

眼底自发荧光技术在眼科中的应用

陈辉

Clinical application of fundus autofluorescence technique

Hui Chen

Eye Hospital, Wenzhou Medical College, Wenzhou 325027, Zhejiang Province, China

Received: 2004-03-05

Abstract

Fundus autofluorescence is a recently advanced technique in ophthalmoscopic imaging. It can visualize the retinal pigment epithelium (RPE) by taking advantage of its autofluorescence derived from lipofuscin. It also can observe the intensity and distribution of fundus autofluorescence in eyes of various retinal diseases, which is helpful to ascertain diagnosis and to evaluate prognosis. In this paper, we reviewed basic theory of fundus autofluorescence and its clinical application in various retinal diseases.

KEYWORDS autofluorescence; lipofuscin; retinal diseases

Chen H. Clinical application of fundus autofluorescence technique. *Int J Ophthalmol*, 2004;4(3):488-491

摘要

眼底自发荧光是一种新近发展的眼底成像技术,它能显示RPE的分布情况。观察自发荧光的分布及其强度,有助于确定某些视网膜疾病的诊断及预后评价。本文就自发荧光的基本原理及其在各种视网膜疾病中的表现作一综述。

关键词:自发荧光;脂褐质;视网膜疾病;综述文献

陈辉. 眼底自发荧光技术在眼科中的应用. 国际眼科杂志, 2004;4(3):488-491

0 引言

利用共焦扫描激光眼底镜(cSLO)获得的自发荧光图能够提供活体眼视网膜色素上皮(RPE)中脂褐质的详细分布情况,显示以往不可见的结构。还可以用来分析RPE代谢及变化的情况。精确的RPE自发荧光分布图,直视下特殊区域定量测量脂褐质聚集、降解、清除的动态研究能为RPE荧光表现和视网膜疾病之间的关系提供一定的信息。

1 自发荧光的产生

1.1 自发荧光的物质基础 自发荧光是一种物理现象,当用一种波长的光(如紫外光)照射某种物质时,这种物质会在极短的时间内发射出较照射波长为长的光(可见的光),这种光就称为自发荧光。在眼球壁的各层组织都会产生这种现象,如RPE细胞中的脂褐质,脉络膜组织及巩膜组织。各种病变也会发生自发荧光,如玻璃膜疣。眼科应用的自发荧光技术是利用RPE细胞中脂褐质的特性设计而成的。Peter等^[1]研究RPE和脉络膜中氧化黑色素强黄光荧光团的性质。自然发生的原位黑色素氧化表现为脂褐质样黄荧光。在活体中黑色素的氧化导致多聚黑色素的降解,形成可溶的荧光素。最大激发波长在470nm,最大发射波长在540nm,过多的曝光会使黑色素荧光性增加。Spital等^[2]提出脂褐质是眼底的主要荧光物质,它是RPE细胞代谢产物堆积的结果,是RPE细胞吞噬光感受器外节盘膜后形成的。自发荧光可以作为临床上RPE细胞代谢活力的一个指标,用来研究不同类型老年黄斑变性RPE细胞的功能。Liu等^[3]也认为自发荧光物质是脂褐质,随年龄堆积在RPE细胞中,使细胞功能逐渐下降。A2E是主要的脂褐质荧光团,是视

黄醛衍生物的吡啶盐。Haralamus-Grynaviski 等^[4]用荧光分光镜和共焦显微镜研究脂褐质颗粒的发射波长的特性。脂褐质颗粒是一种聚合体结构。发射光线的偏振现象与波长相关。在激发光波长处表现明显偏振现象,这说明发射黄光的荧光团(如 A2E)不是脂褐质中吸收蓝光的主要物质。Ben-Shabat 等^[5]发现 A2-PE 是 A2E 的前体,在感受器外节盘膜,光照诱导产生内源性全反式视黄醛形成 A2-PE。A2-PE 随曝光率而增加,加酸水解生成 A2E,但这个过程非常缓慢。检测磷酸二酯酶活性可以提示 A2-PE 的一部分正在发生水解反应。RPE脂褐质还包括一些 A2E 异构体。

1.2 各种自发荧光的鉴别 Marmorstein 等^[6]比较了 AMD 眼及正常对照眼 RPE 中脂褐质,Bruch 膜,色素上皮皮下沉积物自发荧光光谱的特点。RPE 脂褐质在所有波长的激发下都有很强的自发荧光,Bruch 膜在 364nm 波长的激发下在 485±5 nm 处有很强的自发荧光。正常眼,在 488,568 和 633nm 波长激发下,Bruch 膜和色素上皮皮下沉积物自发荧光最弱。

2 自发荧光的分布

Bellmann 等^[7]用 cSLO 研究眼底自发荧光的地形学特征。由于叶黄素的存在,中心凹和旁中心凹区自发荧光减弱,视网膜血管处,视乳头和色素上皮萎缩区也表现为荧光减弱区。在一些变性或遗传性病变中,自发荧光可以表现为局部和弥漫性增强。Delori 等^[8]用眼底分光光度计,对正常人和患者的黄斑中心凹及中心凹颞侧 7° 区进行自发荧光测量,来描述自发荧光相关的激发和发射光谱,与年龄的关系,视网膜定位和地形图的特征。认为自发荧光的发射波长在 500 和 750nm 之间,最大约 630nm,最佳约 510nm。荧光在 7°~15° 之间区域最高,向周边减低,并随年龄而增强。Delori 等^[9]研究表明脂褐质荧光在 70 岁以前呈线性上升,以后则下降。脂褐质在中心凹的堆积速率要明显慢于颞侧,在活体中的堆积速率要快于显微镜中所观察到。中心凹处的自发荧光要比偏心 7° 的低 40%,并且围绕中心凹呈不对称分布。荧光最强处分别在颞侧 11°,鼻侧 7°,上方 13°,下方 9°。在相同的偏心度,下方子午线的荧光要比其他子午线的弱。

3 自发荧光的检测

Bellmann 等^[10]用不同的共焦扫描激光眼底镜, Heidelberg retina angiograph(HRA), Rodenstock cSLO

(RcSLO)和 Zeiss Prototype SM 30-4024 (ZcSLO)。对正常人及不同视网膜疾病的患者进行自发荧光检查。激发光为氩 488 nm,滤过屏障 HRA 500 nm, RcSLO 515 nm, ZcSLO 521 nm。发现所有 cSLOs 对视网膜疾病都能表现出临床有意义的自发荧光图,但是 RcSLO 的灰阶水平和对比度较低,因此,与 HRA 和 RcSLO 相比, RcSLO 的自发荧光图较暗。Lois 等^[11]进行了自发荧光重复性的研究。不同的操作者用 cSLO 对正常和有视网膜疾病的患者进行眼底自发荧光,提示眼底自发荧光具有较好的重复性。

4 自发荧光的临床应用

4.1 光凝后的检测 微脉冲半导体激光是阈下光凝,光凝斑在眼底镜下不可见,为了确定治疗效果和防止重复治疗,需要用眼底荧光血管造影来显示已经治疗部位。Roider 等^[12]发现玻璃膜疣和糖尿病视网膜病变黄斑水肿患者用微脉冲激光治疗后 2h,眼底荧光血管造影可以观察到色素上皮细胞的改变。自发荧光是新近发展的检测光凝损伤的一种非侵入性技术。一般认为自发荧光来自于 RPE 细胞中的脂褐质,它是光感受器外节盘膜的降解产物。正常眼底自发荧光呈弥散分布,在中心凹、视乳头、视网膜血管下自发荧光的亮度下降。Framme 等^[13]对 26 例黄斑病变的患者进行阈下光凝后的自发荧光研究,发现有 22 例患者的自发荧光发生了改变,1h 后光凝区表现为低荧光,随着时间的增加,逐渐变成了高荧光。对于这种荧光强度的改变认为与色素上皮细胞的增殖有关,但还需要动物实验进一步证实。

4.2 各种视网膜疾病眼底自发荧光的表现

4.2.1 年龄相关性黄斑变性 Scholl 等^[14]发现在年龄相关性黄斑变性(AMD)患者自发荧光增强的视网膜区域暗适应敏感度的丢失要大于明适应。这个结果与组织学证实的 AMD 中首先杆细胞受损相一致,但是不能解释敏感度下降的程度。此研究提示在 AMD 中,增强的自发荧光与功能相关。von Ruckmann 等^[15]用共焦扫描激光眼底镜分别对正常人,玻璃膜疣,和年龄相关性黄斑变性患者进行眼底自发荧光的研究。发现正常人自发荧光在后极部最亮,在黄斑区较暗,后极部的自发荧光随年龄而增强 AMD 患者表现为局部高荧光,但与玻璃膜疣不相对应。在脉络膜新生血管可以看到高低都有的自发荧光。Delori 等^[16]用自发荧光对玻璃膜疣的眼底进行脂褐质分布的研究。在 60~170μm 的干性和湿

性玻璃膜疣中,可以表现为特殊形式的自发荧光,中央区自发荧光减弱,周围有一环状荧光增强带。这种形式的分布与玻璃膜疣的位置密切相关。中央低荧光区要比背景荧光低16%,而环状增强荧光要比背景强6%。大于175 μ m软性玻璃膜疣可以表现为多发性的低荧光区。Arend等^[17]发现在AMD患者其脂褐质光谱范围可以被鉴别出来并能定量。此外光谱还受其他荧光物质如玻璃膜疣、脉络膜萎缩区的影响。在AMD患者中,测量荧光光谱可以用来鉴别脂褐质荧光、玻璃膜疣荧光、巩膜或脉络膜荧光。这种技术有助于检测病情,了解演化。Lois等^[18]发现在中心凹处较大的玻璃膜疣处有相应的自发荧光的改变,而小的玻璃膜疣,看不到自发荧光的变化。认为玻璃膜疣和自发荧光是两种与年龄相关独立的改变。Spital等^[19]用自发荧光检测各种类型晚期AMD的RPE功能,在RPE脱离、RPE撕裂或隐匿性CNV,由于RPE的增殖或巨噬细胞的代谢活动,表现自发荧光增强,在隐匿性或典型性新生血管也可出现自发荧光的减弱,可能与RPE的代谢失调甚至是RPE的丧失有关。

4.2.2 视网膜色素变性 Robson等^[20]对30例视网膜色素变性患者同时进行图形视网膜电图和自发荧光的检测,发现两者具有高度相关性,证实自发荧光的异常对中心视网膜功能具有特殊的意义,在视网膜色素变性患者的监测中提供有价值的参数。von Rückmann等^[21]对视网膜色素变性和视-锥营养不良的患者,对应于外层视网膜萎缩区,表现为低的自发荧光。在黄斑区可以看到异常高的自发荧光。他认为在所有视网膜色素变性患者中,自发荧光物质在RPE的堆积发生在疾病进展的某些阶段,如果这些现象只发生在一些患者中,眼底自发荧光图像可以用来鉴别I型视网膜色素变性(弥漫性),暗适应敏感度下降,光感受器有正常含量的视紫质。而II型色素变性(局部性),早期就有光感受器的损伤。I型色素变性脂褐质正常,而II型的含量下降。

4.2.3 遗传性黄斑变性 von Rückmann等^[22]用cSLO研究遗传性黄斑变性患者自发荧光强度和分布特性,并与眼底表现及荧光素血管造影进行比较。背景荧光普遍增强,色素上皮白色沉积物表现为比背景更强的荧光。自发荧光强度与荧光素血管造影显示脉络膜黑影症无明显相关性。在一个具有突变基

因能够产生黄斑变性的受试者中表现出增强的自发荧光,但没有发现可以看到的眼底改变和功能异常。von Rückmann等^[23]对不同黄斑变性患者进行自发荧光检测,用来研究局部沉积物的组成特性。黄斑萎缩中局部沉积物的自发荧光增强,而年龄相关的玻璃膜疣的自发荧光在正常范围。背景自发荧光的强度在黄斑萎缩患者中增强。Jarc-Vidmar^[24]研究不同阶段卵黄样变性自发荧光的特点,早期表现为中心凹局部区域的高荧光,以后中央逐渐出现低荧光,周边伴有周边环状高荧光。

4.2.3 黄斑裂孔 von Rückmann等^[25]对50例特发性黄斑裂孔和黄斑假性裂孔患者,用共焦扫描激光眼底镜对自发荧光的亮度和分布进行了研究,并与荧光素血管造影的结果相比较。黄斑裂孔表现为高荧光,与荧光素血管造影的图像相似。黄斑假性裂孔则没有这样的自发荧光表现。2期和3期的黄斑裂孔表现局部减弱的自发荧光。与正常眼背景荧光相比,视网膜局部隆起和网膜下液表现为荧光减弱。对于黄斑裂孔的诊断,自发荧光与荧光素血管造影具有相似的准确性。作为一种非侵入性,快速的诊断技术,在全层黄斑裂孔的评价和鉴别诊断中,自发荧光技术可以代替荧光素血管造影。

4.2.4 中心性浆液性视网膜脉络膜病变 von Rückmann等^[26]报道急慢性中心性浆液性视网膜脉络膜病变(CSC)患者异常的眼底自发荧光表现。用CLSO记录眼底自发荧光并与眼底表现及荧光素血管造影比较,Amo以上急性CSC对应于脱离区有轻微的弥漫性自发荧光增强,造影显示的渗漏点表现为局部区域的高荧光,提示色素上皮细胞代谢活动的增强。慢性CSC的自发荧光不规则,可以表现为比背景荧光增强或减弱,与光感受器丧失导致色素上皮细胞代谢活动下降有关。

4.2.4 弹力纤维假黄瘤 Shiraki等^[27]研究了弹力纤维假黄瘤(PXE)自发荧光的特性,发现在脉络膜萎缩和血管样条纹区,萎缩和变性的RPE表现为眼底自发荧光的降低,而一些玻璃膜疣样点表现为自发荧光增强。这些玻璃膜疣样物质与老年性玻璃膜疣不同,但与黄斑变性中见到的色素上皮沉积物相似。

5 展望

自发荧光是反映RPE细胞功能的一种图像技术,是组织学研究的有益补充。动态观察眼底自发

荧光的强度和空间分布,可以预测疾病预后,检测病情的进展,正确了解发病机制。但是自发荧光的表现复杂多变,不同疾病可以表现为相同的图像特征,而相同疾病不同阶段具有相似的自发荧光图。因此,对自发荧光还需要进行系统、大量的临床和实验研究,以完善这种技术。

参考文献

- 1 Peter K, Gabriele T, Thomas TL, Jordan JF, Bartz-Schmidt KU, Esser PJ. Oxidation Causes Melanin Fluorescence. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2001; 42:241-246
- 2 Spital G, Radermacher M, Muller C, Brumm G, Lommatzsch A, Pauleikhoff D. Autofluorescence characteristics of lipofuscin components in different forms of late senile macular degeneration. *Klin Monatsbl Augenheilkd*, 1998;213(1):23-31
- 3 Liu JH, Itagaki Y, Ben-Shabat S, Nakanishi K, Sparrow JR. A2E-epoxides damage the biosynthesis of A2E, a fluorophore of aging retina, involves the formation of the precursor, A2-PE, in the photoreceptor outer segment membrane. *J Biol Chem*, 2000;275(38):29354-29360
- 4 Haralampus-Grynawski NM, Lamb LE, Clancy CM, Skumatz C, Burke JM, Sarna T, Simon JD. Spectroscopic and morphological studies of human retinal lipofuscin granules. *PNAS*, 2003;100(6):3179-3184
- 5 Ben-Shabat S, Parish CA, Vollmer HR, Itagaki Y, Fishkin N, Nakanishi K, Sparrow JR. Biosynthetic studies of A2E, a major fluorophore of retinal pigment epithelial lipofuscin. *J Biol Chem*, 2002;277(9):7183-7190
- 6 Marmorstein AD, Marmorstein LY, Sakaguchi H, Joe G. Spectral. Spectral profiling of autofluorescence associated with lipofuscin, Bruch's membrane, and sub-RPE deposits in normal and AMD eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2002;43:2435-2441
- 7 Bellmann C, Holz FG, Schapp O, Volcker HE, Otto TP. Topography of fundus autofluorescence with a new confocal scanning laser ophthalmoscope. *Ophthalmologe*, 1997;94(6):385-391
- 8 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
- 9 Delori FC, Douglas G, Gogerand CK. Age-related accumulation and spatial distribution of lipofuscin in RPE of normal subjects. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2001;42:1855-1866
- 10 Bellmann C, Rubin GS, Kabanarou SA. Fundus autofluorescence imaging compared with different confocal scanning laser ophthalmoscopes. *Br J Ophthalmol*, 2003;87:1381-1386
- 11 Lois N, Halfyard AS, Bunce C, Bird AC, Fitzke FW. Reproducibility of fundus autofluorescence measurements obtained using a confocal scanning laser ophthalmoscope. *Br J Ophthalmol*, 1999;83(3):276-279
- 12 Roider J, Brinkmann R, Wirbelauer C. Subthreshold (retinal pigment epithelium) photocoagulation in macular disease: a pilot study. *Br J Ophthalmol*, 2000;84:40-47
- 13 Framme C, Brinkmann R, Birngruber R. Autofluorescence imaging after selective RPE laser treatment in macular diseases and clinical outcome: a pilot study. *Br J Ophthalmol*, 2002;86:1099-1106
- 14 Scholl HPN, Bellmann C, Dandekar SS, Bird AC, Fitzke FW. 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
- 15 von Rückmann 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
- 16 Delori FC, Fleckner MR, Goger DG, Weiter JJ, Dorey. Autofluorescence distribution associated with drusen in age-related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2000;41:496-504
- 17 Arend O, Weiter JJ, Goger DG, Delori FC. *In vivo* fundus fluorescence measurements in patients with age related macular degeneration. *Ophthalmologe*, 1995;92(5):647-653
- 18 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(3):341-349
- 19 Spital G, Radermacher M, Muller C, Brumm G, Lommatzsch A, Pauleikhoff D. Autofluorescence characteristics of lipofuscin components in different forms of late senile macular degeneration. *Klin Monatsbl Augenheilkd*, 1998;213(1):23-31
- 20 Robson AG, El-Amir A, Bailey C, Egan CA, Fitzke FW, Webster AR, Bird AC, Holder GE. Pattern ERG correlates of abnormal fundus autofluorescence in patients with retinitis pigmentosa and normal visual acuity. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2003;44:3544-3550
- 21 von Rückmann 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
- 22 von Rückmann A, Fitzke FW, Bird AC. *In vivo* fundus autofluorescence in macular dystrophies. *Arch Ophthalmol*, 1997;115(5):609-615
- 23 von Rückmann A, Schmidt KG, Fitzke FW, Bird AC, Jacobi KW. Fundus autofluorescence in patients with hereditary macular dystrophies, malattia leventinese, familial dominant and aged-related drusen. *Klin Monatsbl Augenheilkd*, 1998;213(2):81-86
- 24 Jarc-Vidmar M, Kraut A, Hawlina M. Fundus autofluorescence imaging in Best's vitelliform dystrophy. *Klin Monatsbl Augenheilkd*, 2003;220(12):861-867
- 25 von Rückmann A, Fitzke FW, Gregor ZJ. Fundus autofluorescence in patients with macular holes imaged with a laser scanning ophthalmoscope. *Br J Ophthalmol*, 1998;82:346-351
- 26 von Rückmann A, Fitzke FW, Fan J, Halfyard A, Bird AC. Abnormalities of fundus autofluorescence in central serous retinopathy. *Am J Ophthalmol*, 2002;133(6):780-786
- 27 Shiraki K, Kohno T, Moriwaki M, Yanagihara N. Fundus autofluorescence in patients with pseudoxanthoma elasticum. *Int Ophthalmol*, 2001;24(5):243-248