

# Adaptive Optiken – Möglichkeiten für die Diagnostik hereditärer Netzhauterkrankungen

## Potential of Adaptive Optics for the Diagnostic Evaluation of Hereditary Retinal Diseases

### Autoren

J. L. Reiniger\*, N. Domdei\*, M. Pfau, P. L. Müller, F. G. Holz, W. M. Harmening

### Institut

Universitäts-Augenklinik Bonn, Universitätsklinikum Bonn

### Schlüsselwörter

adaptive Optiken, funktionelle Bildgebung, In-vivo-Histologie, Neuroretina, Mikrostimulation, Psychophysik

### Key words

functional imaging, in vivo histology, neuroretina, psychophysics, microstimulation, adaptive optics

eingereicht 7. 10. 2016

akzeptiert 21. 12. 2016

### Bibliografie

DOI <http://dx.doi.org/10.1055/s-0043-100631>

Klin Monatsbl Augenheilkd 2017; 234: 311–319 © Georg Thieme Verlag KG Stuttgart · New York | ISSN 0023-2165

### Korrespondenzadresse

Dr. Wolf M. Harmening  
Universitäts-Augenklinik, Universitätsklinikum Bonn  
Ernst-Abbe-Str. 2, 53127 Bonn  
Tel.: + 49/(0)2 28/2 87-1 58 82, Fax: + 49/(0)2 28/2 87-1 48 17  
[wolf.harmening@ukbonn.de](mailto:wolf.harmening@ukbonn.de)



mehr online unter <http://www.thieme-connect.de/products>

### ZUSAMMENFASSUNG

Adaptive Optiken (AO) stellen eine technologische Schlüsselinnovation für die Bildgebung in der Ophthalmologie dar. Mit AO ausgestattete Ophthalmoskope erlauben es, die mikroskopische Netzhautstruktur nicht invasiv und auf zellulärer Ebene darzustellen. So kann die strukturelle Integrität der retinalen Nervenfaserschicht, des perifovealen

Kapillarnetzwerks, einzelner Stäbchen- und Zapfenphotorezeptoren und des zellulären Mosaiks des retinalen Pigmentepithels in vivo beobachtet werden. Für die Beurteilung des Verlaufs von Netzhauterkrankungen, einer möglichen pharmakologischen Intervention und die Entschlüsselung der zugrunde liegenden physiologischen Mechanismen bedeutet dies eine völlig neue Untersuchungsebene. Insbesondere monogenetische Erkrankungen liegen im Fokus der aktuellen Forschung. Zum einen können Rückschlüsse auf einzelne Pathologien anderer multifaktorieller Netzhauterkrankungen gezogen und so die zugrundeliegenden physiologischen Mechanismen bzw. Verläufe genauer untersucht werden (Modellerkrankung). Zum anderen werden auch im Hinblick auf aktuelle und kommende Interventionen (u. a. Gentherapie) neuartige und zuverlässige Endpunkte zur Interpretation des Therapieerfolgs notwendig. Erste kommerzielle AO-Ophthalmoskope sind für den klinischen Einsatz erhältlich, und die Zahl mit AO untersuchter Netzhautpathologien wächst zunehmend. Für eine zellgenaue Struktur-Funktions-Korrelation kann jüngstens eine AO-basierte Mikrostimulationstechnologie eingesetzt werden.

### ABSTRACT

The use of adaptive optics in ophthalmoscopy is a breakthrough technological achievement. With AO ophthalmoscopes, the microscopic retinal structure can be visualised non-invasively and on a cellular level, allowing for cellular scale imaging of the retinal nerve fibre layer, the smallest retinal capillaries, rod and cone photoreceptors, and the retinal pigment epithelium mosaic in the living subject. Regarding the diagnostic evaluation of retinal diseases, the current research focuses on monogenetic retinal diseases, which – when better understood – may allow for conclusions to be drawn about other multifactorial diseases and their underlying mechanisms (model disease). For disease monitoring and current and future pharmacological intervention (e.g. gene therapy), they will help to better establish novel and reliable clinical endpoints. New AO imaging devices have just become commercially available, and the number of retinal pathologies visualised with AO is increasing. Recently, an AO-based microstimulation technique has been introduced, which offers the possibility to directly correlate retinal structure with visual function on a cellular level.

## Einleitung

„Das Auge als Fenster zum Gehirn“ – ein Idiom, das heute angesichts der zunehmenden Möglichkeiten moderner bildgebender Verfahren mehr Bedeutung denn je hat. So ist das menschliche Auge mit seiner transparenten Kornea und Linse das einzige Sinnesorgan, das einen direkten, nicht invasiven Blick auf Rezeptor-

zellen erlaubt; und ist umso mehr geeignet, Pathologien derselben zu untersuchen. Der Ausdruck suggeriert jedoch auch, dass der Einblick leicht gelingt. Dies ist leider nur selten zutreffend, denn die Qualität ophthalmoskopischer bildgebender Verfahren hängt von der Abbildungsqualität der intraokularen optischen

\* Geteilte Erstautorenschaft.

Medien ab. Die Limitationen werden deutlich beim Betrachten z. B. einer kleinen Lichtquelle im Dunkeln: die Lichtquelle wird entsprechend der Güte der Augenoptiken nicht mehr als Punkt sondern als ausgedehnter Lichtfleck wahrgenommen. Hermann von Helmholtz formulierte dazu 1871 [1]:

„Nun ist es nicht zuviel gesagt, dass ich einem Optiker gegenüber, der mir ein Instrument verkaufen wollte, welches die letztgenannten Fehler hätte, mich vollkommen berechtigt glauben würde, die härtesten Ausdrücke über die Nachlässigkeit seiner Arbeit zu gebrauchen, und ihm sein Instrument mit Protest zurückzugeben.“

Seit der Erfindung des Ophthalmoskops durch Helmholtz vor ca. 160 Jahren ist jedoch viel geschehen. Eine Schlüsselinnovation in der ophthalmoskopischen Bildgebung ist der Einsatz adaptiver Optiken. Der Begriff „adaptive Optiken“ beschreibt das Zusammenwirken einer Reihe von optischen, sensorischen und Regelkreistechnologien, die in der Astronomie seit Ende der 1970er-Jahre die optische Auflösung von erdbasierten Teleskopen verbessern (die turbulenten Schichten der Erdatmosphäre stellen hier eine optisch limitierende Größe dar) [2]. Am menschlichen Auge wurden adaptive Optiken zuerst 1996 erfolgreich eingesetzt, indem erstmals einzelne Photorezeptoren der Netzhaut im lebenden Auge dargestellt werden konnten [3]. In den darauffolgenden 20 Jahren hat eine ständige Weiterentwicklung dieser optischen Geräte stattgefunden, sodass die ophthalmologische Forschung heute auf diverse Methoden zurückgreifen kann, die es ermöglichen, die mikroskopische Struktur der Netzhaut im lebenden Auge zu untersuchen.

In der vorliegenden Übersicht wird zunächst die Technologie adaptiver Optiken kurz vorgestellt und gezeigt, welche konkreten technischen Lösungen in der klinischen Netzhautforschung heute angewendet werden können. Danach wird im Ergebnisteil ein Überblick über Netzhautstrukturen und deren Veränderungen bei hereditären Netzhauterkrankungen gegeben. Wir diskutieren bestehende Limitationen und geben einen Ausblick auf zukünftige diagnostische und grundlagenwissenschaftliche Anwendungen.

## Material und Methoden

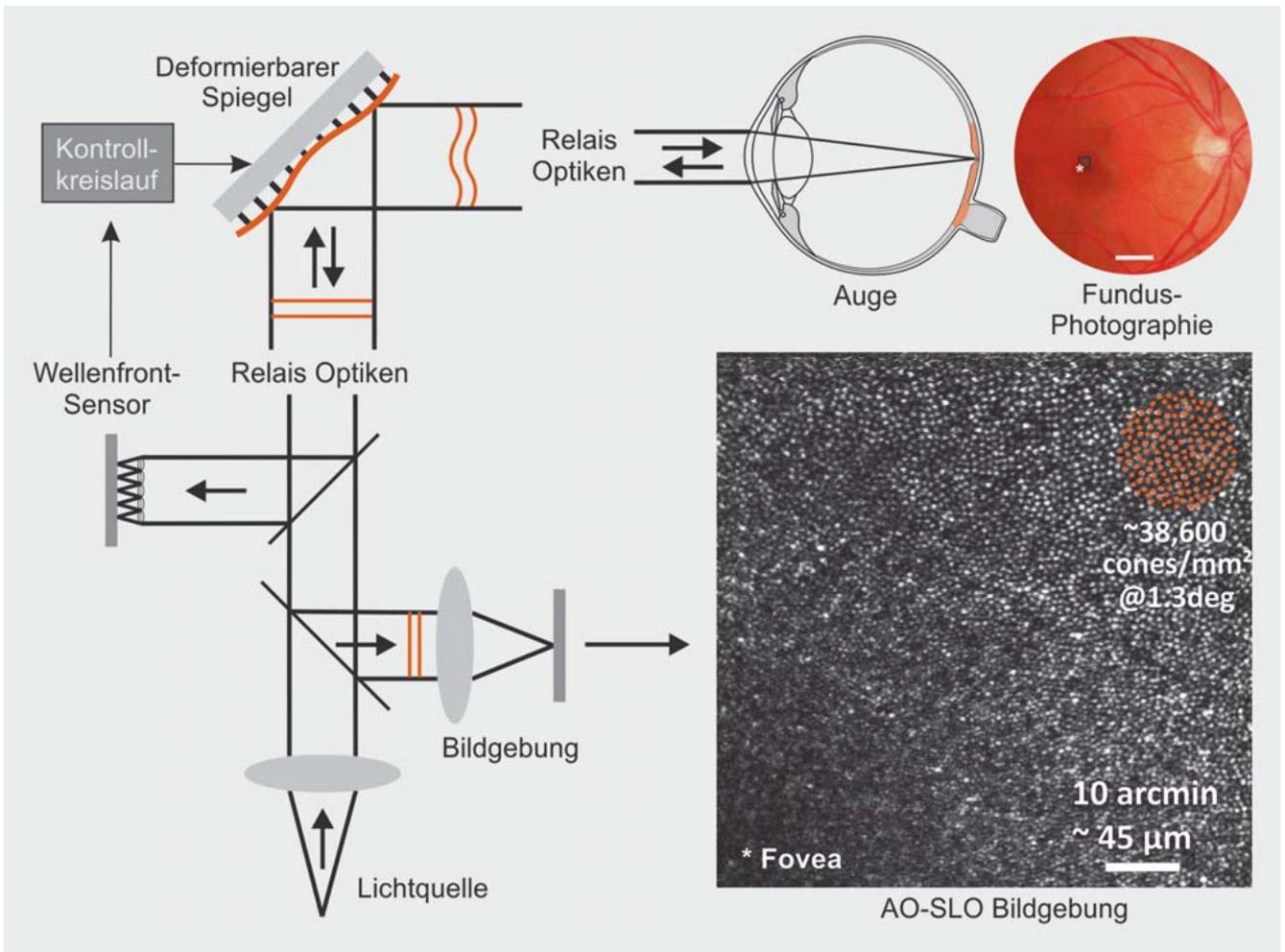
Weil das finale lichtfokussierende Element in der Ophthalmoskopie das Auge selbst ist, ist die Abbildungsqualität in ophthalmoskopischen Verfahren insbesondere durch Diffraktion (Lichtbeugung), durch die monochromatischen Aberrationen der okulären Optiken (sog. Wellenfrontfehler) und durch Streuung in den optischen Medien bestimmt. Beugungseffekte und Aberrationen hängen dabei invers zueinander vom physiologischen Pupillendurchmesser ab: Mit zunehmender Apertur werden Beugungseffekte geringer, jedoch wird auch ein größerer Teil der Kornea und Linse optisch durchwandert, sodass die beitragenden Aberrationen zunehmen [4]. Ziel der Anwendung adaptiver Optiken (AO) im Auge ist es, genau jenen Beitrag monochromatischer Aberrationen zu minimieren und dadurch eine nahezu beugungsbegrenzte Auflösung für ein bildgebendes Verfahren zu erzielen [5, 6]. Bei einer optimalen Korrektur und einem Pupillendurchmesser (physiologische Apertur) von 7 mm beträgt die laterale Auflösung ca.

1,8  $\mu\text{m}$  (anregende Wellenlänge: 550 nm, 18,5 mm Brennweite). Das bedeutet, dass in einem beugungsbegrenzten Ophthalmoskop retinale Strukturen, die diese Größe nicht unterschreiten, gerade noch bildlich dargestellt werden können [7]. Das trifft z. B. auf die Größe (para)fovealer Zapfenphotorezeptoren zu (► **Abb. 1**) [8].

Die Minimierung monochromatischer Aberrationen wird über ein optisches Korrekturerelement erreicht. Häufig ist dieses Element ein deformierbarer Spiegel, dessen reflektierende Oberfläche sich durch mechanische Auslenkung kleinster Stellelemente komplex verändern lässt [9]. Alternativ kommen transmittierende Flüssigkristalllichtmodulatoren zum Einsatz [10]. In beiden Fällen wird die Phasenlage eines einfallenden Lichtbündels räumlich so verändert, dass das reflektierte (oder transmittierte) Licht nahezu parallele Wellenfronten besitzt. Um die für die Kompensation der Wellenfrontfehler nötige Phasenmodulation zu ermitteln, gibt es verschiedene Möglichkeiten. Dies kann z. B. durch Messung des Wellenfrontfehlers im unkorrigierten Strahl durch eine sog. Wellenfrontkamera stattfinden. Typischerweise wird hier ein Hartmann-Shack-Sensor verwendet, eine Videokamera mit vorgeschaltetem Mikrolinsengitter [11]. Dessen Signal wird dann in einem Regelkreis kontinuierlich als Stellgröße (close loop) oder diskontinuierlich als Korrektursignal (open loop) benutzt [12]. In einem kürzlich vorgestellten Verfahren kann alternativ Oberflächen-Plasmon-Anregung ausgenutzt werden, um Wellenfrontfehler im Strahl durch einen CCD-Sensor (CCD: charged coupled device) mit höchster Abtastrate zu detektieren [13]. In sensorfreien Korrekturmethode wird das Korrektursignal für das kompensatorische Element direkt aus der Optimierung des aufgenommenen Bildmaterials algorithmisch ermittelt [14].

Zusammengefasst sind AO Methoden, die die optische Auflösung in der Bildgebung bei abberrierten optischen Medien verbessern. Damit unterliegen sie dem Abbe-Limit mikroskopischer Verfahren und unterscheiden sich konzeptuell von supraauflösender Mikroskopie, wie z. B. STED (Stimulation Emission Depletion) oder PALM (Lokalisationsmikroskopie nach Photoaktivierung). Heute werden AO in der Ophthalmoskopie in 3 bildgebenden Modalitäten eingesetzt: in der Fundusfotografie [3], der Scanning-Laser-Ophthalmoskopie (SLO) [15, 16] und der optischen Kohärenztomografie (OCT) [17, 18]. Nur die ersten beiden Modalitäten sind bisher als kommerzielle Produkte erhältlich (rtx1, Imagine Eyes, Orsay, France; Apax Retinal Imaging System, Boston Micromachines, Cambridge, MA, USA; CAORI, Physical Sciences Inc., Andover, MA, USA; Canon Inc., Tokyo, Japan). AO-OCT ist bislang nur in wenigen Forschungslaboren zugänglich, hat aber als mögliche Erweiterung klinischer OCT-Systeme ebenfalls hohes Potenzial für zukünftige Kommerzialisierung [19, 20].

AO-unterstützte Fundusfotografie und AO-SLO-Bildgebung sind komplementäre Verfahren zur OCT-Bildgebung. Sie erzeugen en face Bilder des Augenhintergrunds mit höchster Auflösung und können bei konfokalem optischem Aufbau durch Verschiebung der Fokustiefe die Netzhaut optisch sektionieren [21]. Dadurch werden mikroskopische Strukturen der inneren Netzhaut, wie z. B. der retinalen Nervenfaserschicht und der Lamina cribrosa, sichtbar [22]. Bei geeigneter Wahl der bildgebenden Wellenlänge kann Blutfluss in den kleinsten Kapillaren, bis hin zur Verfolgung von einzelnen Leukozyten, dargestellt werden [23]. Das stärkste Sig-

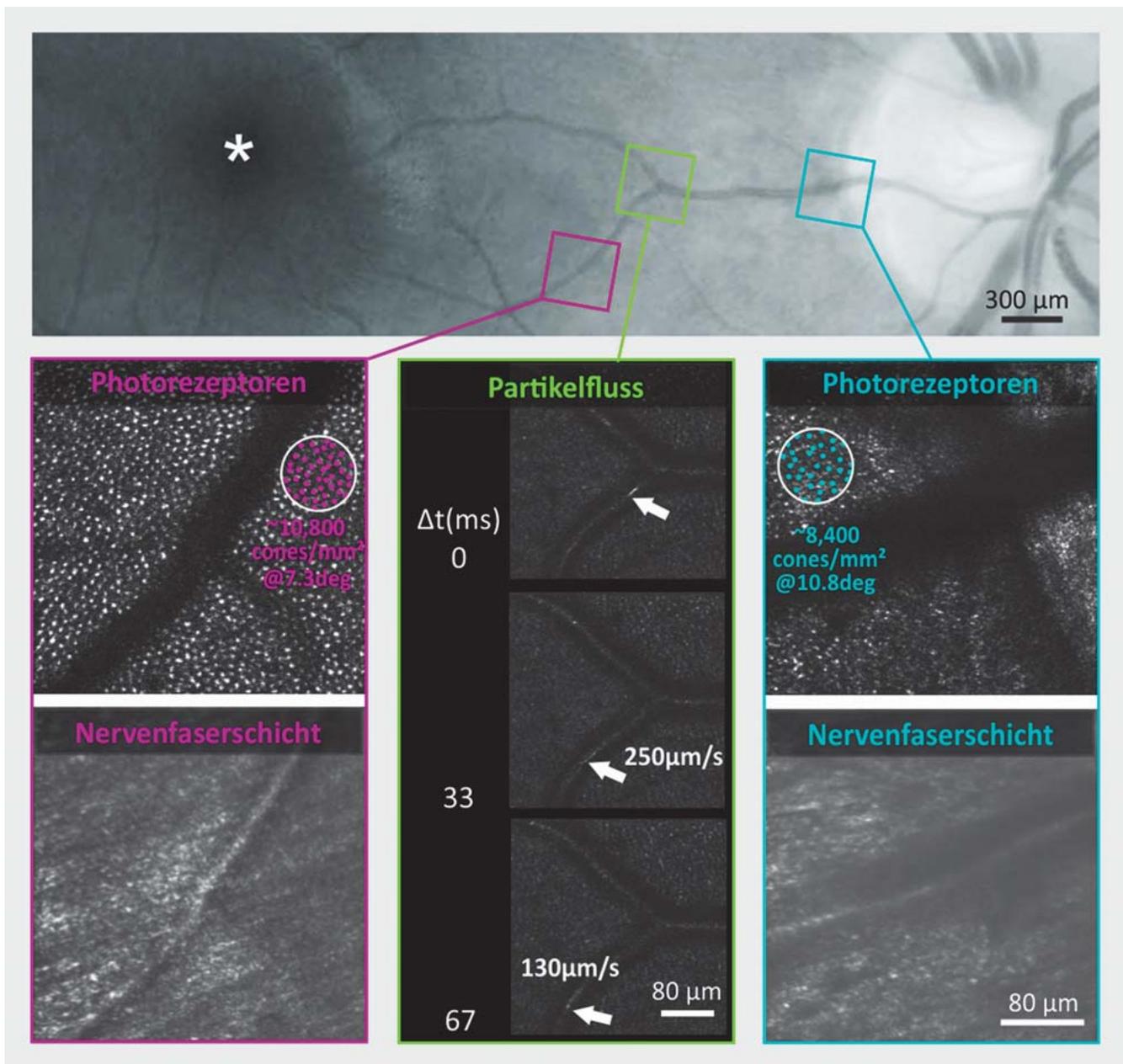


► **Abb. 1** Adaptive Optiken (AO) in der Ophthalmoskopie. Der Wellenfrontfehler (orange) eines von der Netzhaut reflektierten Lichtstrahls wird mit einem Wellenfrontsensor (hier: Hartman-Shack-Sensor) gemessen und durch einen Kontrollkreislauf zur Auslenkung eines deformierbaren Spiegels benutzt. Nach der Reflexion an diesem Element sind die Wellenfronten parallel und können zu einer lateral beugungsbegrenzten Bildgebung beitragen. Ein typisches AO-SLO-Bild (SLO: Scanning-Laser-Ophthalmoskopie) einer gesunden Netzhaut nahe des fovealen Zentrums (\*, Bildausschnitt auf Fundusfotografie gekennzeichnet) zeigt mikroskopische Netzhautstruktur, hier das Mosaik der kleinsten Zapfenphotorezeptoren, die nahe dem fovealen Zentrum wegen Lichtbeugungseffekten und remanenten Wellenfrontfehlern nicht mehr aufgelöst sind. Das reflektierte Zapfensignal kann zur Quantifikation z. B. der Dichte des Mosaiks (Kreis mit 90  $\mu\text{m}$  Durchmesser) herangezogen werden.

nal reflektierten Lichts in En-face-Netzhautbildern entsteht durch die Wellenleitereigenschaften der Innensegmente und des Übergangs zwischen Innen- und Außensegmenten der Photorezeptoren, sodass diese Strukturen besonders deutlich sichtbar werden [24,25]. Zapfen und Stäbchenphotorezeptoren stehen daher im Zentrum der AO-Bildgebung, und es ist heute möglich, selbst die kleinsten Zapfen – im Zentrum der Fovea – und Stäbchen im lebenden Auge darzustellen [7,26]. Bei entsprechender nicht-konfokaler Detektorkonfiguration wird das starke Signal der Photorezeptorschicht verworfen, sodass die Zellen des retinalen Pigmentepithels (RPE) oder Zapfen mit gestörter Wellenleiterfunktion sichtbar werden [27,28].

## Ergebnisse

Eine große Zahl ophthalmologischer Erkrankungen, bei denen eine oder mehrere der oben beschriebenen Strukturen verändert sind, wurden mit AO-Bildgebung bereits untersucht (für eine umfassende und aktuelle Aufstellung aller bisher mit AO untersuchten Pathologien verweisen wir auf folgende Onlineresource: <http://bit.ly/2kTu5jA> oder: <https://www.experimental-ophthalmology.uni-bonn.de/research/group-harmering/group-w-harmering>). Darunter sind nicht nur Untersuchungen von Patienten mit häufigen, multifaktoriellen Erkrankungen (u. a. Glaukom, diabetischer Retinopathie, altersabhängiger Makuladegeneration [AMD]), sondern auch mit den selteneren Netzhautdystrophien (u. a. Retinitis pigmentosa, Morbus Stargardt, Zapfen-Stäbchen-Dystrophie, Chorioideremie, idiopathischen makulären Telang-



► **Abb. 2** AO-SLO-Bildgebung und diagnostische Möglichkeiten. Drei Bildregionen (zum Vergleich auf einer Fundusfotografie, oben, gekennzeichnet), aufgenommen mit einem konfokalen AO-SLO (Bildwinkel ca.  $1,2^\circ$ , 840 nm Wellenlänge) im gesunden Auge, zeigen die typischen Strukturen, die für diagnostische Zwecke ausgewertet werden können. Das Zapfenphotorezeptorenmosaik ist deutlich erkennbar und kann z. B. als Zapfendichte quantifiziert werden. Die Kreise haben die gleiche anguläre Größe wie in ► **Abb. 1**. Blutgefäße sind als Abschattungen sichtbar und zellulärer Blutfluss, hier die Reflexion eines Leukozyten, kann bei entsprechender konfokaler Sektionierung ausgewertet werden (mittlere Spalte). Die Nervenfaserschicht stellt sich als gebänderte Struktur oberhalb von Photorezeptoren und Blutgefäßen dar.

iektasien Typ 2 [MacTel], Achromatopsie und Leber'sche hereditäre Optikusatrophie). In vielen Fällen konnten subklinische Veränderungen identifiziert werden, die potenziell eine Früherkennung und ein exaktes Monitoring pharmakologischer Interventionen ermöglichen. Im Folgenden besprechen wir einige Kernkenntnisse, die mit AO-Bildmaterial gewonnen werden konnten (vgl. auch [6]).

### Nervenfaserschicht

Die Nervenfaserschicht (NFS) wird aus den Axonen der retinalen Ganglienzellen gebildet und liefert ein detektierbares Signal für konfokale und nicht konfokale AO-Technologien. Charakteristisch für die NFS sind die im En-face-Bild deutlich sichtbaren, parallel verlaufenden Banden (► **Abb. 2**). Als Beispielerkrankung für Schäden der NFS wird heutzutage das Glaukom durch die Schichtdicke der NFS in OCT-B-Scans quantifiziert. Vergleichende En-face-Aufnahmen mit AO-SLO und OCT in 7 Glaukompatienten konnten zei-

gen, dass auch sehr lokale, makuläre Glaukomschäden mithilfe der AO-SLO erkannt werden können, während die OCT unauffällig blieb [29]. Weiter konnte gezeigt werden, dass funktionelle Defekte, die mit zirkumpapillären NFS-Schichtdickenveränderungen einhergehen, sich im AO-SLO unterschiedlich darstellen [30] und dass die Auswertung von OCT-en-face-Bildern, basierend auf der mittleren Reflektivitätsintensität, in diesen Fällen sensitiver für die frühzeitige Entdeckung von Glaukomschäden ist [31]. Auch bei hereditären Erkrankungen der Netzhaut kann der AO-Technologie in der Beurteilung der NFS eine Schlüsselrolle zukommen. So zeigten Untersuchungen von Patienten mit Leber'scher hereditärer Optikusneuropathie punktförmig und nummulär verstärkte Reflexe in der NFS. Bei der Leber'schen kongenitalen Amaurose und Chorioideremie fanden sich zudem Mikrozysten in dieser Schicht. Interessanterweise zeigten auch Erkrankungen wie Zapfendystrophie, Morbus Stargardt oder Retinitis pigmentosa, die sich primär in den äußeren Netzhautschichten manifestieren, Veränderungen in der NFS, die sich u. a. als granuläre bzw. wachsförmige Membranen darstellten. Ähnliche Veränderungen waren auch bei Morbus Best, MacTel Typ 2 und X-chromosomaler Retinoschisis zu finden [32].

### Intraretinale Blutgefäße

Eine ausreichende Nährstoff- und Sauerstoffversorgung der inneren Netzhautschichten wird durch das retinale Gefäßnetzwerk sichergestellt. Blutgefäße bis hin zu den feinsten parafovealen Kapillaren können aufgrund ihrer veränderten Reflexionseigenschaften über das sichtbare Spektrum und im Nahinfrarot generell gut in der AO-Bildgebung erkennbar gemacht werden (► **Abb. 2**) [33, 34]. Fein- und Wandstruktur von Gefäßen ab 10 µm Durchmesser können auch ohne Kontrastmittel auf Grundlage des En-face-Reflexionsbilds mikroskopisch untersucht werden [35, 36]. So konnten z. B. in den Augen von 49 gesunden Probanden Messungen der parietalen Dicken- und Lumendurchmesser retinaler Gefäße quantifiziert werden, was u. a. zur nicht invasiven Phänotypisierung der hypertensiven Retinopathie angewendet werden kann [37]. Auch bei Patienten mit Chorioideremie, deren verengte retinale Gefäße, wie auch bei anderen hereditären Netzhauterkrankungen, auf den reduzierten Nährstoffbedarf im fortgeschrittenen Stadium zurückgeführt wird, fanden sich in der AO-Bildgebung morphologische Gefäßveränderungen in Form von gefäßassoziierten Membranen [32].

Durch die Errechnung eines Bewegungskontrastbilds aufgrund lichtstreuender Partikel wie Erythrozyten und Leukozyten wird das Kapillarnetzwerk bis hin zur avaskulären Zone sichtbar [23]. Das Vorgehen ist wegen seiner Nichtinvasivität fluoreszenzbasierter Methoden vorzuziehen, kann aber prinzipbedingt keine vaskulodynamischen Ereignisse wie Pooling oder Leckagen darstellen. Die Kombination zwischen farbstoffassoziiertes und en-face-reflexionsbildgestützter AO-Bildgebung (AO-SLO FA) ist heute, neben der kürzlich klinisch zugänglich gewordenen OCT-Angiografie [38], die vermutlich sensitivste Methode, mikrovaskuläre Veränderungen auf histologischem Niveau im lebenden Auge zu untersuchen [39]. Im Hinblick auf das wachsende Interesse an der Chorioidea im Rahmen der Pathogenese diverser Netzhauterkrankungen konnten in Atrophiearealen von Chorioideremiepatienten chorioidale Gefäße in gleicher Auflösung sichtbar gemacht wer-

den. In gesunden Probanden wird das Signal der Aderhaut durch RPE und Photorezeptoren geblockt, sodass hier den hereditären Netzhauterkrankungen mit früher Entwicklung einer RPE-Atrophie ein besonderer Stellenwert zukommt [40].

### Photorezeptoren

Die Zapfenphotorezeptoren sind die ersten mikroskopischen Strukturen, die mit AO-Bildgebung im lebenden Auge dargestellt werden konnten [3,41]. Wegen ihrer das einfallende Licht stark reflektierenden Eigenschaft stellen sie auch bis heute den Fokus in der klinisch ausgerichteten AO-Ophthalmoskopie dar (► **Abb. 2**). Die kleinsten fovealen Zapfen- und Stäbchenphotorezeptoren besitzen einen Durchmesser nahe der Beugungsgrenze (ca. 2 µm), deren Sichtbarmachung die höchsten Anforderungen an die technische Umsetzung AO-basierter Bildgebung stellt [42, 43].

Eine physikalische Betrachtung der optischen Eigenschaften menschlicher Photorezeptorinnen- und -außensegmente legt nahe, dass diese Strukturen Lichtleitercharakteristik besitzen [44]. Im konfokalen AO-Reflexionsbild erscheinen sie daher typischerweise als dichtgepacktes Mosaik nahezu kreisförmiger Strukturen mit variabler Helligkeit. Diese Reflexionsvariabilität unterliegt dynamischer Veränderung [45] und ist hauptsächlich unabhängig von der exakten Ausrichtung der Zellen relativ zur optischen Achse [25]. Sie ist vermutlich ein Resultat physiologischer Änderungen am Außensegment-RPE-Übergang und wurde mit dem periodischen Ab- und Aufbau endständiger Membranstapel innerhalb der Außensegmente (disc-shedding) assoziiert [19]. Photorezeptoren mit gestörter Wellenleitereigenschaft, wie z. B. bei Achromatopsie, erscheinen in konfokalen AO-Verfahren hingegen dunkel [46]. Erst mit nicht konfokaler Detektorkonfiguration können, durch Streuung entlang paraxialer Strahlen, die teilweise erhaltenen Innensegmente solcher Zellen dargestellt werden. Deren Verteilung im Falle CNGB3-assoziiertes Achromatopsie wies, bei ähnlichem konfokalem Erscheinungsbild, erhebliche interindividuelle Unterschiede auf [47]. Auch in der gesunden Netzhaut können nicht reflektierende Zapfenphotorezeptoren regelmäßig beobachtet werden, deren visuelle Funktion aber von normal reflektierenden Zapfen nicht unterscheidbar ist [48] (vgl. auch Diskussion).

Das retinale Mosaik der Zapfenphotorezeptoren ist in der gesunden Netzhaut relativ unveränderlich, sodass einzelne Photorezeptorzellen über viele Monate und Jahre verfolgt werden können. Dieser Zusammenhang verspricht, dass auch in longitudinalen klinischen Studien degenerative und interventionelle Prozesse durch die Quantifizierung des Netzhautmosaiks effizient beschrieben werden können. Es existieren automatische Segmentierungsalgorithmen, um Photorezeptorzellen im Bildmaterial zu identifizieren [49]. Bildbasierte Metriken wurden entwickelt, die neben Zelldichte auch den Zellabstand, Mosaikregularität, lokale Ausrichtung und Nachbarschaftszahlen auswerten [50]. Zapfendichte und lokale Verteilung konnten so auch mit anderen optischen und funktionellen Parametern korreliert werden [51, 52]. So wurde z. B. gezeigt, dass in Patienten mit ABCA4-Mutationen (Morbus Stargardt) das Zapfenmosaik verändert ist [53] und mit lokalem Sehverlust einhergeht [54]. Es gibt auch Hinweise, dass bei Morbus Stargardt frühe Veränderungen im Zapfen- und Stäbchen-

mosaik in Netzhautregionen, die in herkömmlicher Bildgebung unauffällig erscheinen, einem RPE-Schaden vorausgehen [55, 56]. Auch in anderen hereditären Netzhauterkrankungen wurden Veränderungen im Zapfenmosaik beschrieben [51, 57–61].

Ähnlich dem Morbus Stargardt kann bei idiopathischen makulären Telangiektasien Typ 2 eine zellaufgelöste Bildgebung der Netzhaut schon früh im Krankheitsverlauf präklinische Veränderungen aufzeigen, wie z. B. in der Dichte von Photorezeptoren und deren Lichtleitereigenschaften [62–65]. Für die bisher als selten eingestuften Mutationen des CDHR1-Gens, die im mittleren Lebensalter zu einer rasch voranschreitenden Netzhautdystrophie führen, konnte ein Zusammenhang mit erniedrigter Photorezeptordichte hergestellt werden [66]. Die variablen Farbsehstörungen bei X-chromosomaler Zapfendysfunktion konnten mit ebenfalls variabler fovealer Zapfenstruktur in Verbindung gebracht werden [67]. In der bisher einzigen longitudinalen interventionellen klinischen Studie zu diesem Thema [68] wurde über einen Zeitraum von 3 Jahren anhand von Veränderungen der Photorezeptordichte gezeigt, dass CNTF (ciliary neurotrophic factor) einen neuroprotektiven Effekt auf die Zapfen bei Patienten mit Retinitis pigmentosa haben könnte.

## Retinales Pigmentepithel

Die funktionelle und strukturelle Integrität des retinalen Pigmentepithels (RPE) steht in engem Zusammenhang mit verschiedenen Netzhautpathologien. Obwohl einzelne RPE-Zellen im Vergleich zu den Photorezeptoren relativ groß sind, sind sie in der AO-Bildgebung wegen ihrer nur schwachen Lichtstreuung und der dominierenden Reflexion des Lichtes in den Photorezeptoren nur schwer sichtbar zu machen [69, 70]. Eine Sonderstellung nehmen hier die Zapfen-Stäbchen-Dystrophien ein, bei denen in einzelnen Bereichen das RPE sichtbar gemacht werden konnte. Dies wurde darauf zurückgeführt, dass in diesen Arealen das Zapfenmosaik verändert war [28]. In der Netzhaut mit intakten Photorezeptoren kann mittels autofluoreszenzgekoppelter AO-SLO-Bildgebung das im RPE angereicherte Lipofuszin detektiert werden [71] oder aber auch nach systemischer Verabreichung des Farbstoffs Indocyaningrün [72]. Mit der sog. AO-Flood-Illumination oder Dunkelfeld-AO-Bildgebung kann auch mit geringerer Lichtintensität das RPE-Mosaik sichtbar gemacht werden [27, 73]. Eine zellaufgelöste, 3-dimensionale Darstellung des RPE wurde erst jüngstens mit AO-OCT demonstriert [74]. Eine zellgenaue Analyse des RPE scheint für die Beurteilung des Therapieerfolgs oder eines möglichen Schadens bei unterschweligen laserinduzierten Läsionen von Bedeutung [75], und es konnten Hinweise auf eine gestörte Morphologie des RPE bei AMD [76] und in Fällen von Chorioidermie [40, 77] festgestellt werden. Insbesondere bei Erkrankungen mit einer frühen RPE-Atrophie, wie Morbus Stargardt, PRPH2-assoziiierter Retinopathie oder Chorioidermie, konnte zudem die Assoziation zur Photorezeptordegeneration dargestellt werden [40, 77, 78].

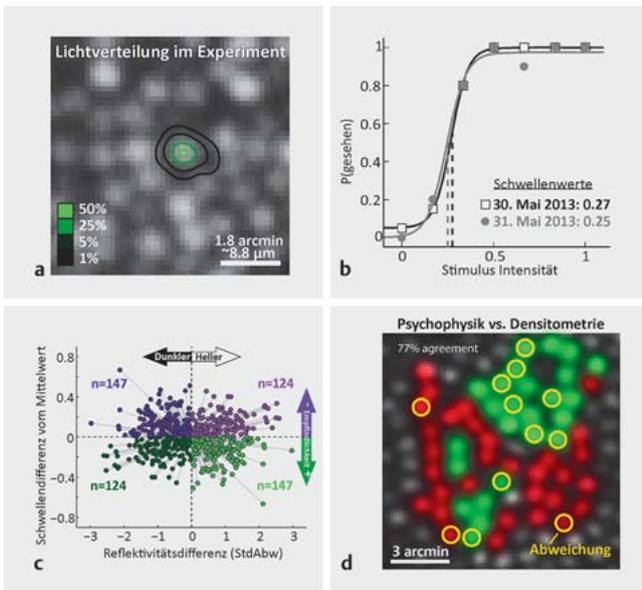
## Diskussion

Adaptive Optiken sind eine komplexe photonische Technologie, die bei der Erforschung der Netzhaut auf eine weltweit stetig

wachsende Anwendung und Erfahrung in Forschungslaboratorien baut [5]. Begünstigt durch die Kommerzialisierung verschiedener AO-unterstützter ophthalmoskopischer Verfahren findet sie vermehrt den Weg in die klinische Forschung, und die Zahl der wissenschaftlichen Veröffentlichungen, in denen klinisch relevante Netzhautveränderungen mit AO-Technologie untersucht werden, wächst zunehmend [22, 79]. Der Vorteil adaptiver Optiken liegt in der Möglichkeit, En-face-Bilder zellulärer Strukturen mit höchster lateraler Auflösung in der lebenden Netzhaut zu erzeugen. Die OCT-Bildgebung verhält sich dazu komplementär, indem sie korrespondierende Schnittbilder der Netzhaut mit höchster axialer Auflösung liefern kann. Wie jedes ophthalmoskopische Verfahren ist auch die AO-Bildgebung von physikalischen Parametern begrenzt. So ist es bislang nicht möglich, bei opaquen optischen Medien eine geeignete Wellenfrontkorrektur zu erzeugen, da das Korrektursignal auf eine retinale Lichtreflexion angewiesen ist. Wegen der typischen kleinen Blickwinkel in der AO-Bildgebung haben Augenbewegungen, so wie dies typischerweise in Form eines Nystagmus bei verschiedenen Netzhauterkrankungen – insbesondere Netzhautdystrophien – auftreten kann, stärkeren Einfluss auf die Qualität und den zeitlichen Aufwand des bildgebenden Prozesses [6, 26, 80]. Kleinere Fixationsaugenbewegungen können aber, z. B. in SLO-Modalitäten durch hardware- und softwarebasierte Bildstabilisierungsalgorithmen, in nahezu Echtzeit kompensiert werden [81, 82]. Augenbewegungen mit größeren Amplituden können in SLO-Systemen durch eine aktive Strahlagenanpassung ausgeglichen werden [81, 83]. Es ist wichtig zu betonen, dass solche hochkomplexen Untersuchungen hohe Ansprüche sowohl an die verwendete Technik als auch an die Mitarbeit untersuchter Probanden stellt. Ungünstige Voraussetzungen bei der habituellen optischen Qualität (z. B. durch Medientrübung), aber auch bei eingeschränkter Compliance werden durch diesen Zusammenhang potenziert und stellen bei der Auswahl geeigneter Probanden wichtige Kriterien dar.

Bei der Auswertung neu gewonnener Bilddaten mit adaptiven Optiken ist ebenfalls Vorsicht geboten. So besteht z. B. wegen der anschaulichen Darstellung einzelner Photorezeptoren in der gesunden Netzhaut die intuitive Tendenz, ein Fehlen dieser Strukturen im Bild auch als anatomischen Verlust zu interpretieren. Dabei gilt zu beachten, dass das Ausbleiben eines Bildsignals kausal nur auf das Ausbleiben der das Bildsignal verursachenden Quelle zurückzuführen ist. Zapfenphotorezeptoren erscheinen im konfokalen AO-SLO dunkel oder transparent, wenn ihre Lichtleitereigenschaft gestört ist [84]. Dies kann verschiedene morphologische Ursachen haben, muss aber nicht notwendigerweise einen Verlust der Sehfunktion bedeuten. Nicht konfokale Bildgebung und eine Struktur-Funktions-Koppelung kann in solchen Fällen zusätzlichen Aufschluss über die für die betroffene Netzhaut relevanten Veränderungen geben.

Für eine zellgenaue Struktur-Funktions-Analyse wurde in den letzten Jahren – speziell in AO-SLO-Systemen – eine AO-basierte Mikrostimulationstechnik entwickelt [85]. Dabei wird ein Stimulationslicht durch die Wellenfrontkorrektur der adaptiven Optiken so moduliert, dass ein extrem fokussierter Lichtpunkt auf der Netzhaut entsteht, im Idealfall kleiner als die Apertur der einzelnen Photorezeptorzelle [86]. Durch schnelle optische Schalter und eine Echtzeitkorrektur von kleinsten Fixationsaugenbewe-



► **Abb. 3** Kopplung visueller Funktion mit AO-Bildgebung. **a** Wiederholte Stimulation eines einzelnen Photorezeptors mit AO-SLO-Mikrostimulation. Höhenlinien tragen die summierte physikalische Lichtverteilungsdichte über 22 Einzeldarbietungen auf. Circa 95% des Lichtes fällt in die sichtbare Apertur eines Zapfens (ca. 2,5° Exzentrizität). **b** Psychometrische Funktionen mit Schwellenschätzung (gestrichelte Linie) für Lichtsensivitätstests aus (a) an 2 aufeinanderfolgenden Tagen zeigen sehr gute Wiederholbarkeit. Konstantreizmethode, 140 Datenpunkte (Quadrate und Kreise). **c** Zapfenreflektivität (Abszisse) ist eine statistisch schwache Vorhersage für Lichtempfindlichkeitsschwellen (Ordinate). 271 Zellen sind paarweise (Verbindungsline) aufgetragen, nur 3% der Schwellenvariabilität wird durch Reflektivität erklärt. **d** Biophysikalische Eigenschaften einzelner Zapfenphotorezeptoren können psychophysikalisch nachgewiesen werden. Gezeigt ist ein ca. 55 × 55 μm großes Netzhautareal mit durch selektive Adaptation psychophysikalisch kartierten Zapfenklassen (grün = M-Zapfen, rot = L-Zapfen). Gelbe Markierungen zeigen Abweichungen von den densitometrisch bestimmten Zapfenklassen (Daten nicht gezeigt).

gungen kann so die Sehfunktion eines Probanden Zelle für Zelle untersucht werden, mit gleichzeitiger und örtlich gekoppelter Strukturbildgebung. Diese Methode wurde zunächst in der Primatenretina bei der Kartierung rezeptiver Felder von V1- und LGN-Neuronen erfolgreich eingesetzt [87] und später durch eine zusätzliche Korrektur von chromatischen Aberrationen auch in der humanen Netzhaut demonstriert [44, 88]. Hier konnte gezeigt werden, dass die Stimulation einzelner Zellen bis auf die Wahrnehmungsebene nachweisbar ist und dadurch eine Einzelzellpsychophysik möglich wird (► **Abb. 3**). Diese Untersuchungsmethoden wurden jüngst an verschiedenen Standorten weltweit weiterentwickelt, und es zeigen sich erste verwertbare Ergebnisse für die klinische und grundlagenwissenschaftliche Sehforschung. Wie weiter oben erwähnt, konnte kein Zusammenhang zwischen dem Ausbleiben eines bildlichen Zapfensignals und der visuellen Funktion an solchen Netzhautstellen (sog. dunklen Photorezeptoren) hergestellt werden [48]. Bei Patienten mit idiopathischen makulären Telangiektasien Typ 2 wurde eine normale visuelle Funktion in Netzhautarealen mit transparent erscheinenden Pho-

tozeptoren (AO-SLO und OCT) gefunden [84]. Untersuchte Farbwahrnehmung bei Einzelzellstimulation zeigte, dass viele Zapfen achromatische Empfindungen hervorrufen [89]. Andererseits besitzen einzelne Zapfenphotorezeptoren eine Lichtempfindlichkeit, die in 1. Näherung mit ihrer Opsinklasse korreliert und hauptsächlich von der Identität der sie unmittelbar umgebenden Zapfenklassen moduliert wird [90].

## Fazit

Schlüsselinnovationen in der ophthalmologischen Bildgebung tragen bis heute maßgeblich dazu bei, unser Verständnis von der Funktion und Dysfunktion des Sehapparats zu verbessern. Der Einsatz adaptiver Optiken in der Ophthalmologie hat, bei wachsendem Interesse durch die klinische Forschung, neue Einblicke in die mikroskopische Struktur, Funktion und Dysfunktion der Netzhaut ermöglicht. Der In-vivo-Zugang zu einzelnen Rezeptorzellen der lebenden Netzhaut ist ein noch junges Forschungsfeld und verspricht durch die Erweiterung des Spektrums messbarer Veränderungen der Netzhaut neue Wege in der klinischen und grundlagenwissenschaftlichen Forschung des Sehens. Dabei kommt insbesondere monogenetischen Netzhautdystrophien als Modellerkrankungen für begrenzte Pathologien ein besonderer Stellenwert zu.

## Danksagung

Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG) Emmy Noether Programm (Ha 5323/5-1: WMH). Carl Zeiss Wissenschafts- und Bildungsfonds (HC-AOSLO: WMH). Bonfor Forschungsstipendium (O-137.0023, PLM; O-137.0022: MP)

## Interessenkonflikt

Holz FG: Heidelberg Engineering, Optos, Zeiss (Beratertätigkeit und finanzielle Unterstützung). Pfau M und Müller PL: Heidelberg Engineering, Optos, Zeiss, CenterVue (finanzielle Unterstützung).

## Literatur

- [1] Von Helmholtz H. Die neueren Fortschritte in der Theorie des Sehens. Populärwissenschaftliche Vorträge 1871; 2: 21–22
- [2] Hardy JW, Lefebvre JE, Koliopoulos CL. Real-time atmospheric compensation. J Opt Soc Am 1977; 67: 360–369
- [3] Liang J, Williams DR, Miller DT. Supernormal vision and high-resolution retinal imaging through adaptive optics. J Opt Soc Am A Opt Image Sci Vis 1997; 14: 2884–2892
- [4] Miller DT, Roorda A. Adaptive Optics in Retinal Microscopy and Vision. In: Bass M, ed. Handbook of Optics, Volume III. New York: McGraw-Hill Professional; 2010: 15.1–15.30
- [5] Williams DR. Imaging single cells in the living retina. Vision Res 2011; 51: 1379–1396
- [6] Roorda A, Duncan JL. Adaptive optics ophthalmology. Annu Rev Vis Sci 2015; 1: 19–50
- [7] Dubra A, Sulai Y, Norris JI et al. Noninvasive imaging of the human rod photoreceptor mosaic using a confocal adaptive optics scanning ophthalmoscope. Biomed Opt Express 2011; 2: 1864–1876

- [8] Curcio CA, Sloan KR, Kalina RE et al. Human photoreceptor topography. *J Comp Neurol* 1990; 292: 497–523
- [9] Zhang J, Yang Q, Saito K et al. An adaptive optics imaging system designed for clinical use. *Biomed Opt Express* 2015; 6: 1864–1876
- [10] Mu Q, Cao Z, Li D et al. Liquid crystal based adaptive optics system to compensate both low and high order aberrations in a model eye. *Opt Express* 2007; 15: 1946–1953
- [11] Liang J, Grimm B, Goelz S et al. Objective measurement of wave aberrations of the human eye with the use of a Hartmann-Shack wave-front sensor. *J Opt Soc Am A Opt Image Sci Vis* 1994; 11: 1949–1957
- [12] Fernández EJ, Iglesias I, Artal P. Closed-loop adaptive optics in the human eye. *Opt Lett* 2001; 26: 746–748
- [13] Vohnsen B, Valente D. Surface-plasmon-based wavefront sensing. *Optica* 2015; 2: 1024
- [14] Hofer H, Sredar N, Queener H et al. Wavefront sensorless adaptive optics ophthalmoscopy in the human eye. *Opt Express* 2011; 19: 14160–14171
- [15] Merino D, Loza-Alvarez P. Adaptive optics scanning laser ophthalmoscope imaging: technology update. *Clin Ophthalmol* 2016; 10: 743–755
- [16] Roorda A, Romero-Borja F, Donnelly III W et al. Adaptive optics scanning laser ophthalmoscopy. *Opt Express* 2002; 10: 405–412
- [17] Hermann B, Fernández EJ, Unterhuber A et al. Adaptive-optics ultrahigh-resolution optical coherence tomography. *Opt Lett* 2004; 29: 2142–2144
- [18] Jonnal RS, Kocaoglu OP, Zawadzki RJ et al. A review of adaptive optics optical coherence tomography: technical advances, scientific applications, and the future. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2016; 57: OCT51–OCT68
- [19] Jonnal RS, Besecker JR, Derby JC et al. Imaging outer segment renewal in living human cone photoreceptors. *Opt Express* 2010; 18: 5257–5270
- [20] Kocaoglu OP, Liu Z, Zhang F et al. Photoreceptor disc shedding in the living human eye. *Biomed Opt Express* 2016; 7: 4554–4568
- [21] Romero-Borja F, Venkateswaran K, Roorda A et al. Optical slicing of human retinal tissue in vivo with the adaptive optics scanning laser ophthalmoscope. *Appl Opt* 2005; 44: 4032–4040
- [22] Carroll J, Kay DB, Scoles D et al. Adaptive optics retinal imaging – clinical opportunities and challenges. *Curr Eye Res* 2013; 38: 709–721
- [23] Tam J, Martin JA, Roorda A. Noninvasive visualization and analysis of parafoveal capillaries in humans. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010; 51: 1691–1698
- [24] Wade AR, Fitzke FW. In vivo imaging of the human cone-photoreceptor mosaic using a confocal LSO. *Lasers Light Ophthalmol* 1998; 8: 129–136
- [25] Roorda A, Williams DR. Optical fiber properties of individual human cones. *J Vis* 2002; 2: 404–412
- [26] Merino D, Duncan JL, Tiruveedhula P et al. Observation of cone and rod photoreceptors in normal subjects and patients using a new generation adaptive optics scanning laser ophthalmoscope. *Biomed Opt Express* 2011; 2: 2189–2201
- [27] Scoles D, Sulai YN, Dubra A. In vivo dark-field imaging of the retinal pigment epithelium cell mosaic. *Biomed Opt Express* 2013; 4: 1710–1723
- [28] Roorda A, Zhang Y, Duncan JL. High-resolution in vivo imaging of the RPE mosaic in eyes with retinal disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007; 48: 2297–2303
- [29] Chen MF, Chui TY, Alhadeff P et al. Adaptive optics imaging of healthy and abnormal regions of retinal nerve fiber bundles of patients with glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2015; 56: 674–681
- [30] Hood DC, Chen MF, Lee D et al. Confocal adaptive optics imaging of peripapillary nerve fiber bundles: implications for glaucomatous damage seen on circumferential OCT scans. *Transl Vis Sci Technol* 2015; 4: 12
- [31] Hood DC, Fortune B, Mavrommatis MA et al. Details of glaucomatous damage are better seen on OCT en face images than on OCT retinal nerve fiber layer thickness maps. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2015; 56: 6208–6216
- [32] Scoles D, Higgins BP, Cooper RF et al. Microscopic inner retinal hyper-reflective phenotypes in retinal and neurologic disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2014; 55: 4015–4029
- [33] Martin JA, Roorda A. Direct and noninvasive assessment of parafoveal capillary leukocyte velocity. *Ophthalmology* 2005; 112: 2219–2224
- [34] Popovic Z, Knutsson P, Thauung J et al. Noninvasive imaging of human foveal capillary network using dual-conjugate adaptive optics. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011; 52: 2649–2655
- [35] Pinhas A, Dubow M, Shah N et al. In vivo imaging of human retinal microvasculature using adaptive optics scanning light ophthalmoscope fluorescein angiography. *Biomed Opt Express* 2013; 4: 1305–1317
- [36] Chui TYP, Gast TJ, Burns SA. Imaging of vascular wall fine structure in the human retina using adaptive optics scanning laser ophthalmoscopy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2013; 54: 7115–7124
- [37] Koch E, Rosenbaum D, Brolly A et al. Morphometric analysis of small arteries in the human retina using adaptive optics imaging: relationship with blood pressure and focal vascular changes. *J Hypertens* 2014; 32: 890–898
- [38] Fang PP, Harmening WM, Müller PL et al. [Technical principles of OCT angiography]. *Ophthalmologe* 2016; 113: 6–13
- [39] Dubow M, Pinhas A, Shah N et al. Classification of human retinal microaneurysms using adaptive optics scanning light ophthalmoscope fluorescein angiography. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2014; 55: 1299–1309
- [40] Morgan JW, Han G, Klinman E et al. High-resolution adaptive optics retinal imaging of cellular structure in choroideremia. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2014; 55: 6381–6397
- [41] Roorda A, Williams DR. The arrangement of the three cone classes in the living human eye. *Nature* 1999; 397: 520–522
- [42] Dubra A, Sulai Y, Norris JL et al. Noninvasive imaging of the human rod photoreceptor mosaic using a confocal adaptive optics scanning ophthalmoscope. *Biomed Opt Express* 2011; 2: 1864–1876
- [43] Doble N, Choi SS, Codona JL et al. In vivo imaging of the human rod photoreceptor mosaic. *Opt Lett* 2011; 36: 31–33
- [44] Harmening WM, Tuten WS, Roorda A et al. Mapping the perceptual grain of the human retina. *J Neurosci* 2014; 34: 5667–5677
- [45] Pallikaris A, Williams DR, Hofer HJ. The reflectance of single cones in the living human eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003; 44: 4580–4592
- [46] Scoles D, Sulai YN, Langlo CS et al. In vivo imaging of human cone photoreceptor inner segments. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2014; 55: 4244–4251
- [47] Langlo CS, Patterson EJ, Higgins BP et al. Residual foveal cone structure in CNGB3-associated achromatopsia. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2016; 57: 3984–3995
- [48] Bruce KS, Harmening WM, Langston BR et al. Normal perceptual sensitivity arising from weakly reflective cone photoreceptors. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2015; 56: 4431–4438
- [49] Chiu SJ, Lokhnygina Y, Dubis AM et al. Automatic cone photoreceptor segmentation using graph theory and dynamic programming. *Biomed Opt Express* 2013; 4: 924–937
- [50] Lombardo M, Parravano M, Serrao S et al. Investigation of adaptive optics imaging biomarkers for detecting pathological changes of the cone mosaic in patients with type 1 diabetes mellitus. *PLoS One* 2016; 11: e0151380
- [51] Ratnam K, Carroll J, Porco TC et al. Relationship between foveal cone structure and clinical measures of visual function in patients with inherited retinal degenerations. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2013; 54: 5836–5847
- [52] Wilk MA, Dubis AM, Cooper RF et al. Assessing the spatial relationship between fixation and foveal specializations. *Vision Res* 2016; DOI: 10.1016/j.visres.2016.05.001
- [53] Chen Y, Roorda A, Duncan JL. Advances in imaging of Stargardt disease. *Adv Exp Med Biol* 2010; 664: 333–340

- [54] Chen Y, Ratnam K, Sundquist SM et al. Cone photoreceptor abnormalities correlate with vision loss in patients with Stargardt disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011; 52: 3281–3292
- [55] Song H, Rossi EA, Latchney L et al. Cone and rod loss in Stargardt disease revealed by adaptive optics scanning light ophthalmoscopy. *JAMA Ophthalmol* 2015; 133: 1198–1203
- [56] Razeen MM, Cooper RF, Langlo CS et al. Correlating photoreceptor mosaic structure to clinical findings in Stargardt disease. *Transl Vis Sci Technol* 2016; 5: 6
- [57] Miyata M, Ooto S, Ogino K et al. Evaluation of photoreceptors in Bietti crystalline dystrophy with CYP4V2 mutations using adaptive optics scanning laser ophthalmoscopy. *Am J Ophthalmol* 2016; 161: 196–205.e1
- [58] Wilk MA, McAllister JT, Cooper RF et al. Relationship between foveal cone specialization and pit morphology in albinism. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2014; 55: 4186–4198
- [59] Godara P, Cooper RF, Sergouniotis PI et al. Assessing retinal structure in complete congenital stationary night blindness and Oguchi disease. *Am J Ophthalmol* 2012; 154: 987–1001
- [60] Baraas RC, Carroll J, Gunther KL et al. Adaptive optics retinal imaging reveals S-cone dystrophy in tritan color-vision deficiency. *J Opt Soc Am A Opt Image Sci Vis* 2007; 24: 1438–1447
- [61] Bowne SJ, Sullivan LS, Avery CE et al. Mutations in the small nuclear riboprotein 200 kDa gene (SNRNP200) cause 1.6% of autosomal dominant retinitis pigmentosa. *Mol Vis* 2013; 19: 2407–2417
- [62] Jacob J, Krivosic V, Paques M et al. Cone density loss on adaptive optics in early macular telangiectasia type 2. *Retina* 2016; 36: 545–551
- [63] Wang Q, Tuten WS, Lujan B et al. Adaptive optics microperimetry and OCT images in macular telangiectasia type 2 retinal lesions show preserved function and recovery of cone visibility. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2015; 56: 778–786
- [64] Scoles D, Flatter JA, Cooper RF et al. Assessing photoreceptor structure associated with ellipsoid zone disruptions visualized with optical coherence tomography. *Retina* 2016; 36: 91–103
- [65] Ooto S, Hangai M, Takayama K et al. High-resolution photoreceptor imaging in idiopathic macular telangiectasia type 2 using adaptive optics scanning laser ophthalmoscopy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011; 52: 5541–5550
- [66] Duncan JL, Roorda A, Navani M et al. Identification of a novel mutation in the CDHR1 gene in a family with recessive retinal degeneration. *Arch Ophthalmol* 2012; 130: 1301–1308
- [67] Patterson EJ, Wilk M, Langlo CS et al. Cone photoreceptor structure in patients with x-linked cone dysfunction and red-green color vision deficiency. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2016; 57: 3853–3863
- [68] Talcott KE, Ratnam K, Sundquist SM et al. Longitudinal study of cone photoreceptors during retinal degeneration and in response to ciliary neurotrophic factor treatment. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011; 52: 2219–2226
- [69] Gray DC, Merigan W, Wolfing JI et al. In vivo fluorescence imaging of primate retinal ganglion cells and retinal pigment epithelial cells. *Opt Express* 2006; 14: 7144–7158
- [70] Roorda A, Zhang Y, Duncan JL. High-resolution in vivo imaging of the RPE mosaic in eyes with retinal disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007; 48: 2297–2303
- [71] Morgan JIW, Dubra A, Wolfe R et al. In vivo autofluorescence imaging of the human and macaque retinal pigment epithelial cell mosaic. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2009; 50: 1350–1359
- [72] Tam J, Liu J, Dubra A et al. In vivo imaging of the human retinal pigment epithelial mosaic using adaptive optics enhanced indocyanine green ophthalmoscopy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2016; 57: 4376–4384
- [73] Gocho K, Sarda V, Falah S et al. Adaptive optics imaging of geographic atrophy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2013; 54: 3673–3680
- [74] Liu Z, Kocaoglu OP, Miller DT. 3D imaging of retinal pigment epithelial cells in the living human retina. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2016; 57: OCT533–OCT543
- [75] Wood EH, Leng T, Schachar IH et al. Multi-modal longitudinal evaluation of subthreshold laser lesions in human retina, including scanning laser ophthalmoscope-adaptive optics imaging. *Ophthalmic Surg Lasers Imaging Retina* 2016; 47: 268–275
- [76] Rossi EA, Rangel-Fonseca P, Parkins K et al. In vivo imaging of retinal pigment epithelium cells in age related macular degeneration. *Biomed Opt Express* 2013; 4: 2527–2539
- [77] Syed R, Sundquist SM, Ratnam K et al. High-resolution images of retinal structure in patients with choroideremia. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2013; 54: 950–961
- [78] Duncan JL, Talcott KE, Ratnam K et al. Cone structure in retinal degeneration associated with mutations in the peripherin/RDS gene. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011; 52: 1557–1566
- [79] Harmening WM. Adaptive Optiken in der Augenheilkunde. *Ophthalmologie* 2017; [im Druck]
- [80] Yoon MK, Roorda A, Zhang Y et al. Adaptive optics scanning laser ophthalmoscopy images in a family with the mitochondrial DNA T8993C mutation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2009; 50: 1838–1847
- [81] Hammer DX, Ferguson RD, Bigelow CE et al. Adaptive optics scanning laser ophthalmoscope for stabilized retinal imaging. *Opt Express* 2006; 14: 3354–3367
- [82] Sheehy CK, Tiruveedhula P, Sabesan R et al. Active eye-tracking for an adaptive optics scanning laser ophthalmoscope. *Biomed Opt Express* 2015; 6: 2611–2622
- [83] Ferguson RD, Zhong Z, Hammer DX et al. Adaptive optics scanning laser ophthalmoscope with integrated wide-field retinal imaging and tracking. *J Opt Soc Am A Opt Image Sci Vis* 2010; 27: A265–A277
- [84] Wang Q, Tuten WS, Lujan BJ et al. Adaptive optics microperimetry and OCT images show preserved function and recovery of cone visibility in macular telangiectasia type 2 retinal lesions. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2015; 56: 778–786
- [85] Tuten WS, Tiruveedhula P, Roorda A. Adaptive optics scanning laser ophthalmoscope-based microperimetry. *Optom Vis Sci* 2012; 89: 563–574
- [86] Hofer HJ, Singer B, Williams DR. Different sensations from cones with the same photopigment. *J Vis* 2005; 5: 444–454
- [87] Sincich LC, Zhang Y, Tiruveedhula P et al. Resolving single cone inputs to visual receptive fields. *Nat Neurosci* 2009; 12: 967–969
- [88] Harmening WM, Tiruveedhula P, Roorda A et al. Measurement and correction of transverse chromatic offsets for multi-wavelength retinal microscopy in the living eye. *Biomed Opt Express* 2012; 3: 2066–2077
- [89] Sabesan R, Schmidt BP, Tuten WS et al. The elementary representation of spatial and color vision in the human retina. *Sci Adv* 2016; 2: e1600797
- [90] Tuten WS, Harmening WM, Sabesan R et al. Psychophysical evidence for inhibitory lateral interactions between individual cones in the parafovea. *Investigative Ophthalmology & Visual Science* 2016; 57: 12