

眼底自发荧光在视网膜疾病中应用新进展

周芸芸 陈长征 文峰

【摘要】 眼底自发荧光技术是一种新近发展的非侵入性检查方法,利用它可以发现视网膜色素上皮层的某些改变,因此在视网膜疾病中有广泛的用途。本文介绍了眼底自发荧光技术在视网膜疾病中应用新进展。

【关键词】 自发荧光; 视网膜疾病; 光学相关断层成像

自发荧光是一种物理现象,当用一定波长的光照射某种物质时,这种物质会在极短的时间内发射出比照射波长要长的可见光,这种光就为自发荧光(autofluorescence, AF)。下面分别介绍眼底自发荧光的原理、检测方法、在各种视网膜疾病中的表现及与其他眼科检查技术的关系。

眼底自发荧光的原理

眼科应用的自发荧光技术是利用细胞中脂褐质的特性设计而成的。脂褐质是眼底的主要荧光物质^[1]。主要存在于视网膜色素上皮细胞(retinal pigment epithelium, RPE)中,它是细胞代谢产物堆积的结果,是细胞吞噬光感受器外节盘膜后形成的。不同的视网膜疾病,其RPE中的脂褐质会发生不同的改变,因此我们就可以利用AF来研究视网膜疾病。

眼底自发荧光的检测方法

眼底自发荧光可按照标准程序通过共焦扫描激光眼底镜(confocal scanning laser ophthalmoscope, cSLO)来记录。cSLO有以下几种类型:Heidelberg retina angiograph(HRA), Rodenstock Cslo (RcSLO)和ZeiSS PrototypeSM30-4024(ZcSLO)^[12]。激发光为波长为488nm的氩激光,滤过光栅HRA为500nm, RcSLO为515nm, ZcSLO为521nm,用来排除低于相应波长光的干扰。在照相前先将瞳孔放大,以大于6mm为宜。必要时使用屈光不正矫正器,确保能聚焦在视网膜中央。为了能看清视网膜

血管和视乳头等结构,氩激光束的敏感度在使用前要校准。照相结束后,从获得的一系列图像中挑选合适的图片,运用分析软件来获得均值图像,用来观察自发荧光的空间分布。

眼底自发荧光的临床运用

1. 年龄相关性黄斑变性

关于年龄相关性黄斑变性(age-related macular degeneration, AMD),很多学者都发现有后极部的局部高荧光^[21-25]。Einbock等^[2]通过对125例年龄相关性黄斑变性患者眼底AF研究发现局部高荧光可能与色素增生及玻璃膜疣等有关。网状的玻璃膜疣通常表现为小区域的低荧光,周围环绕正常荧光这一网状荧光表现。这可能是由于在分散的玻璃膜疣中,仅有薄层的脂褐质在RPE层中^[3]。他们通过观察发现,大的玻璃膜疣荧光改变较小的玻璃膜疣明显。然而,并不是所有玻璃膜疣都表现为高荧光,有些玻璃膜疣表现为低荧光。眼底彩照提示的低色素区在AF上表现为低荧光,可能与该区RPE缺失或变性有关。Dandekar等^[4]对65例伴发脉络膜新生血管(choroidal neovascular, CNV)的AMD患者的自发荧光照片与眼底血管荧光造影照片进行比较。通过观察发现,近期CNV患者AF明显异常区域比眼底血管造影显示出的异常荧光区域大,而中晚期CNV患者中,AF减弱的区域对应的眼底荧光血管造影显示为既往渗漏区或萎缩区。由此他们推测近期CNV的RPE活力尚可,而中晚期CNV的RPE功能丧失。

2. 视网膜色素变性

Von Rückmann等^[26]观察视网膜色素变性(retinal pigmentosa, RP)患者的AF发现外层视网膜萎缩区表现为低的自发荧光,在黄斑区可见异常

作者单位: 430030 武汉,武汉大学人民医院眼科(周芸芸 陈长征); 中山大学中山眼科中心(文峰)

通讯作者: 陈长征, E-mail: whuchenchzh@163.Com

高的自发荧光。脂褐质的沉积导致高荧光可能是由于光感受器细胞的高代谢状态或RPE中遗留的荧光物质处于分裂状态中^[8-9]。Robson等^[5]发现他们观察的RP的患者均有视杆—视锥营养不良,眼底AF有黄斑中心凹旁环形高密度荧光,且患者间高密度AF圆环的大小不一(直径 $4^{\circ} \sim 16^{\circ}$)。随访发现AF随黄斑功能不良的进展可进行性萎缩。Popovic等^[6]发现自发荧光环的半径大小与年龄的负相关性。他们认为随着病程的进展,AF环不断地向中心凹收缩,同时环外AF不断融合并减弱。Wegscheider等^[7]报道合并有RPGR变异地X连锁视网膜色素变性(X-linked retinitis pigmentosa, XLRP)患者的AF表现各不相同。这些眼底自发荧光的不同表现,可能是由于这些荧光物质所在的位置不同及荧光类型不同造成的。

3. Best病

Wabbels等^[10]对携带有hBEST1变异的Best病患者进行观察发现眼底脂褐质样物质的分布极易通过AF发现。通过对患者行3~6年随访发现,在假性前房积液及卵黄样病变破裂期,AF增强区显得没有连贯性,且有离心兼向下的运动趋势。而在纤维化期,自发高荧光在病变区逐渐消退为一个斑点。由于瘢痕和出血导致视力下降的患者常有较不规则的自发高荧光,这与Jarc-Vidmar等^[11]对Best病进行临床分型的AF发现相一致。在随访过程中,病变的大小范围并没有发生明显改变,但通过AF很容易发现病变的内层结构发生了明显的改变。同时,卵黄样病变致使AF增强,提示黄色素内可能包含有部分脂褐质。

4. Leber先天性黑朦

Leber先天性黑朦(Leber congenital amaurosis, LCA)患者的视力多仅有光感,且视网膜电图一般测不出。Scholl等^[12]观察LCA的AF发现两位患者的中心凹周围轻度增高的环状高荧光,一位患者的AF正常。他们认为在LCA患者中可观察到AF说明光感受器细胞有持续的代谢需要,RPE及光感受器细胞至少还有解剖上的关联,但此时光感受器细胞已丧失功能。另位20余年来视力极差的LAC患者AF正常,他们推测光感受器细胞的功能是可修复的,但此还需要大量的实验来证明。

5. Stargardt病

Lois等^[14]报道一位Stargardt病患者的AF有如下特点:背景荧光普遍增强,中央黄斑区低荧光,其周围环绕着点状的或高或低的荧光。Lois等^[15]认为

那些AF表现为中心低荧光同时鼻侧也是低荧光或正常的患者较那些表现为高荧光的患者更易出现管状视野及视杆细胞功能障碍。Cideciyan等^[16]认为伴发于ABCA4突变的疾病开始表现为正常AF,后来表现为高荧光,再接着表现为低荧光,可能提示病情恶化。

6. X连锁青年性视网膜劈裂症

AF在X连锁青年性视网膜劈裂症(X-linked juvenile retinoschisis, XLRs)中并不是一种常规诊断工具。Wabbels等^[17]发现XLRs的AF与中心凹视网膜破裂症的AF相似。虽然随着病程的进展,RPE会发生改变^[18],但XLRs的特征性改变是视网膜神经上皮层本身的层间裂开,这在光学相干断层成像(optical coherence tomography, OCT)上很容易发现^[19]。

眼底自发荧光技术与其他眼科检查技术的关系

Souka等^[20]报道了一例急性后部多发性鳞状色素上皮病变(acute posterior multifocal placoid pigment epitheliopathy, APMPPE)的病例。他们用眼底荧光血管造影、OCT及AF等多种方法对该患者进行检查,经过分析他们认为虽然通过眼底荧光血管造影就可以对该病做出诊断,但是AF及OCT对于解释该病的病因、组织病理学、病理生理学及病理学的变化有很大的帮助。在急性期,OCT显示在视网膜外层可见高反射信号,同时视网膜的厚度并没有明显变化。可能是由于该区炎症反应时白细胞在该处聚集,但由于炎症反应不是很严重,以致视网膜厚度没有明显变化。在此期AF表现为低荧光。四周后随访,OCT恢复正常,而AF表现为高荧光,表示RPE代谢增强。由此可推测,对于该患者,APMPPE最先累及RPE,而不是继发于脉络膜血管阻塞(可由眼底血管荧光造影看出)。Popovic等^[6]对RP患者行AF、视野及视网膜电图检查发现,周边视野越好的患者,AF高荧光环的直径就越大,相关系数为0.82。图形视网膜电图与AF的高荧光环的直径成线性相关,与P50的相关系数为0.72,与N95的相关系数为0.74。Wabbels等^[10]也发现眼底自发荧光增强的区域与眼底镜看见的损害及OCT的低反射结构有明显相关。关于AF与其他眼科检查技术如OCT、微视野及视网膜电图等的关系,还需要积累大量病例来进一步研究其相关性。

随着对AF的深入研究,AF在疾病中的诊断作用受到临床眼科医生的关注,特别是对尚处于早期

的疾病,眼底可能未发现什么异常,但 AF 可能已经发生了改变,为早期诊断和治疗提供了时机。但同时我们也应该看到 AF 的不足之处,如对于视网膜增厚和视网膜水肿的患者,自发荧光被遮挡看不见,这就需要结合吲哚青绿血管造影(indocyanine green angiography, ICGA)等检查来综合判断。关于 AF 的原理以及在各种视网膜疾病中的表现,还值得更进一步的研究,以发挥 AF 在视网膜疾病的诊断及判断预后等方面的作用。

参考文献

- Spiral G, Radermacher M, Muller C, et al. Autofluorescence characteristics of lipofuscin components in different forms of late senile macular degeneration. *Klin Monatsbl Augenheilkd*, 1998, 213(1): 23-31.
- Einbock W, Midssner A, Schnurrbusch UEK, et al. Changes in fundus autofluorescence in patients with age-related maculopathy. Correlation to visual function: a prospective study. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 2005, 243: 300-305.
- Green WR, Enger C. Age-related macular degeneration histopathologic studies. *Ophthalmology*, 1993, 100: 1519-1535.
- Dandekar SS, Tenkins SA, Peto FS. Autofluorescence imaging of choroidal neovascularization due to age-related macular degeneration. *Arch Ophthalmol*, 2005, 123(11): 1507-1513.
- Robson AG, Saihan Z, Tenkins SA, et al. Functional characterization and serial imaging of abnormal fundus autofluorescence in patients with retinitis pigmentosa and normal visual acuity. *Br J Ophthalmol*, 2006, 90(4): 472-479.
- Popovic P, Jarc-Vidmar M, Hawlina M. Abnormal fundus autofluorescence in relation to retinal function in patients with retinitis pigmentosa. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 2005, 243: 1018-1027.
- Wegscheider E, Preising MN, Lorenz B. Fundus autofluorescence in carriers of X-linked recessive retinitis pigmentosa associated with mutations in RPGR, and correlation with electrophysiological and psychophysical data. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 2004, 242:501-511.
- Kennedy CJ, Rakoczy PE, Constable JJ. Lipofuscin of the retinal pigment epithelium: a review. *Eye*, 1995, 79:407-412.
- Von Ruckmann A, Fitzke FW, Bird AC. Distribution of fundus autofluorescence with scanning laser ophthalmoscope. *Br J Ophthalmol*, 1995, 79: 407-412.
- Wabbels B, Preising MN, Kretschmann U, et al. Genotype-phenotype correlation and longitudinal course in ten families with Best vitelliform macular dystrophy. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 2006, 244:1453-1466.
- Jarc-Vidmar M, Kraut A, Hawlina M. Autofluorescence imaging in Bests vitelliform dystrophy. *Klin Monatsbl Augenheilkd*, 2003, 220: 861-867.
- Bellmann C, Rubin GS, Kabanarou SA. Fundus autofluorescence imaging compared with different confocal scanning laser ophthalmoscopes. *Br J Ophthalmol*, 2003, 87:1381-1386.
- Scholl HP, Chong NH, Robson AF, et al. Fundus autofluorescence in patients with leber congenital amaurosis. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2004, 45: 2747-2752.
- Lois N, Halfyard AS, Bird AC, et al. Quantitative evaluation of fundus autofluorescence imaged "in vivo" in eyes with retinal disease. *Br J Ophthalmol*, 2000, 84: 741-745.
- Lois N, Halfyard AS, Bird AC, et al. Fundus autofluorescence in stargardt macular dystrophy-fundus flavimaculatus. *Am J Ophthalmol*, 2004, 138: 55-63.
- Cideciyan AV, Aleman TS, Swider M, et al. Mutatin in ABCA4 result in accumulation of lipofuscin before slowing of the retinoid cycle: a reappraisal of the human disease sequence. *Hum Mol Genet*, 2004, 13: 525-534.
- Wabbels B, Demmler A, Pqunesco K, et al. Fundus autofluorescence in children and teenagers with hereditary retinal disease. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 2006, 244: 36-45.
- Tantri A, Vrabc TR, Cu-Unjieng . et al. X-linked retinoschisis: a clinical and molecular genetic review. *Surv Ophthalmol*, 2004, 49: 214-230.
- Ozdemir H, Karacorlu S, Karacorlu M. Optical coherence tomography findings in familial foveal retinoschisis. *Am J Ophthalmol*, 2004, 137: 179-181.
- Souka AAR, Hillenkamp J, Gabel VP, et al. Correlation between optical coherence tomography and autofluorescence in acute posterior multifocal placoid pigment epitheliopathy. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 2006, 244:1219-1223.
- Scholl HPN, Bellmann C, Dandekar SS, et al. Photopic and scotopic fine matrix mapping of retinal areas of increased fundus autofluorescence in patients with age-related maculopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2004, 45: 574-583.
- Von Ruckmann A, Fitzke FW, Bird AC. Fundus autofluorescence in age-related macular disease imaged with a laser scanning ophthalmoscope. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 1997, 38: 478-486.
- Delori FC, Fleckner MR, Goger DG, et al. Autofluorescence distribution associated with drusen in age-related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2000, 41: 496-504.
- Arend O, Weiter JJ, Goger DG, et al. In vivo fluorescence measurements in patients with age related macular degeneration. *Ophthalmology*, 1995, 92(5): 647-653.
- Lois N, Owens SL, Coco R, et al. Fundus autofluorescence in patients with age-related macular degeneration and high risk of visual loss. *Am J Ophthalmol*, 2002, 133(3): 341-349.
- VonRückmann A, Fitzke FW, Bird AC. Distribution of pigment epithelium autofluorescence in retinal disease state recorded in vivo and its change over time. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 1999, 237(1): 1-9.

(收稿时间: 2007-06)