

İleri Görüntüleme Yöntemlerinde Yenilikler

New Developments in Fundus Autofluorescence

Figen ŞERMET¹

1- Prof. Dr., Ankara Üniversitesi
Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları
Anabilim Dah

Geliş Tarihi - Received 28.07.2015
Kabul Tarihi - Accepted 28.07.2015
Ret-Vit Özel Sayı 2017;25: 4-9

Yazışma Adresi / Correspondence Address:
E-mail: fbatioglu@gmail.com

Phone: 0532 346 9288

ÖZ

Görüntüleme teknolojilerindeki ilerlemelere paralel olarak fundus otoflöresans görüntüleme de bazı gelişmeler izlenmektedir. Özellikle geniş açılı görüntüleme sistemleri ile periferik retinanın da otoflöresans görüntüleri alınabilmekte ve yeni verilere ulaşılabilmektedir. Ayrıca, otoflöresansın kantitatif olarak değerlendirilmeside başta herediter ve dejeneratif hastalıklar olmak üzere birçok retina hastalığında farklı genotiplerin belirlenmesinde yol gösterici olacaktır.

Anahtar kelimeler: Fundus otoflöresans

ABSTRACT

Parallel to the progress in imaging technology, some developments are being observed in fundus autofluorescence imaging. Especially with wide-field imaging systems, autofluorescence images of peripheral retinas can be obtained and new data can be evaluated. Also, in the evaluation of hereditary and degenerative diseases, quantitative autofluorescence will guide the identification of different genotypes.

Key words: Fundus autofluorescence

Fundus otoflöresansın temeli

Otoflöresans; farklı dalga boylu ışıkla uyarıldığında kendiliğinden belli dalga

boyunda ışık yayabilme özelliğidir. Oftalmolojide ilk defa, optik disk drusenleri, Best vitelliform distrofisi gibi bazı olgularda intravenöz floresan madde verilmeden floresin anjiyografi kamerası ile otoflöresans özelliği farkedilmiştir.^{1, 2} Daha sonra tarayıcı laser oftalmoskopların geliştirilmesi ile klinik uygulamalarda kullanılmaya başlanmıştır. Fundus otoflöresans (FOF) görüntü karakteristiği, retina pigment epitelinin (RPE) içindeki lipofusin granüllerinin bir sonucudur. RPE'deki lipofusin birikimi ve dağılımı FOF'un temelini oluşturmaktadır.³⁻⁶

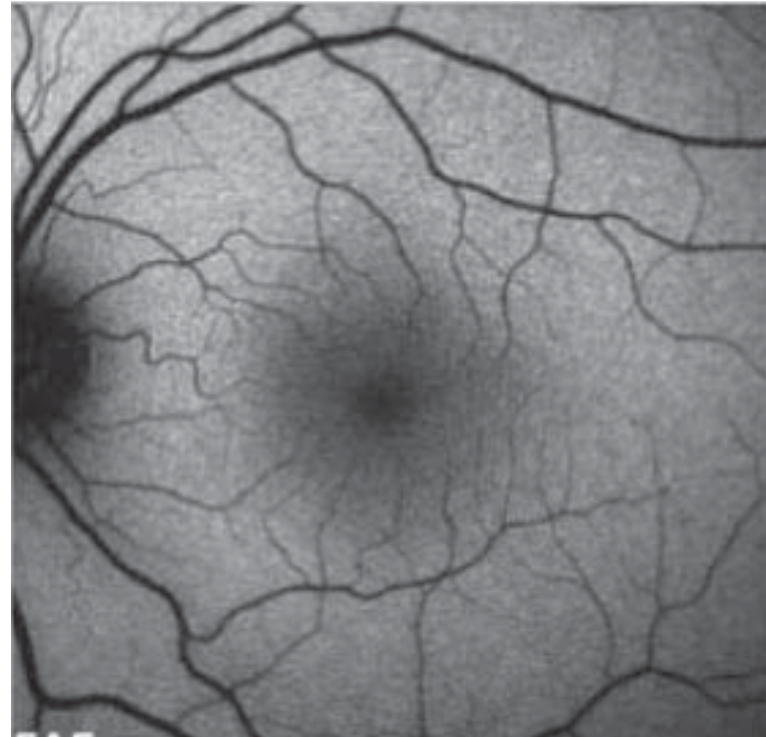
Lipofusin birikimi sadece yaşlanma sürecinin bir sonucu değildir. Yaşlanmaya bağlı az miktardaki diffüz lipofusin birikimi fizyolojik kabul edilirken, fokal ve aşırı miktarlarda birikim patolojik olup özellikle retina distrofilerinin bazı çeşitlerinde izlenmektedir.

Fundus Otoflöresans Görüntüleme Prensipleri

Lipofusini ex vivo veya in vitro olarak flöresans mikroskopi ile görüntülemek için ultraviyole ışık kullanılır. Oküler ortamların absorpsiyon özellikleri nedeniyle insan gözünde ultraviyole ışığın retinaya geçişi sınırlıdır.⁷ Ancak lipofusinin 300 nm – 600 nm’lik geniş eksitasyon aralığı nedeniyle, in vivo flöresansını ortaya çıkarmak için görülebilir ışık kullanılabilir. Emisyon spektrumu 480-800 nm arasında olup 600 nm-640 nm arasında maksimumdur.

Otoflöresansın ilk kez kantitatif olarak değerlendirilmesi Kitagawa ve ark.tarafından 1989’da florofotometri kullanılarak gerçekleştirilmiştir.⁸ Ancak retina önündeki ortamların özellikle de lensin flöresans özellikleri nedeniyle FOF’un görüntülenmesinde zorluklar olmuştur. Bu nedenle Delori ve ark. tarafından fundus spektrofotometre geliştirilmiştir.⁹ Konfokal tarayıcı laser oftalmoskopi ise, düşük yoğunluklu otoflöresans sinyalinin kısıtlılıklarını ve kristalin lensin etkisini ortadan kaldırmak için ilk kez von Rückmann ve ark. tarafından kullanılmıştır.³ Optiklerin konfokal özelliği nedeniyle fokal plan dışından yansıyan ışınlar büyük ölçüde engellenmektedir. Bu şekilde retina önündeki yapılardan kaynaklanan otoflöresans ta azalmaktadır. Zemin gürültüsünü azaltmak ve görüntü kontrastını arttırmak için bir dizi görüntünün ortalaması alınır. Günümüzde otoflöresans görüntüleme Heidelberg Retinal Anjiografi 2 cihazı sıklıkla kullanılmaktadır. Cihazda uyarıcı ışık olarak 488 nm dalga boyunda argon laser kullanılır, bariyer filtre ile 500 nm ve üzeri dalga boyları filtre edilir. Fundus görüntüsü kızıl ötesi modunda odaklanır ve birden fazla görüntünün ortalaması alınarak son görüntü elde edilir. Makula pigmentlerinin, eksitasyon ışığını foveada yoğun bir şekilde absorbe etmesi nedeni ile foveal ve parafoveal bölge diğer bölgelere göre daha hipootoflöresan izlenir (Şekil 1).

RPE’de lipofusin dışında FOF’a katkısı olan diğer pigmentler melanolipofusin ve melanindir. Melanolipofusin yaşla

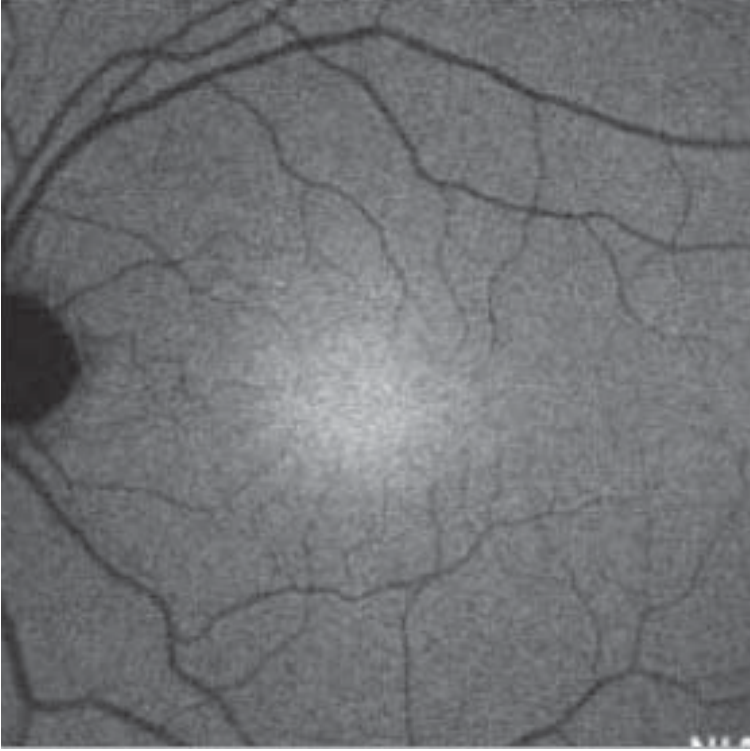


Şekil 1: Mavi ışık otoflöresansı ile makula görünümü

birlikte miktarı giderek artan melanin ve lipofusinin birleşmesinden oluşan yapıdır. Fundus, near infrared dalga boyu ışık ile uyarıldığında melanine ait otoflöresans alınabilir. Melanin kaynaklı 787 nm’de ki FOF’da en belirgin bulgu lipofusin kaynaklı FOF’un tersine foveanın karanlık değil yüksek otoflöresansa sahip olmasıdır. Çünkü fovea parafoveaya göre daha yüksek oranda melanin içermektedir (Şekil 2). Bununla birlikte melaninin absorpsiyon spektrumu geniş olduğu için kısa dalga boylu ışıkla uyarıldığında da otoflöresans oluşur ve kısa dalga boyu FOF görüntüleme bir miktar da olsa katkısı vardır.

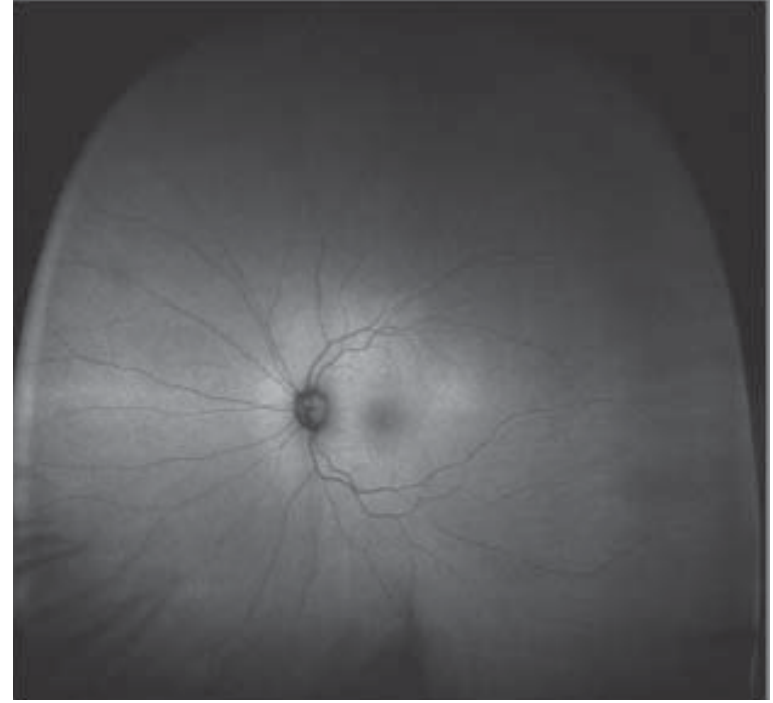
Geniş açılı fundus otoflöresans görüntüleme

Son yıllarda geniş açılı görüntüleme sistemlerinin kullanımı ile YBMD, üveitler, ve retina distrofilerinde periferik retina da otoflöresans değişiklikleri gösterilmiştir. Optos Optomap



Şekil 2: Near-infrared otoflöresans ile makula görünümü

ultrageniş açılı sistemi, konfokal tarayıcı laser teknolojisi ile 200° görüntü oluşturan elipsoid ayna yardımıyla periferik retina görüntülenebilmektedir (Şekil 3). Bu sistemde uyarıcı ışık olarak 633 nm (kırmızı) ve 532nm (yeşil) dalga boyunda laser ışığı kullanılmakta ve bariyer filtre ile 540 nm ve üzeri dalga boyları filtre edilmektedir. Bir dezavantajı görüntüde bir miktar distorsiyon olmasıdır. Temporal ve nazalde daha geniş alan görüntülenebilirken, kirpik etkisi nedeniyle üst ve özellikle de alt yarı periferik görüntüler kısıtlı olmaktadır. Sistemde 532nm dalga boyunun kullanılmasının bazı avantajları vardır. Bu dalga boyu lens tarafından daha az absorbe edilir, makula pigmentleri tarafından daha az emilir ve kollajen otoflöresansından daha az etkilenir. Bu şekilde santral patolojilerin ayırımı daha kolay yapılabilir. Korunmuş santral foveal alanlar daha iyi ayırt edilebilir. Geografik atrofide santral progresyonun değerlendirilmesinde daha yararlı olduğu bildirilmektedir.



Şekil 3: Optos ile elde edilen geniş açılı fundus otoflöresans görünümü

Heidelberg nonkontakt ultra geniş açılı sistemi ile de 105°'ye kadar retina periferi değerlendirilebilmektedir. Ancak Optos'a göre nazal ve temporal alanlar daha sınırlıdır.

Yaşa Bağlı Makula Dejeneresansı

Yaşa bağlı makula dejeneresansında FOF ile ilgili çalışmalar daha çok santral bölgeyi içermekte olup, özellikle non-ekskudatif YBMD'de santral bölgede bazı otoflöresans paternlerinin tanımlanmasını sağlamıştır.¹⁰ Takipte bu paternlerden bazılarının yaş tipe geçişte riskli olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur.¹¹ Geografik atrofi lezyonlarının FOF incelemelerinde ise atrofiyi çevreleyen ve prognostik öneme sahip olan hiperotoflöresans paternleri tanımlanmıştır.¹² Geniş açılı görüntüleme sistemlerinin kullanım alanına girmesi ile YBMD olgularında periferik FOF değişiklikleri araştırılmaya başlanmıştır. İlk kez Reznicek ve ark. tedavi edilmiş veya

edilmemiş YBMD hastalarında periferik retinada sağlıklı bireylere göre FOF yoğunluk ve düzensizliğinin artmış olduğu göstermişlerdir.¹³ Daha kapsamlı bir çalışma Tan CS ve ark. tarafından gerçekleştirilmiş, ve neovasküler YBMD olan 119 hastanın 238 gözünde periferik retinada FOF anormallikleri tesbit edilmiştir.¹⁴ En sık neovasküler tip (%86) olmak üzere, kuru tip olguların %72.8'inde, sağlıklı bireylerin ise sadece %18.4'ünde periferik retinada 3 farklı patternde (granüler, benekli ve nummular patern) otoflöresans değişiklikleri görüntülenmiştir. Bazı FOF bulgularının klinik bulgular ile korelasyon gösterdiği görülmüştür. Granüler patern periferik drusen, nummular patern kaldırım taşı dejeneresansı, benekli patern ise RPE depigmentasyonu ile ilişkilendirilmiştir. Ayrıca ileri yaş ve kadın cinsiyetin periferik FOF bulgularının oluşmasında bir risk faktörü olduğu da belirtilmiştir.

Bizim de yaptığımız bir çalışmada 221 kuru tip YBMD'li gözün %33.1'inde periferik FOF bulguları saptanmıştır (Şekil 4a, b, c).

Retina / Makula Distrofileri

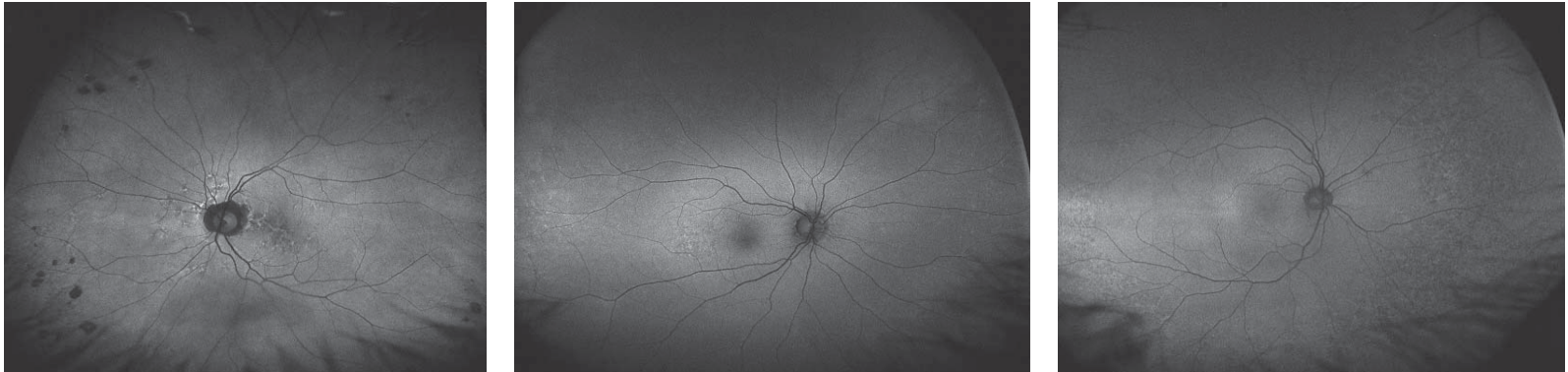
Retinitis Pigmentoza

Retinitis pigmentoza (RP), farklı klinik ve genetik özelliklere sahip, oldukça heterojen karakterli, başlangıçta rodları, ikincil olarak da konları etkileyen dejeneratif bir retina hastalığıdır. Takiplerde fotoreseptör dejenerasyonuna RPE kaybı da eklen-

mektedir. Hastalarda başlangıçta gece körlüğü yakınmasını ilerleyici görme alanı kaybı ile birlikte santral görme kaybı izler. Retinitis pigmentoza olgularında farklı FOF paternleri tanımlanmıştır. Yapılan çalışmalarda retinitis pigmentoza olgularının çoğunda maküler hiperotoflöresan halkanın varlığı gösterilmiştir.¹⁵⁻¹⁶ Bu hiperotoflöresan halka korunmuş santral fotopik fonksiyonunun sınırını göstermektedir.

Retinitis pigmentozalı hastalarda görme alanı yılda %2.6-13.5 oranında azalmakta ve ortalama 7.3 yılda yarıya düşmektedir.¹⁷ Goldmann perimetri ile mevcut görme alanı değerlendirilebilmektedir ancak perimetrinin tekrarlanabilirliği RP'li hastalarda düşüktür.¹⁸ OCT ve FOF daha objektif bulgular vermektedir.

Yapılan çalışmalarda RP'li hastalarda geniş açılı FOF görüntüleme ile retina topografisi değerlendirilebilmekte ve elde edilen görüntüler perimetrede elde edilen görme alanı defektleri ile karşılaştırılmaktadır. Ogura ve ark. retinitis pigmentoza tanısı almış 12 olgunun 24 gözünü geniş açılı FOF ve Goldmann perimetre ile değerlendirmişler ve FOF görüntülerde edilen hipootoflöresan alanların perimetredeki skotom alanlarıyla korelasyon gösterdiğini saptamışlardır.¹⁹ Sonuç olarak Optos ile elde edilen görüntüler bu hastalarda mevcut görme alanının objektif olarak değerlendirilmesini sağlamaktadır. Ayrıca hipootoflöresan alanların etrafında izlenen hiperotoflöresan bantlar da periferik görme alanı defektlerinin ilerleyeceğinin bir göstergesidir.



Şekil 4 (a, b, c): Non-eksudatif YBMD'li gözlerde periferik FOF görüntüleme ile elde edilen farklı paternler

Kon / Kon-Rod Distrofileri

Kon ve kon-rod distrofisi; görmede ilerleyici kayıp, diskromatopsi ve fotofobi semptomlarına santral skotom ve periferik alan patolojilerinin de eşlik ettiği oldukça heterojen karakterli bir retina distrofisidir. Oftalmoskopik bulgular genellikle makulaya sınırlıdır. Elektrofizyolojik testlerde skotopik ERG yanıtında hafif etkilenme ile birlikte fotopik tam alan ERG cevabında tipik olarak uzama ve amplitüt düşüklüğü saptanır. Kon distrofili olguların FOF görüntüleri her zaman tipik bulgu vermeyebilir. Makulada hedef tahtası makulopati, yada diffüz hipootoflöresans izlenebilirken, bazı olgularda non-spesifik foveal hiperotoflöresans görülür.²⁰

Kon ve kon-rod distrofili hastalarda da geniş açılı FOF ile periferik retinanın değerlendirilmesiyle elde edilen görüntüler görme alanı ve ERG bulguları ile uyumlu bulunmuştur.²¹ Anormal FOF bulgularının ilerlediği olgularda ERG'de kon, rod ve kombine cevaplarda azalma olmaktadır. Kon fonksiyonları ile anormal FOF alanı arasındaki ilişki rod fonksiyonları ile anormal FOF alanı arasındaki ilişkiden daha zayıftır. Bu da FOF'un daha çok rod fonksiyonlarını yansıttığını düşündürmektedir.

Kantitatif FOF

Otoföresan sinyal yoğunluğunun objektif olarak ölçülmesidir. Aslında otoföresansın ilk kez kantitatif olarak değerlendirilmesi 1989'da florofotometri kullanılarak gerçekleştirilmiştir.⁸ Son yıllarda farklı modifikasyonlarla, RPE'deki lipofusini yansıtan fundustaki otoföresans yoğunluğunun kantitatif olarak değerlendirilmesine yönelik yeni çalışmalar mevcuttur. Gliem ve ark. Heidelberg Retinal Anjiografi +OCT sisteminde farklı bir software kullanarak erken ve intermediate YBMD'de fundus otoföresansı kantitatif olarak değerlendirmişler, yapılan ölçümlerin sonucuna göre bu gözlerde lipofusini artışı saptamamışlardır.²² Normal gözlerle karşılaştırıldığında, yumuşak drusen, bazal laminer drusen ve retiküler pseudodrusen olan gözlerde giderek azalan düzeyde FOF değerleri elde edilmiştir. Bu çalışmalar ileride YBMD'nin patogenezi ve tedavi protokollerine ışık tutacaktır.

Makuler distrofilere de kantitatif FOF ölçümleri ile önemli sonuçlar bildirilmektedir.

ABCA4 gen mutasyonları protein fonksiyonlarının azalmasına bağlı RPE hücrelerinde bisretinoid lipofusinin artmasına, bu da gözlerin büyük bir kısmında FOF'un artmasına neden olmaktadır. Bull's eye makulopatisi olan hastalarda ABCA4 gen mutasyonunun olması veya olmaması kantitatif FOF değerlendirmesi ile mümkündür.²³ ABCA4 gen mutasyonu olan hastalarda arka kutupta yoğun hiperotoflöresans tesbit edilmektedir. Stargardt hastalarının büyük bir kısmında ABCA4 gen mutasyonu tesbit edilirken %10-15'inde herhangi bir mutasyon bulunmamaktadır.²⁴ Bu hastalardaki arka kutup hiperotoflöresansı mutasyonu olan hastalar kadar belirgin değildir.

Sonuç olarak, görüntüleme teknolojilerindeki ilerlemelere paralel olarak, retinanın gerek santral gerekse periferik bölgelelerinin FOF ile fonksiyonel olarak değerlendirilmesi, birçok hastalıkta altta yatan mekanizmaların daha iyi anlaşılması ve daha doğru takibini mümkün kılacaktır. Ayrıca başta herediter hastalıklar olmak üzere diğer dejeneratif retina hastalıklarında kantitatif FOF çalışmaları da ileride klinik tanı ve genetik testlerde yol gösterici olacaktır.

KAYNAKLAR/REFERENCES

1. Neetens A, Burvenich H. Autofluorescence of optic disc-drusen. Bull Soc Belge Ophthalmol 1977; 179: 103-110.
2. Mustonen E, Nieminen H. Optic disc drusen – a photographic study. Autofluorescence pictures and fluorescein angiography. Acta Ophthalmol (Copenh) 1982; 60: 849-858.
3. Von Rückmann A, Fitzke FW, Bird AC. Distribution of fundus autofluorescence with a scanning laser ophthalmoscope. Br J Ophthalmol 1995;79:407-412.
4. Wabbels B, Demmler A, Paunescu K, Wegscheider E, Preising MN, Lorenz B. Fundus autofluorescence in children and teenagers with hereditary retinal disease. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol 2006;244(1):36-45.
5. Boon JF, Klevering BJ, Keunen JE, Hoyng CB, Theelen T. Fundus autofluorescence imaging of retinal dystrophies. Vision Res 2008;48(26):2569-77.

6. Delori FC, Dorey CK, Staurenghi G, Arend O, Goger DG, Weiter JJ. In vivo fluorescence of the ocular fundus exhibits retinal pigment epithelium lipofuscin characteristics. *Invest Ophthalmol and Visual Sci* 1995; 36:718-729.
7. Eldred GE, Katz ML. Fluorophores of the human retinal pigment epithelium: separation and spectral characterization. *Exp Eye Res* 1988;47:71–86.
8. Kitagawa K, Nishida S, Ogura Y. In vivo quantitation of autofluorescence in human retinal pigment epithelium. *Ophthalmologica* 1989;199:116–121.
9. Delori FC, Dorey CK, Staurenghi G, et al. In vivo fluorescence of the ocular fundus exhibits retinal pigment epithelium lipofuscin characteristics. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1995;36:718–729.
10. Bindewald A, Bird AC, Dandekar SS, et al. Classification of fundus autofluorescence patterns in early age-related macular disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005;46:3309-3314.
11. Batioğlu F, Demirel S, Özmert E, Gesoğlu P. Autofluorescence patterns as a predictive factor for neovascularization. *Optom Vis Sci* 2014;91(8):950-5.
12. Bindewald A, Schmitz-Valckenberg S, Jorzik JJ, et al. Classification of abnormal fundus autofluorescence patterns in the junctional zone of geographic atrophy in patients with age related macular degeneration. *Br J Ophthalmol*. 2005;89(7):874-878.
13. Reznicek L, Wasfy T, Stumpf C, et al. Peripheral fundus autofluorescence is increased in age-related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012;53:2193–8.
14. Tan CS, Heussen F, Sadda SR. Peripheral Autofluorescence and Clinical Findings in Neovascular and Non-neovascular Age Related Macular Degeneration. *Ophthalmology* 2013;120:1271-1277.
15. Murakami T, Akimoto M, Ooto S, et al. Association between abnormal autofluorescence and photoreceptor disorganization in retinitis pigmentosa. *Am J Ophthalmol* 2008;145(4):687– 694.
16. Lima LH, Cella W, Greenstein VC, et al. Structural assessment of hyperautofluorescent ring in patients with retinitis pigmentosa. *Retina* 2009;29(7):1025–1031.
17. Berson EL, Sandberg MA, Rosner B, Birch DG, Hanson AH. Natural course of retinitis pigmentosa over a three-year interval. *Am J Ophthalmol* 1985;99(3):240–251.
18. Fischer MD, Fleischhauer JC, Gillies MC, Sutter FK, Helbig H, Barthelmes D. A new method to monitor visual field defects caused by photoreceptor degeneration by quantitative optical coherence tomography. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008;49(8):3617–3621.
19. Ogura S, Yasukawa T, Kato A, et al. Wide-field fundus autofluorescence imaging to evaluate retinal function in patients with retinitis pigmentosa. *Am J Ophthalmol* 2014;158: 1093–1098.
20. Wang NK, Chou CL, Lima LH, et al. Fundus autofluorescence in cone dystrophy. *Doc Ophthalmol*. 2009;119(2):141-4.
21. Oishi M, Oishi A, Ogino K, et al. Wide-field fundus autofluorescence abnormalities and visual function in patients with cone and cone-rod dystrophies. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2014;55:3572-7.
22. Gliem M, Müller PL, Finger RP, et al. Quantitative fundus autofluorescence in early and intermediate age-related macular degeneration. *JAMA Ophthalmol* 2016;134(7):817-24.
23. Duncker T, Tsang SH, Lee W, et al. Quantitative fundus autofluorescence distinguishes ABCA4-associated and non-ABCA4-associated Bull's-Eye Maculopathy. *Ophthalmology* 2015;122(2):345-55.
24. Zernant J, Schubert C, Im KM, et al. Analysis of the *ABCA4* gene by next-generation sequencing. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2011; 52(11):8479–87.