

Arbeits- und Ergebnisbericht:

Teilprojekt A.2 „Biomorphometrie der glaukomatösen Optikusatrophie“

Beteiligte Wissenschaftler: C.Y. Mardin, G.O.H. Naumann

1. Auf dem Gebiet der konventionellen Planimetrie kam es zu folgenden neuen Erkenntnissen. Querschnittsuntersuchungen haben gezeigt, daß man zwischen verschiedenen Typen der glaukomatösen Optikusatrophie unterscheiden kann und so aus der Morphologie Rückschlüsse auf den klinischen Verlauf (und somit z.B. auch auf den therapeutischen Zieldruck) machen kann (1,2). Der zentrale Gefäßstamm auf der Lamina cribrosa bietet lokalisiert Schutz vor glaukomatösem NRR Verlust und Vergrößerung der parapapillären Atrophie, dort, wo der Abstand vom Gefäßstamm zum Papillenrand am geringsten ist (3). Cilioretinale Gefäße bieten demgegenüber keinen entsprechenden Schutz. Evtl ist der Schutz NICHT nutritiv, sondern mechanisch, indem der zentrale Gefäßstamm beim Durchtritt durch die Lamina diese vor mechanischer Deformierung schützt, während zilioretinale Gefäße dagegen nicht durch die Lamina cribrosa ziehen (Budde et al in review). Anhand der Verläufe der Glaukomstudie werden Risikoprofile erstellt, die Risikofaktoren für zukünftige MORPHOLOGISCHE Verschlechterungen darstellen, etwa für Papillenrandblutungen, Verlust von NRR, etc. Bei Studienbeginn kleine NRR und Große parapapilläre Atrophie sind Prediktoren sowohl für spätere Papillenrandblutung als auch für späteren NRR-Verlust. Eine im Verlauf sich vergrößernde parapapilläre Atrophie scheint evtl. ein unabhängiger Risikofaktor zu sein (4-7).

2. Als neues Verfahren steht nun die digitale Planimetrie zur Morphometrie der Papille zur Verfügung. Sie wurde erstmalig in unserem Projekt etabliert und untersucht. In einer Vergleichsstudie mit der konventionelle Planimetrie konnte gezeigt werden, daß Messwerte beider Methoden nicht statistisch signifikant verschieden waren ($p=0,96$) und die Planimetrie eine sehr hohe Reproduzierbarkeit aufwies (8). Aufbauend auf diese Erkenntnis konnte in einer Studie mit Langzeitverläufen und einer Beobachtungsdauer von $4,9 \pm 2,1$ Jahren bei Augen mit Normaldruckglaukomen eine deutliche Abnahme des neuroretinalen Randsaums bei konstanter Papillenfläche gezeigt werden (Nguyen et al in review). Der Vorteil der digitalen Planimetrie liegt im Vergleich zum HRT I in den Echtfarben der Bilder und Vermeidung des Gefäßartefaktes. Der Vorteil gegenüber der konventionellen Planimetrie ist in der Verlaufskontrolle die konsequente Anpassung der Gesamtpapillengröße an das erste Bild. Dadurch wird ein bedeutsames Artefakt bei der Vergleichbarkeit von Messwerten vermieden. Die Variable Fläche des neuroretinalen Randsaums der Planimetrie zeigt ähnlich hohe Sensitivitäten auf wie die beste multivariate Analyse des HRT I, gerechnet auf den Erlanger Daten (9).

Die Arbeitsgruppe von Diestelhorst und Kollegen in Köln konnte in Zusammenarbeit mit uns zeigen (ARVO 2002), daß die intra-Beobachtbarvariabilität des HRT I der Mittelwerte für die Variable Gesamtfläche höher ist als für die Exkavationsfläche. Die vom Untersucher abhängige Variabilität des HRT I kann zu unterschiedlichen Ergebnissen führen. Die Ergebnisse bestätigten die klinische Erfahrung, daß das reine Falschfarbenbild als Grundlage für die Analyse der Papille nicht als alleinige diagnostische Methode geeignet ist.

3. In einer Pilotstudie an 200 Patienten konnte erstmalig gezeigt werden, daß sich im Bereich der parapapillären Atrophie zwischen Zone alpha und beta sich eine Zone mit Lipofuszin darstellen

läßt. Dieses intrapigmentepitheliale Degenerationsprodukt ließ in normalen Papillen-Ausnahme myopische- nicht zeigen. Hingegen konnte es in Papillen mit beginnender Atrophie, teilweise vor Auftreten perimetrischer Defekte dargestellt werden. Die Untersuchungstechnik des Laser-Scanning ist nicht invasiv und für den Patienten nicht schädigend. Der in vivo Nachweis des histologisch bekannten Lipofuscins im Bereich der parapapillären Atrophiezone wurde erstmalig durchgeführt und bietet neue Perspektiven für die Glaukomfrüherkennung. Es zeigt sich vor allem bei frühen Atrophiestadien, teilweise vor Auftreten von Gesichtsfelddefekten eine deutlich Lipofuszinansammlung in einer Zone Delta zwischen Zone α und β . Dieser Befund könnte ein gänzlich neuer und früher Marker für eine glaukomatöse Optikusatrophie sein. Desweiteren weist dieser Befund auf einen neuen Aspekt der glaukomatösen Optikusatrophie hin. Er könnte als Indiz gesehen werden, daß bei Glaukomen Alterungsprozesse rascher eintreten. Es ist bisher bei Glaukomen Lipofuscin in der parapapillären Atrophiezone noch nicht in vivo gezeigt worden. Ob dieses Lipofuscin ein früher Marker einer glaukomatösen Optikusatrophie sein könnte ist noch unbekannt (Viestenz., Mardin, Naumann in review).

4. Die Laser-Scanning-Polarimetrie als relativ neues Verfahren zur Messung der retinalen Nervenfaserschichtdicke bei Glaukomen zeigt signifikante Unterschiede in den Messwerten zwischen den Papille aller Glaukomstadien 0-V nach Jonas. Die beste Trennung erreicht die multivariat erzeugte Variable „the number“ ($p=0,0001$). Von Beginn der glaukomatösen Optikusatrophie bis zum fortgeschrittenen Stadium steigt die Sensitivität von 32% in Stadium I bis 90% bei Stadium IV bei einer vorgegebenen Spezifität von 90% (10). Es konnte ebenfalls erstmals gezeigt werden, daß die Variablen der Laser-Scanning-Polarimetrie ähnlich hohe Abhängigkeiten zeigen wie die morphometrischen Variablen der Planimetrie und des HRT (Hayler et al DOG 2001). Ca. 30% der Patienten des Erlanger Glaukomregisters zeigen einen Einfluß der Hornhautpolarisation, was durch konsequente Ausmessung der Macula gezeigt werden konnte.

5. Auf dem Gebiet der Laser-Scanning-Tomographie galt es die morphometrische Unterscheidung von normalen Papillen zu Glaukompapillen in verschiedenen Stadien zu verbessern. Iester konnte in Zusammenarbeit mit unserer Arbeitsgruppe zeigen, daß eine sektorenbasierte, multivariate Analyse gerechnet auf den mit dem HRT vermessenen Erlanger Glaukomregister Papillen gegenüber den publizierten von anderen Arbeitsgruppen multivariaten Analysen und Einzelvariablen wie cup shape measure empfindlicher war (11-13). Dagegen konnten Kollegen aus Moorfields (Garway-Heath et al ARVO 2001) an unseren und Daten aus anderen Zentren zeigen, daß die in den jeweiligen Zentren gerechneten multivariaten Analysen auf den eigenen Daten Glaukome von Normalen am besten trennen.

6. Halbautomatisierte morphometrische Verfahren können den Augenarzt bei der Diagnosestellung der glaukomatösen Optikusatrophie unterstützen. Ein neuer statistischer Ansatz zur Unterscheidung von Normal-Glaukom an HRT-Daten wurde gemeinsam mit dem Projekt C1 entwickelt. Es wurde der Nutzen von Klassifikationsbäumen in der Glaukomdiagnostik mit dem HRT untersucht. Sowohl Standard-Klassifikationsbäume als auch „gebaggte“ Bäume kamen zur Anwendung. Die Ergebnisse der morphometrischen Diagnose wurde den Ergebnissen zweier bekannter linearer Diskriminanzanalysen (Iester et al 2000, Swindale et al 2000) gegenübergestellt und mit einem Kreuzvalidierungsverfahren bezüglich ihrer Fehleinschätzung gegenüber der klinischen Diagnose beurteilt.

Das niedrigste Mißklassifikationsergebnis von allen Verfahren erreichte die Methode der „gebaggten“ Klassifikationsbaumes mit einem geschätzten Fehler von 14,8%. Die kreuzvalidiert geschätzte Fehlerrate der linearen Diskriminanzanalysen waren 20,4% und 20,6% und damit eindeutig höher. Unter der Verwendung aller zwei- und dreidimensionalen Messvariablen des

HRT scheint dieses Verfahren ein neues und effizientes Hilfsmittel für die Erforschung der glaukomatösen Optikusatrophie zu sein, gesunde von normalen Papillen morphometrisch zu erkennen (Mardin, Lausen in J Glaucoma in review).

7. Ein zweiter Schwerpunkt der Forschung am HRT war die Untersuchung von Langzeitverläufen bei Patienten mit morphologischer Progression der glaukomatösen Optikusatrophie vor Gesichtsfeldverlust und die Untersuchung von Patienten und Verdächtigen ohne Progression in einem Zeitraum von fünf Jahren. Im Gegensatz zu Glaukomaugen mit morphologisch nachgewiesener Verschlechterung, zeigen Augen ohne klinische Verschlechterung keine signifikante Änderung der HRT-Variablen. Stabile Patienten und Verdächtige scheinen eine morphometrische Schwankung vom Ausgangswert der Randsaumfläche um im Mittel 1,7% und der Exkavationsfläche im Mittel von 3,2% zu zeigen (Mardin, Horn et al in Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol. in review), im Gegensatz zu instabilen Patienten mit 4% bzw. 10% Änderung (14,15).

8. Die Untersuchungen mit der SmartLens zur Messung der Augendruckdynamik ergaben eine gute Phasenkorrelation mit den Geräte von Langham, EKG- und Blutdruckmessungen. Der Variabilitätskoeffizient betrug 5,5% für gesunde Augen (Hayler et al DOG 2001).

9. Gemeinsam mit dem Institut für Humangenetik konnte phänotypisch-genotypische Korrelationen bei Patienten mit TIGR/MYOC und CYP1B1 Mutationen gezeigt werden (16-18). So weisen Patienten mit Gln368Stop-Mutation unterschiedliche Phänotypen auf welche von normal, über Normaldruck- bis zum moderaten Hochdruckglaukom reichen.

10. In Zusammenarbeit mit A1 wurden bei vergleichenden Untersuchungen zwischen dem Ausmaß der glaukomatösen Sehnervenschädigung mittels GDx und dem Ausmaß der sinnesphysiologischen Veränderungen mit der Frequency Doubling Perimeter (FDP) gezeigt werden, daß bei Glaukomaugen eine signifikante Beziehung zwischen der Abnahme der Nervenfaserschichtdicke und sensorischen Defekten mit dem FDP besteht. Die Kombination beider Verfahren verbessert die Glaukomfrüherkennung signifikant. In Ergänzung zur patientenunabhängigen Morphometrie der Papille wurde herausgefunden, daß das blau-auf-gelb VEP ein sinnesphysiologisches, objektives Verfahren sein könnte den Schaden durch die Glaukome zu erfassen (19,20 und Horn et al Am J Ophthalmol accepted 2002).

An Hand von HRT-Daten konnte A4 ein automatisches Verfahren zur Erkennung der Papillenbergrenzung entwickeln und mit den von Experten eingezeichneten Konturlinien korrelieren. Gemeinsam mit dem Projekt Z wurde eine Bilddatenbank digitaler Papillenphotos als Vorarbeit aufgebaut (Chrastek et al in review).

Bei Patienten mit maskiertem Pseudoexfoliationssyndrom mit und ohne Glaukom konnte gezeigt werden, daß 64% dieser Augen ein frühes PEX-Stadium zeigten. Diese Häufigkeit übersteigt die bisher angenommene Insidenz von PEX in diesen Augen (21). In einer Vorarbeit konnte das pharmakologischen Institut (Prof. K. Brune) mit uns zeigen, daß die Expression von COX2 in Augen mit primärem und sekundärem Offenwinkelglaukom reduziert zu sein scheint (22).

Literatur:

- (1) Budde WM, Martus P, Jonas JB, Gründler AE. Influence of optic disc size on neuroretinal rim shape in healthy eyes. J Glaucoma 2000; 9: 357-363
- (2) Jonas JB, Bergua A, Schmitz-Valkenberg P, Papastathopoulos KI, Budde WM. Ranking of optic disc variables for detection of glaucomatous optic nerve damage. Invest Ophthalmol Vis Sci 2000; 41: 1764-1773

- (3) Jonas JB, Budde WM, Nemeth J, Gründler AE, Mistlberger A, Hayler JK. Central retinal vessel trunk exit and location of parapapillary atrophy in glaucoma. *Ophthalmology* 2001;108:1059-1064
- (4) Jonas JB, Martus P, Budde WM, Jünemann A, Hayler JK. Small neuroretinal rim and large parapapillary atrophy as predictive factors for progression of glaucomatous optic neuropathy. *Ophthalmology* 2002; 109: 1561-1567
- (5) Jonas JB, Martus P, Budde WM. Inter-eye differences in chronic open-angle glaucoma patients with unilateral disc hemorrhages. *Ophthalmology* 2002; (accepted)
- (6) Jonas JB, Martus P, Budde WM, Hayler JK. Morphologic predictive factors for development of optic disc hemorrhages in glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* (accepted)
- (7) Jonas JB, Budde WM. Diagnosis and pathogenesis of glaucomatous optic neuropathy: Morphological aspects. *Prog Retin Eye Res* 2000; 19: 1-40
- (8) Nguyen NX, Horn FK, Langenbucher A, Mardin CY. Conventional versus digital planimetry of optic disc photograph: a clinical comparative study. *Klin Monatsbl Augenheilkd*. 2001; 218(11):727-32.
- (9) Mardin CY, Junemann AG. The diagnostic value of optic nerve imaging in early glaucoma. *Curr Opin Ophthalmol*. 2001; 12(2):100-4.
- (10) Nguyen NX, Horn FK, Hayler J, Wakili N, Jünemann A, Mardin CY. Retinal nerve fiber layer measurements using laser scanning polarimetry in different stages of glaucomatous optic nerve damage. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2002; 240(8):608-14.
- (11) Lester M, Jonas JB, Mardin CY, Budde WM. Discriminant analysis models for early detection of glaucomatous optic disc changes. *Br J Ophthalmol* 2000; 84: 464-468
- (12) Lester M, Mardin CY, Budde WM, Jünemann AE, Hayler JK, Jonas JB. Discriminant analysis formulas of optic nerve head parameters measured by confocal scanning laser tomography. *J Glaucoma* 2002; 11: 97-104
- (13) Martus P, Jünemann A, Wisse M, Budde WM, Horn F, Korth M, Jonas JB. Multivariate approach for quantification of morphologic and functional damage in glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000; 41: 1099-1110
- (14) Mardin CY, Horn F, Budde WM, Jonas JB. Monitoring of morphometric changes of optic discs with morphologic progression of glaucomatous optic atrophy by means of laser scanner tomography. *Klin Monatsbl Augenheilkd*. 2000 Aug;217(2):82-7.
- (15) Mardin CY. Morphometrie der glaukomatösen Atrophie des Nervus opticus im Methodenvergleich. Habilitationsschrift der medizinischen Fakultät der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg 2000.
- (16) Michels-Rautenstrauss KG, Mardin CY, Zenker M, Jordan N, Gusek-Schneider GC, Rautenstrauss BW. Primary congenital glaucoma: three case reports on novel mutations and combinations of mutations in the GLC3A (CYP1B1) gene. *J Glaucoma*. 2001 Aug;10(4):354-7.
- (17) G. Chavarria, Michels-Rautenstrauss KG, Mardin CY, J. Azofeifa, Rautenstrauss BW. Primary congenital glaucoma: A Novel single nucleotide deletion and varying phenotypic expression for the 1546-1555 Dup mutation in the GLC3A gene in two families with different ethnic origin. *J Glaucoma* 2002.
- (18) Karin Michels-Rautenstrauss, Christian Mardin, Nina Wakili, Anselm M Jünemann, Luis Villalobos, Carlos Mejia, Gabriela Chavarria Soley, Jorge Azofeifa, Sevinc Özbey, Gottfried OH Naumann, Andre Reis, Bernd Rautenstrauss "Novel Mutations in the MYOC/GLC1A Gene in a large Group of Glaucoma Patients. *Hum Mutat*. 2002;20(6):479-480.
- (19) Horn FK, Jonas JB, Budde WM, Jünemann AM, Mardin CY, Korth M. Monitoring glaucoma progression with visual evoked potentials of the blue sensitive pathway. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2002; 43: 1828-1834
- (20) Korth MJ; Jünemann AMG; Horn FK; Bergua A; Cursiefen C; Velten I; Budde WM; Wisse M; Martus P. Synopsis verschiedener sinnesphysiologischer Untersuchungen in der

Glaukom-Frühdiagnose - Zeitliche und örtlich-zeitliche Kontrastempfindlichkeit, Helligkeits- und Farbkontrast-Muster-ERG, blau-auf-gelb-VEP [Synopsis of various electrophysiological tests in early glaucoma diagnosis--temporal and spatiotemporal contrast sensitivity, light- and color-contrast pattern-reversal electroretinogram, blue-yellow VEP. Klin Monatsbl Augenheilkd 2000; 216: 360-368.

- (21) Mardin CY, Schlötzer-Schrehardt U., Naumann GOH. „Masked“ Pseudoexfoliation Syndrome in Unoperated Eyes with Circular Posterior Synechiae. Clinical-Electronmicroscopic Correlation. Arch Ophthalmol. 2001; 119 (10):
- (22) Maihofner C, Schlotzer-Schrehardt U, Guhring H, Zeilhofer HU, Naumann GO, Pahl A, Mardin C, Tamm ER, Brune K. Expression of cyclooxygenase-1 and -2 in normal and glaucomatous human eyes. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2001; 42(11):2616-24.

Originalarbeiten in review (Stand 30.10.2002):

Budde WM, Jonas JB. Influence of cilioretinal arteries on neuroretinal rim and parapapillary atrophy in glaucoma. Invest Ophthalmol Vis Sci (in review)

Budde WM, Jonas JB, Hayler JK, Mardin CY. Determination of optic cup depth by confocal scanning laser tomography. Eur J Ophthalmol (in review)

1 Mardin CY, Horn FK, Jünemann AGM, Nguyen N. HRT morphometry of the optic disc: Longterm reproducibility in glaucoma suspects and patients without clinical progression. Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol. (in review).

Mardin CY, Hothorn T, Lausen B, Jünemann AGM. Glaucoma classification based on standard HRT parameters using classification trees. J Glaucoma. (in review).

Jonas JB, Martus P, Budde WM. Anisometropia and degree of glaucomatous optic neuropathy in chronic non-highly myopic open-angle glaucoma. Am J Ophthalmol; (in review).

Budde WM, Mardin CY, Jonas JB. Optic disc hemorrhages on confocal scanning laser tomographic images. Ophthalmology (in review).

Jonas JB, Michelson G, Harazny J, Mardin CY, Papastathopoulos KI, Budde WM. Optic Disc Morphometry Correlated with Confocal Laser Scanning Doppler Flowmetry Measurements in Normal-Pressure Glaucoma. Br J Ophthalmol (in review).

