stromas angeordnet waren. Dieses charakteristische Muster zeigte sich in der Bildgebung als retikuläres, also netzartiges, Muster und somit meinte man, die Ursache retikulärer Drusen gefunden zu haben.

Erst mit den hier beschriebenen Untersuchungen mittels SD-OCT und einer ähnlichen Studie von Zweifel und Mitarbeitern wurde deutlich, dass als Lokalisation retikulärer Drusen nicht die Chorioidea, sondern äußere Netzhautschichten in Betracht kommen. Daher sind vaskuläre Ursachen vermutlich auszuschließen.

Möglicherweise wurden retikuläre Drusen jedoch schon von Marshall et al. (1979) aus London bei einer morphologischen Analyse von Netzhautschnitten als Veränderungen in den äußeren Netzhautschichten entdeckt. Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen von 73 menschlichen Augen im Alter von 19-90 Jahren, von denen 20 mit einem malignem Melanom befallen waren, zeigten noduläre Ausstülpungen in den Außensegmenten von Stäbchen mit erhöhter Inzidenz mit zunehmendem Alter. Beginnend in der 4. Lebensdekade wurden vor allem in der perimakulären Region Verdickungen der Außensegmente mit einem erhöhten Durchmesser sichtbar. In der 7. Lebensdekade waren 10-20 % der Patienten betroffen. Dies ist beträchtlich, da es sich hierbei nicht nur um AMD-Patienten handelte.

Zeitgleich mit den hier beschriebenen Erkenntnissen veröffentlichten Zweifel et al. (2009) Untersuchungen, die ebenfalls Veränderungen in äußeren Netzhautschichten bei SD-OCT Schnitten festgestellt hatten und außerdem histologische Untersuchungen an einem einzelnen Auge von einem Patienten gemacht haben. Bei diesem Auge eines Patienten einer Augendatenbank waren von Rudolf et al. (2008) vor kurzem histologische Untersuchungen durchgeführt worden, bei denen sich subretinale Ablagerungen von drusenartigem Material fanden. Diese Ablagerungen ähnelten weichen Drusen, da sie membranöse Ablagerungen, unverestertes Cholesterin, Apolipoprotein E und CFH enthielten. Ein klinisches Korrelat war damals aber nicht vorhanden. Zweifel et al. (2009) beschrieben in ihren Untersuchungen, dass die Veränderungen im OCT, die sie bei retikulären Drusen gesehen hatten, mit dem Material, das von Rudolf als subretinale drusenartige Ablagerungen beschrieben wurde, korrespondieren. Weitere histologische Untersuchungen an demselben Auge zeigten prominente Ansammlungen von Material oberhalb des RPE bis hin zur äußeren

Körnerschicht. Allerdings sind diese Erkenntnisse nur mit dem histologischen Material eines einzigen Auges gewonnen wurden und demnach in Folgeuntersuchungen zu bestätigen.

Schon seit einiger Zeit wird vermutet, dass entzündliche Prozesse eine Rolle für die Ursache von AMD haben können (Hageman et al., 2001). Einer der wichtigsten pathologischen Mechanismen wird mit Polymorphismen im Komplement Faktor H Gen in Zusammenhang gebracht, obwohl die genaue funktionelle Bedeutung noch nicht verstanden wird (Edwards et al., 2005; Haines et al., 2005; Klein et al., 2005; Scholl et al., 2008). Interessanterweise werden Modifikationen im Komplementfaktor H Gen mit Veränderungen und Disorganisation der äußeren Segmente der Photorezeptoren beobachtet (Coffey et al., 2007).

Desweiteren wurden Varianten des ARMS2 Gens auf Chromosom 10 als Risikovarianten für die Entwicklung von AMD gesehen. Dieses Genprodukt wurde in die Mitochondrien-reiche ellipsoide Region der Innensegmente der Stäbchen und Zapfen lokalisiert (Fritsche et al., 2008). Diese Region liegt anatomisch gesehen genau neben dem IPRL, also der Region, in der auf SD-OCT Aufnahmen Veränderungen von retikulären Drusen beobachtet wurden. Da im SD-OCT Bild das IPRL sowie die Region der Innensegmente nicht differenziert werden kann, könnten diese Beobachtungen zusammen darauf hindeuten, dass das Produkt des Risikogens ARMS2 die Ursache für retikuläre Drusen sein könnte. Auch Veränderungen in äußeren Netzhautschichten anterior des RPE spielen eine wichtige Rolle in der Pathogenese der AMD. Dies steht im Widerspruch zu bisherigen Untersuchungen, in denen vermutet wurde, dass extrazelluläre Ablagerungen von Material unterhalb des RPE die Hauptlokalisierung von AMD-bezogenen Veränderungen seien.

Kürzlich erst wurden retikuläre Drusen als ein Hochrisikomerkmal für die Entwicklung von Spätformen der AMD beschrieben (Klein et al., 2008). Auch aufgrund der in dieser Studie errechneten Prävalenz von 60 % sind retikuläre Drusen eine bei mehr als der Hälfte aller AMD-Patienten vorkommende klinische Manifestation. In einer kürzlich erscheinenden Studie von Smith et al. (2009) wiesen 42 AMD-Patienten retikuläre Drusen auf. Bei 74 % lag eine späte AMD vor, davon bei 29 % eine GA, bei 61 % eine CNV sowie bei 10 % eine CNV sowie eine GA. Interessanterweise verschwand bei Patienten, die eine CNV entwickelten, das netzförmige Muster der retikulären Drusen, während es bei Patienten mit GA weiterhin sichtbar blieb. Möglicherweise werden retikuläre Drusen von CNV überdeckt und „verschwinden“ daher beim Auftreten einer CNV. Es wurde jedoch nicht untersucht, ob retikuläre Drusen eventuell schon vor anderen klinischen Manifestationen von AMD auftreten und demnach ein Vorbote sein könnten.

Retikuläre Drusen kommen sowohl bei früher als auch bei später AMD vor. Manchmal sind nur kleine Drusenareale befallen, dies ist besonders häufig bei früher AMD der Fall. Ob Areale retikulärer Drusen über die Zeit hinweg größer werden wird vermutet, kann anhand der hier vorliegenden Daten aber nicht belegt werden. Bei einem Patienten der *Fundus Autofluorescence in Age-related Macular Degeneration Study* (FAM-Studie), einer Beobachtungsstudie mittels FAF-Bildern bei

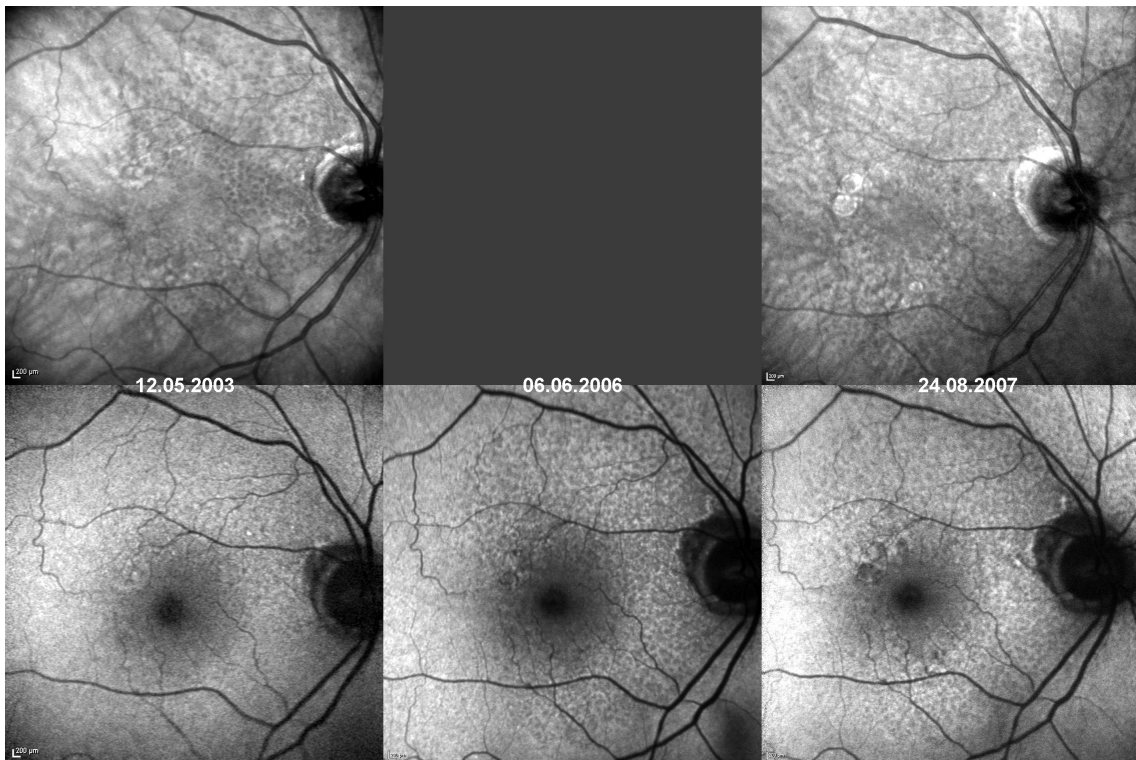


Abb. 31: Deutliche Vergrößerung der Areale mit retikulären Drusen über einen Zeitraum von 4 Jahren bei einem Patienten der FAM-Studie. *Obere Reihe:* NIR-Aufnahmen, *untere Reihe:* FAF-Bilder.

AMD, wird das Drusenareal über 5 Jahre hinweg deutlich größer (Abbildung 31). Leider fehlen weitere Bilder mit der cSLO in einer ausreichend guten Qualität über einen längeren Zeitraum hinweg von Patienten mit AMD und retikulären Drusen, um diesbezüglich eine Aussage treffen zu können.

4.6 Retikuläre Drusen oder Retikuläre Pseudodrusen

Die Bezeichnung der netzartigen Strukturen am hinteren Augenpol wird in der Literatur nicht eindeutig gehandhabt. Bei der Erstbeschreibung von Mimoun et al. (1990) wurden sie „Pseudodrusen“ genannt, da sie den bisher bekannten weichen und harten Drusen ähnelten. Klein et al. (1991) bezeichneten sie als „retikuläre Drusen“. Arnold et al. (1995) betonten in ihrer Arbeit die Tatsache, dass es sich ihrer Meinung nach nicht um reguläres Drusenmaterial zwischen RPE und Bruch'scher Membran handelt, sondern um pathologische Veränderungen in der Inneren Chorioidea. Daher fand er die Bezeichnung retikuläre Drusen für unangebracht und wählte den Begriff „retikuläre Pseudodrusen“.

Drusen bei AMD werden im Allgemeinen als lipid- und hyalinhaltige Ablagerungen zwischen dem RPE und der Bruch'schen Membran bezeichnet. Sie können verschiedene Größen annehmen, klein ($< 64 \mu m$) bis groß ($> 125 \mu m$). Hiermit bewegen sie sich im Rahmen retikulärer Drusen, bei denen

in diesen Untersuchungen ein Durchmesser von 84-266 μm gemessen wurde. In den vorliegenden Untersuchungen wurde herausgefunden, dass sich retikuläre Drusen wie „normale“ Drusen anterior der Bruch'schen Membran befinden. Auch das sonstige Erscheinungsbild retikulärer Drusen lässt sie eher als eine Art von Drusen erscheinen denn als eine eigene Erscheinung. Vielleicht könnte man mit dem Begriff „Drusen“ auch andere Materialansammlungen anterior des RPE's einschließen, solange diese funduskopische Ähnlichkeiten mit den bisherigen Drusen aufweisen. Demnach wird der Begriff „retikuläre Drusen“ für angemessen gehalten.

Zweifel et al. (2009) aus New York beschrieb in ihren kürzlich veröffentlichten Untersuchungen das Vorkommen retikulärer Drusen ebenfalls anterior des RPE's im subretinalen Raum zwischen RPE und dem IPRL. Hier wurde aufgrund einer eigenen und vorher von Rudolf et al. (2008) durchgeführten histologischen Untersuchung die Bezeichnung „*subretinal drusenoid Deposits*“ vorgeschlagen. Neben Untersuchungen mit der SD-OCT wurde eine einzige histologische Untersuchung angestellt, die zeigt, dass sich retikuläre Drusen durch das Vorhandensein von membranösen Ablagerungen, unverestertem Cholesterol und Komplement nur unwesentlich von weichen Drusen unterscheiden. Die Arbeitsgruppe war der Meinung, dass auf Grundlage dieser klinischen und histologischen Befunde die Bezeichnung „*subretinal drusenoid Deposits*“ ein zutreffenderer Begriff sei als „Pseudodrusen“. Dies wäre zwar eine korrekte Bezeichnung, allerdings leitet sie sich aus einer histologischen Untersuchung ab und nicht aus üblichen in-vivo Imaging Methoden. Außerdem ist der Begriff „retikulär“ eine gute Beschreibung des charakteristischen, netzartigen Musters, welches nur bei dieser Form von Drusen vorkommt, und sollte deshalb in der Bezeichnung berücksichtigt werden.

4.7 Schlussfolgerungen

Durch die vorliegenden Untersuchungen konnten einige neue Erkenntnisse über retikuläre Drusen gewonnen werden. Retikuläre Drusen bei Patienten mit AMD wurden erstmals mittels hochauflösender dreidimensionaler kombinierter cSLO und SD-OCT analysiert. Zudem wurde anhand einer großen repräsentativen AMD-Population, der GAP-Studie, Prävalenzdaten sowie die Verteilung retikulärer Drusen im Fundusbild bestimmt.

Interessanterweise ist die ermittelte Prävalenz anhand der GAP-Studie mit 60 % deutlich höher als bisher in der Literatur beschrieben. Es liegt daher die Vermutung nahe, dass retikuläre Drusen eine weit wichtigere Rolle als bisher angenommen im klinischen Erscheinungsbild der AMD darstellen. Retikuläre Drusen sind im rechten und im linken Auge gleich häufig zu finden und treten bei 70 % der Patienten bilateral auf. Insbesondere NIR- und FAF-Modus dienen der Detektion retikulärer Drusen.

Retikuläre Drusen sind vorwiegend in superioren Gebieten des Fundus zu finden. Dies wurde in einer Untersuchung von retikulären Drusen mit FAF-Bildern der GAP-Studie deutlich. Eine Erklärung

hierfür gibt es bislang nicht, weitere Studien wären diesbezüglich sicherlich hilfreich. Ein leichtes Überwiegen des Vorkommens retikulärer Drusen in temporalen gegenüber nasalen Arealen liegt vor, ist jedoch längst nicht so ausgeprägt wie der Unterschied der Verteilung von superioren zu inferioren Bereichen.

Mit Hilfe der vorliegenden Aufnahmen ist deutlich geworden, dass retikuläre Drusen vorwiegend im NIR- sowie im FAF-Modus der cSLO zu erkennen sind. Retikuläre Drusen werden als ein netzartiges Muster mit kleinen runden, teils konfluierenden Arealen mit verminderten Intensitäten sichtbar. In der FAF ist manchmal auch ein geschlängelttes Muster erkennbar. Es ist auffällig, dass retikuläre Drusen bei früher AMD vor allem in superioren Bereichen des Fundus zu finden sind, während mit fortgeschrittener AMD die Drusenareale größer werden und bei später AMD oft der gesamte Fundus bedeckt ist. Weitere Untersuchungen zur Untermauerung dieser Annahmen sind sicher hilfreich.

Der RF-Modus, die ICGA und FAG sowie Farbfundusbilder stellen keine gute Detektionsmöglichkeit für retikuläre Drusen dar. Nur vereinzelt sind sie auch in diesen Darstellungsmodalitäten sichtbar. In den Angiographien fallen retikuläre Drusen dann als ein netzartiges Muster mit rundlichen Veränderungen mit verminderten Signalen auf. Im RF-Modus wird selten ein netzartiges Muster mit Läsionen erhöhter oder verminderter Intensität sichtbar. Bei einigen Farbfundusaufnahmen fallen sie auf als ein netzartiges Muster mit rundlich bis ovalen gelblich-gräulichen Unregelmäßigkeiten.

Die wichtigste Erkenntnis der vorliegenden Studie sind die Untersuchungen im SD-OCT. Hier werden im Gegensatz zu bisherigen Untersuchungen, die konstatieren, dass es sich bei retikulären Drusen um Unregelmäßigkeiten in der Chorioidea handelt, in hochauflösenden Schnittbildern Veränderungen in den äußeren Netzhautschichten deutlich. Es zeigte sich auf Höhe des IPRL ein wellenförmiges Muster mit einer Ansammlung von hochreflektivem Material zwischen dem IPRL und dem RPE. Manchmal zeigen sich „spikes“, die äußere Grenzmembran durchbrechende Strukturen. Eine klare Abgrenzung des Musters retikulärer Drusen zu anderen klinischen Manifestationen von AMD wie weiche Drusen oder GA ist sehr gut möglich. Hierfür wurde die lineare Ausdehnung von Arealen mit retikulären Drusen durch getrennte Vermessung in cSLO und SD-OCT Bildern bestimmt. In den meisten Fällen stimmte die Messung überein. Einzelne Ausreißer belegen allerdings, dass gute Bildqualität unerlässlich ist und dass andere Strukturen, die die retikuläre Drusen überlagern, von Nachteil bei der Detektion ist. Durch sogenannte „Upside Down“ Bilder konnte in der OCT bestätigt werden, dass im Gegensatz zu in der Literatur beschriebenen Behauptungen nicht die Chorioidea betroffen ist.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass zusätzliche und neue Informationen über retikuläre Drusen mittels hochauflösender Technologie gewonnen werden konnten. Bei mehr als der Hälfte aller AMD Patienten treten retikuläre Drusen auf. Dies zeigt, dass sie eine häufig auftretende und damit wichtige klinische Manifestationsform der AMD sind. Die Untersuchungsergebnisse besonders in NIR-

und FAF-Bildern legen nahe, dass nicht nur Farbfundusbilder für die Detektion retikulärer Drusen aufgenommen und analysiert werden sollten. Die Bestimmung der neuen Lokalisation retikulärer Drusen in die äußeren Netzhautschichten unterscheidet sich stark von bisherigen Annahmen und sollte im Hinblick auf Histologie und Ursache weiter verfolgt werden.

4.8 Ausblick

Dank den Vorteilen von neuen, innovativen und hochauflösenden Bildgebungsverfahren sollten in Zukunft weitere Studien zur Untersuchung retikulärer Drusen durchgeführt werden. In der vorliegenden Studie wurden neue Erkenntnisse über die Lokalisation und das Aussehen retikulärer Drusen in verschiedenen Modi des Spektralis HRA+OCT gewonnen. In dieser Arbeit wird erstmals ein repräsentatives Patientenkollektiv auf das Auftreten und die Verteilung retikulärer Drusen im Fundusbild untersucht. Weitere Untersuchungen wären hilfreich, um die hier gewonnenen Erkenntnisse zu bestätigen.

Es wäre zudem sinnvoll, den prognostischen Wert retikulärer Drusen für das Auftreten bzw. Fortschreiten von AMD genauer zu beleuchten. Mit einer in dieser Studie ermittelten Prävalenz von 60 % sind retikuläre Drusen ein häufig auftretendes Merkmal bei AMD. Mögliche Fragestellungen wären: Wann treten retikuläre Drusen im Krankheitsverlauf erstmals auf? Treten sie eventuell zeitlich gesehen vor anderen klinischen Manifestationen früher AMD wie weichen oder harten Drusen auf und sind ein Risikofaktor für das Erkranken an AMD? Um dies zu bestimmen, müsste man eine Studie mit jungen und gesunden Patienten durchführen. Sind sie eventuell ein Biomarker für die Krankheitsaktivität? Auch im Krankheitsverlauf der AMD wäre es interessant zu untersuchen, ob eine Vorhersage über die Wahrscheinlichkeit für das Auftreten von neovaskulärer oder atrophischer später AMD möglich ist. Besteht ein Zusammenhang mit der GA-Progression?

Bei der Untersuchung von Patienten mit retikulären Drusen über einen längeren Zeitraum hinweg mit hochauflösender Technologie ist es mit Sicherheit auch möglich, eventuelle Veränderungen in einem Auge über die Zeit festzustellen. Wird das Areal mit retikulären Drusen über einen längeren Zeitraum größer? In der FAM-Studie konnte bei einem Patienten, bei dem Bilder über einen Zeitraum von 5 Jahren vorlagen, eine deutliche Vergrößerung des Drusenareals festgestellt werden. Leider gibt es bislang keine weiteren Beispiele, da bei den meisten Patienten nur Bilder über einen Zeitraum von 2-3 Jahren vorliegen und deren Qualität zudem oft unzureichend ist. Es ist davon auszugehen, dass retikuläre Drusenareale nicht schnell wachsen, sonst wären sie in den vorhandenen Datenbanken aufgefallen. Um den genauen Zeitrahmen zu bestimmen, bedarf es weiterer Studien über längere Zeiträume die nach SOP durchgeführt werden.

Auch wäre es interessant, retikuläre Drusen auf Farbfundus- sowie RF-Aufnahmen einer guten Funduskamera zu analysieren. Leider war eine gute Analyse retikulärer Drusen auf Farbfundusbil-

dern aufgrund der, zumindest für dieses Vorhaben, qualitativ zu schlechten Funduskamera nicht möglich.

Desweiteren sollten zusätzliche histologische Untersuchungen die Veränderungen retikulärer Drusen genauer beschreiben. Die histologische Studie an einem Patienten von Zweifel et al. (2009) lässt vermuten, dass retikuläre Drusen in ihrer Morphologie „normalen“ weichen Drusen ähneln. Es sollte bei zukünftigen histologischen Untersuchungen auf Veränderungen in den äußeren Netzhautschichten zwischen dem IPRL und dem RPE geachtet werden. In dieser Region wurden retikuläre Drusen von Zweifel und im Rahmen der vorliegenden Arbeit unabhängig voneinander mittels hochauflösender SD-OCT bestimmt.

Zu untersuchen wäre weiterhin, ob eventuell der Genpolymorphismus des Risikogens ARMS2 ursächlich für retikuläre Drusen sein könnte. Fritsche et al. (2008) haben kürzlich das Genprodukt des AMD Hochrisikogens ARMS2 Gens in die ellipsoide Region der Photorezeptorinnensegmente lokalisiert, also direkt neben die in dieser Studie gefundenen Veränderungen im IPRL. Ein Vergleich des Auftretens des ARMS2 Risikogens bei Patienten mit retikulären Drusen im Vergleich zu Patienten ohne retikuläre Drusen wird derzeit in der Arbeitsgruppe an der Universitäts-Augenklinik untersucht.

Zusammenfassung

Die altersabhängige Makuladegeneration (AMD) ist in den Industrieländern mittlerweile die häufigste Ursache für einen irreversiblen Verlust der zentralen Sehschärfe bei Menschen über 50 Jahren. Es handelt sich um eine multifaktorielle, komplexe Erkrankung mit dem Alter als einem wesentlichen Risikofaktor neben kürzlich identifizierten genetischen Risikovarianten im Bereich des Komplementsystems. Charakteristisches klinisches Merkmal sind sog. „Drusen“, welche mit dem Alter akkumulierende, extrazelluläre Ablagerungen unterhalb des postmitotischen, einschichtigen retinalen Pigmentepithels (RPE) darstellen. Bei unterschiedlichen phänotypischen Ausprägungen wurden vor kurzem sog. „retikuläre Drusen“ basierend auf Farbfundusbildern als ein netzartiges Muster mit gelblich, gräulich, rundlich bis ovalen Unregelmäßigkeiten am hinteren Augenpol beschrieben und als Hochrisikomerkmal hinsichtlich der Progression der AMD identifiziert. Wir untersuchten diesen Drusenphänotyp mittels neuerer bildgebender Verfahren, der dreidimensionalen hochauflösenden kombinierten konfokalen Scanning Laser Ophthalmoskopie (cSLO) und der Spektral-Domain optischen Kohärenztomographie (SD-OCT).

Insgesamt wurden in der vorliegenden Arbeit 130 Augen von 85 Patienten, bei denen retikuläre Drusen im Nahinfrarotmodus der cSLO zu erkennen waren, in standardisierter Weise untersucht. Zusätzlich zeigte sich bei 93 % der Fundusautofluoreszenz-Aufnahmen ($\lambda=488\text{nm}$) ein netzartiges Muster mit kleinen, runden, teils konfluierenden Arealen verminderter Intensität umgeben von Arealen normaler oder erhöhter Intensität. Im rotfreien Modus sowie in Spätphasen-Aufnahmen der Fluoreszein- und Indozyaningrünangiographie ließ sich nur manchmal ein korrespondierendes Muster identifizieren. Auch in Farbfundusbildern waren retikuläre Drusen nur selten zu erkennen.

Korrespondierend mit retikulären Drusen in der cSLO zeigten sich in einer Pixel-zu-Pixel-Korrelation in der SD-OCT umschriebene, fokale Erhebungen in den äußeren Schichten der neurosensorischen Netzhaut. Im Gegensatz zu einer früheren histopathologischen Untersuchung an einem einzigen Auge, die retikuläre Drusen mit Veränderungen in der Chorioidea in Verbindung brachte, wurde in der vorliegenden Studie ein wellenförmiges Muster mit einer Ansammlung hochreflektiven Materials zwischen dem Übergang der Innen- und Außensegmente der Photorezeptoren und dem retinalen Pigmentepithel sichtbar. Die äußere Grenzmembran war in der Regel unverändert, manchmal wurden jedoch vertikal orientierte „spikes“, die Grenzmembran durchbrechende Strukturen, erkennbar. Sie entsprachen ringartigen Veränderungen verminderter Intensität mit einem Halo erhöhter Intensität in der Mitte in der korrespondierenden cSLO-Aufnahme. Eine klare Abgrenzung des wellenförmigen

Musters retikulärer Drusen zu anderen klinischen Manifestationen der AMD wie weiche Drusen oder geographische Atrophie war in der SD-OCT akkurat möglich.

Um die lineare Ausdehnung retikulärer Drusenareale in der cSLO und SD-OCT Modus zu vergleichen, wurde eine Strecke scharf begrenzter Drusenareale durch getrennte Vermessung von cSLO und SD-OCT Bildern bestimmt. Hier zeigte sich insgesamt eine gute Übereinstimmung.

Desweiteren wurden Bilder in verschiedenen cSLO-Aufnahmemodalitäten der prospektiven GAP- (Geographic Atrophy Progression) Studie hinsichtlich Prävalenz und topographischer Verteilung im Fundusbild ausgewertet. Bei 60 % der 561 untersuchten AMD-Patienten, davon bei 70 % bilateral, zeigten sich retikuläre Drusen. Dies ist ein weit höherer Prävalenzwert, als in früheren Studien berichtet, die auf Farbfundusphotos basierten. Der Hauptgrund hierfür ist offensichtlich die bessere Identifizierbarkeit retikulärer Drusen mittels der neuen bildgebenden Verfahren. Auch in diesem untersuchten, großen Kollektiv zeigte sich, dass retikuläre Drusen vor allem im Nahinfrarot-Modus sowie in der Fundusautofluoreszenz erkennbar sind.

Bei der Auswertung der topographischen Verteilung retikulärer Drusen am hinteren Augenpol wurden Autofluoreszenzbilder der GAP-Studie mittels einer modifizierten ETDRS-Schablone ausgewertet. Hier fanden sich retikuläre Drusen v.a. in superioren und weniger ausgeprägt in temporalen Arealen. Im Gegensatz zu „konventionellen“ Drusen treten retikuläre Drusen auch relativ häufig nasal der Papille auf.

Die Ergebnisse weisen darauf hin, dass AMD-assoziierte retikuläre Drusen mit neueren, hochauflösenden bildgebenden Technologien präzise zu identifizieren sind, wobei sich Nahinfrarot- und Fundusautofluoreszenzaufnahmen mittels konfokaler Scanning Laser Ophthalmoskopie am besten eignen. Im Gegensatz zu bisherigen Vermutungen zeigen sich in der hochauflösenden optischen Kohärenztomographie als morphologisches Korrelat Veränderungen in Ebene der Photorezeptorenschicht. Damit spielen erkrankungsassoziierte Veränderungen im Bereich der äußeren neurosensorischen Netzhaut möglicherweise eine wichtige pathophysiologische Rolle bei der AMD. Diese Annahme wird gestützt durch die kürzliche Identifikation eines Hochrisiko-Polymorphismus des ARMS2 (Age-Related Maculopathy Susceptibility 2)-Gens, welches im Bereich der Innensegmente der Photorezeptoren exprimiert wird. Bereits begonnene Genotyp-Phänotyp-Korrelationsstudien könnten hier weiteren Aufschluß geben.

Literaturverzeichnis

- Age-Related Eye Disease Study Research Group. Risk factors associated with age related macular degeneration. A case-control study in the age-related eye disease study. *Surv Ophthalmol* 1995; 39: 367–374
- Age-Related Eye Disease Study Research Group. A randomized, placebo-controlled, clinical trial of high-dose supplementation with vitamins C and E, beta carotene, and zinc for age-related macular degeneration and vision loss: AREDS report no. 8. *Arch Ophthalmol* 2001; 119: 1417–1436
- Ambati J, Anand A, Fernandez S, Sakurai E, Lynn BC, Kuziel WA, Rollins BJ, Ambati BK. An animal model of age-related macular degeneration in senescent Ccl-2- or Ccr-2-deficient mice. *Nat Med* 2003; 9: 1390–1397
- Anderson DH, Mullins RF, Hageman GS, Johnson LV. A role for local inflammation in the formation of drusen in the aging eye. *Am J Ophthalmol* 2002; 134: 411–431
- Armstrong J. ARED-Study. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005; 46
- Arnold JJ, Quaranta M, Soubrane G, Sarks SH, Coscas G. Indocyanine green angiography of drusen. *Am J Ophthalmol* 1997; 124: 344–356
- Arnold JJ, Sarks SH, Killingsworth MC, Sarks JP. Reticular pseudodrusen. A risk factor in age-related maculopathy. *Retina* 1995; 15: 183–191
- Augood CA, Vingerling JR, de Jong PTVM, Chakravarthy U, Seland J, Soubrane G, Tomazzoli L, Topouzis F, Bentham G, Rahu M, Vioque J, Young IS, Fletcher AE. Prevalence of age-related maculopathy in older Europeans: the European Eye Study (EUREYE). *Arch Ophthalmol* 2006; 124: 529–535
- Beatty S, Koh H, Phil M, Henson D, Boulton M. The role of oxidative stress in the pathogenesis of age-related macular degeneration. *Surv Ophthalmol* 2000; 45: 115–134
- Bindewald A, Bird AC, Dandekar SS, Dolar-Szczasny J, Dreyhaupt J, Fitzke FW, Einbock W, Holz FG, Jorzik JJ, Keilhauer C, Lois N, Mlynski J, Pauleikhoff D, Staurenghi G, Wolf S. Classification of fundus autofluorescence patterns in early age-related macular disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005; 46: 3309–3314
- Bindewald A, Jorzik JJ, Loesch A, Schutt F, Holz FG. Visualization of retinal pigment epithelial cells in vivo using digital high-resolution confocal scanning laser ophthalmoscopy. *Am J Ophthalmol* 2004; 137: 556–558

- Bindewald-Wittich A, Jorzik JJ, Roth F, Holz FG. cSLO-Fundusautofluoreszenz-Imaging. Methodische Weiterentwicklungen der konfokalen Scanning-Laser-Ophthalmoskopie. *Ophthalmologe* 2005; 102: 259–264
- Bird AC, Bressler NM, Bressler SB, Chisholm IH, Coscas G, Davis MD, de Jong PT, Klaver CC, Klein BE, Klein R. An international classification and grading system for age-related maculopathy and age-related macular degeneration. The International ARM Epidemiological Study Group. *Surv Ophthalmol* 1995; 39: 367–374
- Bok D. Retinal photoreceptor-pigment epithelium interactions. Friedenwald lecture. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1985; 26: 1659–1694
- Boulton M, Dayhaw-Barker P. The role of the retinal pigment epithelium: topographical variation and ageing changes. *Eye* 2001; 15: 384–389
- Boulton M, McKechnie NM, Breda J, Bayly M, Marshall J. The formation of autofluorescent granules in cultured human RPE. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1989; 30: 82–89
- Bressler SB, Maguire MG, Bressler NM, Fine SL. Relationship of drusen and abnormalities of the retinal pigment epithelium to the prognosis of neovascular macular degeneration. The Macular Photocoagulation Study Group. *Arch Ophthalmol* 1990; 108: 1442–1447
- Bressler SB, Muñoz B, Solomon SD, West SK. Racial differences in the prevalence of age-related macular degeneration: the Salisbury Eye Evaluation (SEE) Project. *Arch Ophthalmol* 2008; 126: 241–245
- Brody BL, Gamst AC, Williams RA, Smith AR, Lau PW, Dolnak D, Rapaport MH, Kaplan RM, Brown SI. Depression, visual acuity, comorbidity, and disability associated with age-related macular degeneration. *Ophthalmology* 2001; 108: 1893–1900
- Brown DM, Kaiser PK, Michels M, Soubrane G, Heier JS, Kim RY, Sy JP, Schneider S. Ranibizumab versus verteporfin for neovascular age-related macular degeneration. *N Engl J Med* 2006; 355: 1432–1444
- Burk R. Bildgebung: Vergleich der Messprinzipien. In: Krieglstein G, Hrsg. *Glaukom 2007 - Die Papille beim Glaukom*. Springer, 2007: 29–36
- Cense B, Nassif N, Chen T, Pierce M, Yun SH, Park B, Bouma B, Tearney G, de Boer J. Ultrahigh-resolution high-speed retinal imaging using spectral-domain optical coherence tomography. *Opt Express* 2004; 12: 2435–2447
- Chakravarthy U, Augood C, Bentham GC, de Jong PTVM, Rahu M, Seland J, Soubrane G, Tomazzoli L, Topouzis F, Vingerling JR, Vioque J, Young IS, Fletcher AE. Cigarette smoking and age-related macular degeneration in the EUREYE Study. *Ophthalmology* 2007; 114: 1157–1163

- Chang MA, Bressler SB, Munoz B, West SK. Racial differences and other risk factors for incidence and progression of age-related macular degeneration: Salisbury Eye Evaluation (SEE) Project. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008; 49: 2395–2402
- Chappelow AV, Kaiser PK. Neovascular age-related macular degeneration: potential therapies. *Drugs* 2008; 68: 1029–1036
- Coffey PJ, Gias C, McDermott CJ, Lundh P, Pickering MC, Sethi C, Bird A, Fitzke FW, Maass A, Chen LL, Holder GE, Luthert PJ, Salt TE, Moss SE, Greenwood J. Complement factor H deficiency in aged mice causes retinal abnormalities and visual dysfunction. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; 104: 16651–16656
- Cohen SY, Dubois L, Tadayoni R, Delahaye-Mazza C, Debibie C, Quentel G. Prevalence of reticular pseudodrusen in age-related macular degeneration with newly diagnosed choroidal neovascularisation. *Br J Ophthalmol* 2007; 91: 354–359
- Curcio CA, Presley JB, Malek G, Medeiros NE, Avery DV, Kruth HS. Esterified and unesterified cholesterol in drusen and basal deposits of eyes with age-related maculopathy. *Exp Eye Res* 2005; 81: 731–741
- Delori FC, Dorey CK, Staurengi G, Arend O, Goger DG, Weiter JJ. In vivo fluorescence of the ocular fundus exhibits retinal pigment epithelium lipofuscin characteristics. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1995; 36: 718–729
- Despriet DDG, Klaver CCW, Witteman JCM, Bergen AAB, Kardys I, de Maat MPM, Boekhoorn SS, Vingerling JR, Hofman A, Oostra BA, Uitterlinden AG, Stijnen T, van Duijn CM, de Jong PTVM. Complement factor H polymorphism, complement activators, and risk of age-related macular degeneration. *JAMA* 2006; 296: 301–309
- Dewan A, Liu M, Hartman S, Zhang SSM, Liu DTL, Zhao C, Tam POS, Chan WM, Lam DSC, Snyder M, Barnstable C, Pang CP, Hoh J. HTRA1 promoter polymorphism in wet age-related macular degeneration. *Science* 2006; 314: 989–992
- Dithmar S, Holz F. Drusen. In: Dithmar S, Holz F, Hrsg. *Fluoreszenzangiographie in der Augenheilkunde*. Springer, 2008: 58–63
- Dithmar S, Holz FG, Burk RO, Rohrschneider K, Völcker HE. Confocal scanning laser indocyanine green angiography with the Heidelberg retinal angiograph. *Klin Monatsbl Augenheilkd* 1995; 207: 11–16
- Drexler W. Ultrahigh-resolution optical coherence tomography. *J Biomed Opt* 2004; 9: 47–74
- Drexler W. Cellular and functional optical coherence tomography of the human retina: the Cogan lecture. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007; 48: 5339–5351

- Drexler W, Morgner U, Ghanta RK, Kärtner FX, Schuman JS, Fujimoto JG. Ultrahigh-resolution ophthalmic optical coherence tomography. *Nat Med* 2001; 7: 502–507
- Drexler W, Morgner U, Kärtner FX, Pitris C, Boppart SA, Li XD, Ippen EP, Fujimoto JG. In vivo ultrahigh-resolution optical coherence tomography. *Opt Lett* 1999; 24: 1221–1223
- Drexler W, Sattmann H, Hermann B, Ko TH, Stur M, Unterhuber A, Scholda C, Findl O, Wirtitsch M, Fujimoto JG, Fercher AF. Enhanced visualization of macular pathology with the use of ultrahigh-resolution optical coherence tomography. *Arch Ophthalmol* 2003; 121: 695–706
- Edwards AO, Ritter R, Abel KJ, Manning A, Panhuysen C, Farrer LA. Complement factor H polymorphism and age-related macular degeneration. *Science* 2005; 308: 421–424
- Emerich DF, Thanos CG. NT-501: an ophthalmic implant of polymer-encapsulated ciliary neurotrophic factor-producing cells. *Curr Opin Mol Ther* 2008; 10: 506–515
- Feeney-Burns L, Berman ER, Rothman H. Lipofuscin of human retinal pigment epithelium. *Am J Ophthalmol* 1980; 90: 783–791
- Feeney-Burns L, Eilersieck MR. Age-related changes in the ultrastructure of Bruch's membrane. *Am J Ophthalmol* 1985; 100: 686–697
- Feeney-Burns L, Hilderbrand ES, Eldridge S. Aging human RPE: morphometric analysis of macular, equatorial, and peripheral cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1984; 25: 195–200
- Ferris FL, Fine SL, Hyman L. Age-related macular degeneration and blindness due to neovascular maculopathy. *Arch Ophthalmol* 1984; 102: 1640–1642
- Finger R, Fleckenstein M, Scholl H, Holz F. Therapeutischer Anti-VEGF-Einsatz in der Augeneheilkunde: Pathophysiologie und Therapie der AMD. *Pharmakologie unserer Zeit* 2007; 36: 424–430
- Fisher RF. The influence of age on some ocular basement membranes. *Eye* 1987; 1: 184–189
- Fleckenstein M, Issa PC, Helb HM, Schmitz-Valckenberg S, Finger RP, Scholl HPN, Loeffler KU, Holz FG. High-resolution spectral domain-OCT imaging in geographic atrophy associated with age-related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008; 49: 4137–4144
- Fritsche LG, Loenhardt T, Janssen A, Fisher SA, Rivera A, Keilhauer CN, Weber BHF. Age-related macular degeneration is associated with an unstable ARMS2 (LOC387715) mRNA. *Nat Genet* 2008; 40: 892–896
- Funk R, Apple D. Anatomie und Untersuchungstechnik. In: Naumann G, Hrsg. *Pathologie des Auges I*. Berlin, Heidelberg: Springer, 1997: 1–90
- Gartner S, Henkind P. Aging and degeneration of the human macula. 1. Outer nuclear layer and photoreceptors. *Br J Ophthalmol* 1981; 65: 23–28

- Gass JD, Jallow S, Davis B. Adult vitelliform macular detachment occurring in patients with basal laminar drusen. *Am J Ophthalmol* 1985; 99: 445–459
- Gold B, Merriam JE, Zernant J, Hancox LS, Taiber AJ, Gehrs K, Cramer K, Neel J, Bergeron J, Barile GR, Smith RT, Group AMDGCS, Hageman GS, Dean M, Allikmets R. Variation in factor B (BF) and complement component 2 (C2) genes is associated with age-related macular degeneration. *Nat Genet* 2006; 38: 458–462
- Grehn F. Aderhaut. In: Grehn F, Hrsg. *Augenheilkunde*. Springer, 2006: 207–209
- Grisanti S, Tatar O. The role of vascular endothelial growth factor and other endogenous interplayers in age-related macular degeneration. *Prog Retin Eye Res* 2008; 27: 372–390
- Hageman GS, Anderson DH, Johnson LV, Hancox LS, Taiber AJ, Hardisty LI, Hageman JL, Stockman HA, Borchardt JD, Gehrs KM, Smith RJH, Silvestri G, Russell SR, Klaver CCW, Barbazetto I, Chang S, Yannuzzi LA, Barile GR, Merriam JC, Smith RT, Olsh AK, Bergeron J, Zernant J, Merriam JE, Gold B, Dean M, Allikmets R. A common haplotype in the complement regulatory gene factor H (HF1/CFH) predisposes individuals to age-related macular degeneration. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102: 7227–7232
- Hageman GS, Luthert PJ, Chong NHV, Johnson LV, Anderson DH, Mullins RF. An integrated hypothesis that considers drusen as biomarkers of immune-mediated processes at the RPE-Bruch's membrane interface in aging and age-related macular degeneration. *Prog Retin Eye Res* 2001; 20: 705–732
- Hageman GS, Mullins RF, Russell SR, Johnson LV, Anderson DH. Vitronectin is a constituent of ocular drusen and the vitronectin gene is expressed in human retinal pigmented epithelial cells. *FASEB J* 1999; 13: 477–484
- Haines JL, Hauser MA, Schmidt S, Scott WK, Olson LM, Gallins P, Spencer KL, Kwan SY, Noureddine M, Gilbert JR, Schnetz-Boutaud N, Agarwal A, Postel EA, Pericak-Vance MA. Complement factor H variant increases the risk of age-related macular degeneration. *Science* 2005; 308: 419–421
- Hammond CJ, Webster AR, Snieder H, Bird AC, Gilbert CE, Spector TD. Genetic influence on early age-related maculopathy: a twin study. *Ophthalmology* 2002; 109: 730–736
- Helb HM, Issa PC, Fleckenstein M, Schmitz-Valckenberg S, Scholl HPN, Meyer CH, Eter N, Holz FG. Clinical evaluation of simultaneous confocal scanning laser ophthalmoscopy imaging combined with high-resolution, spectral-domain optical coherence tomography, 2009
- Hogan MJ. Role of the retinal pigment epithelium in macular disease. *Trans Am Acad Ophthalmol Otolaryngol* 1972; 76: 64–80

- Holz F, Wolfensberger T, Piguet B, Minassian D, AC B. Makuläre Drusen: Veränderungen des retinalen Pigmentepithels und angiographische Charakteristika als prognostische Merkmale. *Ophthalmologie* 1994a; 91: 735–740
- Holz FG, Bellmann C, Rohrschneider K, Burk RO, Völcker HE. Simultaneous confocal scanning laser fluorescein and indocyanine green angiography. *Am J Ophthalmol* 1998; 125: 227–236
- Holz FG, Bindewald-Wittich A, Schmitz-Valckenberg S, Eter N, Scholl HPN. Neue Entwicklungen in der Therapie der altersabgängigen Makuladegeneration. *Deutsches Ärzteblatt* 2006; 8: 492–487
- Holz FG, Schütt F, Kopitz J, Eldred GE, Kruse FE, Völcker HE, Cantz M. Inhibition of lysosomal degradative functions in RPE cells by a retinoid component of lipofuscin. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999; 40: 737–743
- Holz FG, Schütt F, Pauleikhoff D, Bird AC. Pathophysiologie. In: Holz F, Pauleikhoff D, Spaide R, Bird A, Hrsg. *Altersabhängige Makuladegeneration*. Berlin, Heidelberg: Springer, 2004: 33–49
- Holz FG, Sheraidah G, Pauleikhoff D, Bird AC. Analysis of lipid deposits extracted from human macular and peripheral Bruch's membrane. *Arch Ophthalmol* 1994b; 112: 402–406
- Huang D, Swanson EA, Lin CP, Schuman JS, Stinson WG, Chang W, Hee MR, Flotte T, Gregory K, Puliafito CA. Optical coherence tomography. *Science* 1991; 254: 1178–1181
- Jaffe G, Tao W, Stinnett S, Bruns R, Stockman M, Young E. The effect of CNTF on Retinal Thickness in Eyes With AMD Associated With Geographic Atrophy, 2009
- Jager RD, Mieler WF, Miller JW. Age-related macular degeneration. *N Engl J Med* 2008; 358: 2606–2617
- Jakobsdottir J, Conley YP, Weeks DE, Mah TS, Ferrell RE, Gorin MB. Susceptibility genes for age-related maculopathy on chromosome 10q26. *Am J Hum Genet* 2005; 77: 389–407
- Jean B, Frohn A, Thiel HJ. Laser scanning in ophthalmology. *Fortschr Ophthalmol* 1990; 87: 158–167
- Katz R, Vogel R, McLeod K, Fenredinide Study Group. A Phase II Multicenter, Double-Masked, Placebo-Controlled, Dose-Comparison Study of the Safety and Efficacy of Fenretinide in the Treatment of Geographic Atrophy in Subjects with Age-Related Macular Degeneration: Preliminary Demographic Data and Reasons for Screen Failure, 2009
- Klaver C, Leeuwen R, Vingerlin J, Jong P. Epidemiologie. In: Holz F, Pauleikhoff D, Spaide R, Bird A, Hrsg. *Altersabhängige Makuladegeneration*. Springer, 2004: 1–18
- Klaver CC, Assink JJ, van Leeuwen R, Wolfs RC, Vingerling JR, Stijnen T, Hofman A, de Jong PT. Incidence and progression rates of age-related maculopathy: the Rotterdam Study. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001; 42: 2237–2241

- Klein ML, Mauldin WM, Stoumbos VD. Heredity and age-related macular degeneration. Observations in monozygotic twins. *Arch Ophthalmol* 1994; 112: 932–937
- Klein R, Davis MD, Magli YL, Segal P, Klein BE, Hubbard L. The Wisconsin age-related maculopathy grading system. *Ophthalmology* 1991; 98: 1128–1134
- Klein R, Klein BE, Cruickshanks KJ. The prevalence of age-related maculopathy by geographic region and ethnicity. *Prog Retin Eye Res* 1999; 18: 371–389
- Klein R, Klein BEK, Knudtson MD, Meuer SM, Swift M, Gangnon RE. Fifteen-year cumulative incidence of age-related macular degeneration: the Beaver Dam Eye Study. *Ophthalmology* 2007; 114: 253–262
- Klein R, Klein BEK, Tomany SC, Moss SE. Ten-year incidence of age-related maculopathy and smoking and drinking: the Beaver Dam Eye Study. *Am J Epidemiol* 2002; 156: 589–598
- Klein R, Meuer SM, Knudtson MD, Iyengar SK, Klein BEK. The epidemiology of retinal reticular drusen. *Am J Ophthalmol* 2008; 145: 317–326
- Klein RJ, Zeiss C, Chew EY, Tsai JY, Sackler RS, Haynes C, Henning AK, SanGiovanni JP, Mane SM, Mayne ST, Bracken MB, Ferris FL, Ott J, Barnstable C, Hoh J. Complement factor H polymorphism in age-related macular degeneration. *Science* 2005; 308: 385–389
- Kleinman ME, Yamada K, Takeda A, Chandrasekaran V, Nozaki M, Baffi JZ, Albuquerque RJC, Yamasaki S, Itaya M, Pan Y, Appukuttan B, Gibbs D, Yang Z, Karikó K, Ambati BK, Wilgus TA, DiPietro LA, Sakurai E, Zhang K, Smith JR, Taylor EW, Ambati J. Sequence- and target-independent angiogenesis suppression by siRNA via TLR3. *Nature* 2008; 452: 591–597
- Kliffen M, de Jong PT, Luiders TM. Protein analysis of human maculae in relation to age-related maculopathy. *Lab Invest* 1995; 73: 267–272
- Lang G. Optische Kohärenztomographie (OCT). In: Kröll P, Kuchle M, Kuchle H, Hrsg. *Augenärztliche Untersuchungsmethoden*. Thieme, 2008: 436–443
- Leitgeb R, Drexler W, Unterhuber A, Hermann B, Bajraszewski T, Le T, Stingl A, Fercher A. Ultrahigh resolution Fourier domain optical coherence tomography. *Opt Express* 2004; 12: 2156–2165
- Li CM, Clark ME, Chimento MF, Curcio CA. Apolipoprotein localization in isolated drusen and retinal apolipoprotein gene expression. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006; 47: 3119–3128
- Lois N, Owens SL, Coco R, Hopkins J, Fitzke FW, Bird AC. Fundus autofluorescence in patients with age-related macular degeneration and high risk of visual loss. *Am J Ophthalmol* 2002; 133: 341–349
- MacDonald IM, Sauvé Y, Sieving PA. Preventing blindness in retinal disease: ciliary neurotrophic factor intraocular implants. *Can J Ophthalmol* 2007; 42: 399–402

- Maguire P, Vine AK. Geographic atrophy of the retinal pigment epithelium. *Am J Ophthalmol* 1986; 102: 621–625
- Maller J, George S, Purcell S, Fagerness J, Altshuler D, Daly MJ, Seddon JM. Common variation in three genes, including a noncoding variant in CFH, strongly influences risk of age-related macular degeneration. *Nat Genet* 2006; 38: 1055–1059
- Marshall J, Grindle J, Ansell P, Borwein B. Convolution in human rods: an ageing process. *Br J Ophthalmol* 1979; 63: 181–187
- Meyers SM, Greene T, Gutman FA. A twin study of age-related macular degeneration. *Am J Ophthalmol* 1995; 120: 757–766
- Michels S, Rosenfeld PJ, Puliafito CA, Marcus EN, Venkatraman AS. Systemic bevacizumab (Avastin) therapy for neovascular age-related macular degeneration twelve-week results of an uncontrolled open-label clinical study. *Ophthalmology* 2005; 112: 1035–1047
- Mimoun G, Soubrane G, Coscas G. Macular drusen. *J Fr Ophtalmol* 1990; 13: 511–530
- Moore DJ, Hussain AA, Marshall J. Age-related variation in the hydraulic conductivity of Bruch's membrane. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1995; 36: 1290–1297
- Mullins RF, Russell SR, Anderson DH, Hageman GS. Drusen associated with aging and age-related macular degeneration contain proteins common to extracellular deposits associated with atherosclerosis, elastosis, amyloidosis, and dense deposit disease. *FASEB J* 2000; 14: 835–846
- Okubo A, Rosa RH, Bunce CV, Alexander RA, Fan JT, Bird AC, Luthert PJ. The relationships of age changes in retinal pigment epithelium and Bruch's membrane. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999; 40: 443–449
- Olver J, Pauleikhoff D, Bird AC. Morphometric analysis of age changes in the choriocapillaris. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1990; 31: 47
- Pauleikhoff D, Barondes MJ, Minassian D, Chisholm IH, Bird AC. Drusen as risk factors in age-related macular disease. *Am J Ophthalmol* 1990; 109: 38–43
- Pauleikhoff D, Hermans P, Holz F, Bird A. Histopathologie. In: Holz F, Pauleikhoff D, Spaide R, Bird A, Hrsg. *Altersabhängige Makuladegeneration*. Springer, 1997: 51–72
- Pauleikhoff D, Zuels S, Sheraidah GS, Marshall J, Wessing A, Bird AC. Correlation between biochemical composition and fluorescein binding of deposits in Bruch's membrane. *Ophthalmology* 1992; 99: 1548–1553
- Paz MDL, Anderson RE. Region and age-dependent variation in susceptibility of the human retina to lipid peroxidation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1992; 33: 3497–3499

- Piguet B, Wells JA, Palmvang IB, Wormald R, Chisholm IH, Bird AC. Age-related Bruch's membrane change: a clinical study of the relative role of heredity and environment. *Br J Ophthalmol* 1993; 77: 400–403
- Pircher M, Göttinger E, Findl O, Michels S, Geitzenauer W, Leydolt C, Schmidt-Erfurth U, Hitzenberger CK. Human macula investigated in vivo with polarization-sensitive optical coherence tomography. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006; 47: 5487–5494
- Plesch A, Chaperro V, Bille J, Götz ML, Jaeger W. Laser scanning ophthalmoscopy. *Fortschr Ophthalmol* 1986; 83: 530–531
- Povazay B, Hermann B, Unterhuber A, Hofer B, Sattmann H, Zeiler F, Morgan JE, Falkner-Radler C, Glittenberg C, Blinder S, Drexler W. Three-dimensional optical coherence tomography at 1050 nm versus 800 nm in retinal pathologies: enhanced performance and choroidal penetration in cataract patients. *J Biomed Opt* 2007; 12: 041211
- Prenner JL, Rosenblatt BJ, Tolentino MJ, Ying GS, Javornik NB, Maguire MG, Ho AC, Group CNVPTR. Risk factors for choroidal neovascularization and vision loss in the fellow eye study of CNVPT. *Retina* 2003; 23: 307–314
- Radu RA, Han Y, Bui TV, Nusinowitz S, Bok D, Lichter J, Widder K, Travis GH, Mata NL. Reductions in serum vitamin A arrest accumulation of toxic retinal fluorophores: a potential therapy for treatment of lipofuscin-based retinal diseases. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005; 46: 4393–4401
- Ramrattan RS, van der Schaft TL, Mooy CM, de Bruijn WC, Mulder PG, de Jong PT. Morphometric analysis of Bruch's membrane, the choriocapillaris, and the choroid in aging. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1994; 35: 2857–2864
- Rivera A, Fisher SA, Fritsche LG, Keilhauer CN, Lichtner P, Meitinger T, Weber BHF. Hypothetical LOC387715 is a second major susceptibility gene for age-related macular degeneration, contributing independently of complement factor H to disease risk. *Hum Mol Genet* 2005; 14: 3227–3236
- Rosenfeld PJ, Brown DM, Heier JS, Boyer DS, Kaiser PK, Chung CY, Kim RY. Ranibizumab for neovascular age-related macular degeneration. *N Engl J Med* 2006a; 355: 1419–1431
- Rosenfeld PJ, Rich RM, Lalwani GA. Ranibizumab: Phase III clinical trial results. *Ophthalmol Clin North Am* 2006b; 19: 361–372
- Rudolf M, Malek G, Messinger JD, Clark ME, Wang L, Curcio CA. Sub-retinal drusenoid deposits in human retina: organization and composition. *Exp Eye Res* 2008; 87: 402–408
- Sarks SH. Ageing and degeneration in the macular region: a clinico-pathological study. *Br J Ophthalmol* 1976; 60: 324–341

- Sarks SH, Driel DV, Maxwell L, Killingsworth M. Softening of drusen and subretinal neovascularization. *Trans Ophthalmol Soc U K* 1980; 100: 414–422
- van der Schaft TL, de Bruijn WC, Mooy CM, Ketelaars DA, de Jong PT. Is basal laminar deposit unique for age-related macular degeneration? *Arch Ophthalmol* 1991; 109: 420–425
- Schmidt S, Hauser MA, Scott WK, Postel EA, Agarwal A, Gallins P, Wong F, Chen YS, Spencer K, Schnetz-Boutaud N, Haines JL, Pericak-Vance MA. Cigarette smoking strongly modifies the association of LOC387715 and age-related macular degeneration. *Am J Hum Genet* 2006; 78: 852–864
- Schmitz-Valckenberg S, Bindewald-Wittich A, Fleckenstein M, Scholl H, Holz F. Age-related macular degeneration II - geographic atrophy. In: Holz F, Schmitz-Valckenberg S, Spaide R, Bird A, Hrsg. *Atlas of Fundus Autofluorescence Imaging*. Berlin, Heidelberg: Springer, 2007a: 147–163
- Schmitz-Valckenberg S, FW F, FG H. Fundus autofluorescence imaging with the confocal scanning laser ophthalmoscope. In: Holz F, Schmitz-Valckenberg S, Spaide R, Bird A, Hrsg. *Atlas of Fundus Autofluorescence Imaging*. Berlin, Heidelberg: Springer, 2007b: 31–36
- Schmitz-Valckenberg S, Jorzik J, Unnebrink K, Holz FG. Analysis of digital scanning laser ophthalmoscopy fundus autofluorescence images of geographic atrophy in advanced age-related macular degeneration. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2002; 240: 73–78
- Schmitz-Valckenberg S, Steinberg JS, Fleckenstein M, Visvalingam S, Brinkmann CK, Holz FG. Combined confocal scanning laser ophthalmoscopy and spectral-domain optical coherence tomography imaging of reticular drusen associated with age-related macular degeneration. *Ophthalmology* 2010; 117: 1169–1176
- Scholl HPN, Fleckenstein M, Issa PC, Keilhauer C, Holz FG, Weber BHF. An update on the genetics of age-related macular degeneration. *Mol Vis* 2007; 13: 196–205
- Scholl HPN, Issa PC, Walier M, Janzer S, Pollok-Kopp B, Börncke F, Fritsche LG, Chong NV, Fimmers R, Wienker T, Holz FG, Weber BHF, Oppermann M. Systemic complement activation in age-related macular degeneration. *PLoS One* 2008; 3: 2593
- Schrader W. Altersbedingte Makuladegeneration. Sozioökonomische Zeitbombe in der alternden Gesellschaft. *Ophthalmologe* 2006; 103: 742–748
- Seddon JM, Cote J, Page WF, Aggen SH, Neale MC. The US twin study of age-related macular degeneration: relative roles of genetic and environmental influences. *Arch Ophthalmol* 2005; 123: 321–327
- Seo JH, Yu YS, Kim JH, Choung HK, Heo JW, Kim SJ. Correlation of visual acuity with foveal hypoplasia grading by optical coherence tomography in albinism. *Ophthalmology* 2007; 114: 1547–1551

- Slakter JS, Stur M. Quality of life in patients with age-related macular degeneration: impact of the condition and benefits of treatment. *Surv Ophthalmol* 2005; 50: 263–273
- Smiddy WE, Fine SL. Prognosis of patients with bilateral macular drusen. *Ophthalmology* 1984; 91: 271–277
- Smith RT, Chan JK, Busuoioc M, Sivagnanavel V, Bird AC, Chong NV. Autofluorescence characteristics of early, atrophic, and high-risk fellow eyes in age-related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006; 47: 5495–5504
- Smith RT, Sohrab MA, Busuoioc M, Barile G. Reticular macular disease. *Am J Ophthalmol* 2009; 148: 733–743
- Smith W, Assink J, Klein R, Mitchell P, Klaver CC, Klein BE, Hofman A, Jensen S, Wang JJ, de Jong PT. Risk factors for age-related macular degeneration: Pooled findings from three continents. *Ophthalmology* 2001; 108: 697–704
- Soliman W, Sander B, Jørgensen TM. Enhanced optical coherence patterns of diabetic macular oedema and their correlation with the pathophysiology. *Acta Ophthalmol Scand* 2007; 85: 613–617
- Spaide RF, Koizumi H, Pozzoni MC, Pozzoni MC. Enhanced depth imaging spectral-domain optical coherence tomography. *Am J Ophthalmol* 2008; 146: 496–500
- Spaide RF, Laud K, Fine HF, Klancnik JM, Meyerle CB, Yannuzzi LA, Sorenson J, Slakter J, Fisher YL, Cooney MJ. Intravitreal bevacizumab treatment of choroidal neovascularization secondary to age-related macular degeneration. *Retina* 2006; 26: 383–390
- Spaide RF, Wong D, Fisher Y, Goldbaum M. Correlation of vitreous attachment and foveal deformation in early macular hole states. *Am J Ophthalmol* 2002; 133: 226–229
- Spalton D, Marshall J. Normale Netzhaut. In: Spalton D, Hitchings R, Hunter P, Hrsg. *Atlas der Augenkrankheiten*. Stuttgart: Thieme, 1996: 311–340
- Spitznas M, Hogan MJ. Outer segments of photoreceptors and the retinal pigment epithelium. Interrelationship in the human eye. *Arch Ophthalmol* 1970; 84: 810–819
- Streeten BW. Development of the human retinal pigment epithelium and the posterior segment. *Arch Ophthalmol* 1969; 81: 383–394
- Wang JJ, Mitchell P, Smith W, Cumming RG. Bilateral involvement by age related maculopathy lesions in a population. *Br J Ophthalmol* 1998; 82: 743–747
- Wang JJ, Rochtchina E, Lee AJ, Chia EM, Smith W, Cumming RG, Mitchell P. Ten-year incidence and progression of age-related maculopathy: the blue Mountains Eye Study. *Ophthalmology* 2007; 114: 92–98

- Webb RH, Hughes GW. Scanning laser ophthalmoscope. *IEEE Trans Biomed Eng* 1981; 28: 488–492
- Webb RH, Hughes GW, Delori FC. Confocal scanning laser ophthalmoscope. *Appl Ophthalmology* 1987; 25: 1492–1499
- Whitehead AJ, Mares JA, Danis RP. Macular pigment: a review of current knowledge. *Arch Ophthalmol* 2006; 124: 1038–1045
- Wojtkowski M, Bajraszewski T, Gorczyńska I, Targowski P, Kowalczyk A, Wasilewski W, Radzewicz C. Ophthalmic imaging by spectral optical coherence tomography. *Am J Ophthalmol* 2004; 138: 412–419
- Wojtkowski M, Srinivasan V, Fujimoto JG, Ko T, Schuman JS, Kowalczyk A, Duker JS. Three-dimensional retinal imaging with high-speed ultrahigh-resolution optical coherence tomography. *Ophthalmology* 2005; 112: 1734–1746
- Yang Z, Camp NJ, Sun H, Tong Z, Gibbs D, Cameron DJ, Chen H, Zhao Y, Pearson E, Li X, Chien J, Dewan A, Harmon J, Bernstein PS, Shridhar V, Zabriskie NA, Hoh J, Howes K, Zhang K. A variant of the HTRA1 gene increases susceptibility to age-related macular degeneration. *Science* 2006; 314: 992–993
- Yang Z, Stratton C, Francis PJ, Kleinman ME, Tan PL, Gibbs D, Tong Z, Chen H, Constantine R, Yang X, Chen Y, Zeng J, Davey L, Ma X, Hau VS, Wang C, Harmon J, Buehler J, Pearson E, Patel S, Kaminoh Y, Watkins S, Luo L, Zabriskie NA, Bernstein PS, Cho W, Schwager A, Hinton DR, Klein ML, Hamon SC, Simmons E, Yu B, Campochiaro B, Sunness JS, Campochiaro P, Jorde L, Parmigiani G, Zack DJ, Katsanis N, Ambati J, Zhang K. Toll-like receptor 3 and geographic atrophy in age-related macular degeneration. *N Engl J Med* 2008; 359: 1456–1463
- Young RW. Solar radiation and age-related macular degeneration. *Surv Ophthalmol* 1988; 32: 252–269
- Zrenner E, Seeliger M, Reinhard J. Funktionsprüfungen der Makula. In: Holz FG, Pauleikhoff D, Spaide R, Bird AC, Hrsg. *Altersabhängige Makuladegeneration*. Berlin, Heidelberg: Springer, 2004: 111–120
- Zweifel SA, Spaide RF, Curcio CA, Malek G, Imamura Y. *Reticular Pseudodrusen Are Subretinal Drusenoid Deposits*, 2009