

**Aus der Universitätsklinik und Poliklinik für Augenheilkunde  
an der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg**  
(Direktor: Prof. Dr. med. habil. Gernot I. W. Duncker)

**MORPHOLOGISCHE UND FUNKTIONELLE VERÄNDERUNGEN  
DER RETINA VON MÄUSEN  
NACH CHRONISCHER GABE VON  
AMIODARON**

Dissertation  
zur Erlangung des akademischen Grades  
Doktor der Medizin (Dr. med.)

vorgelegt  
der Medizinischen Fakultät  
der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

von Laura Enikö Simon  
geboren am 22.05.1977 in Reghin

Gutachter:

1. Prof. Dr. med. G.I.W. Duncker
2. Prof. Dr. med. M. Weiss
3. Prof. Dr. med. H. Krastel

Eröffnet am: 04.03.2003

Verteidigt am: 09.02.2004

**urn:nbn:de:gbv:3-000006307**

[<http://nbn-resolving.de/urn/resolver.pl?urn=nbn%3Ade%3Agbv%3A3-000006307>]

## Referat

**Zielsetzung:** Unter Verwendung von elektrophysiologischen Methoden wie der Elektroretinographie im Vergleich mit histologischen Untersuchungen sollen die durch Amiodaron als kationisch-amphiphiler Substanz verursachten lipidotischen Schädigungen der Retina von Mäusen lokalisiert werden.

**Material und Methoden:** Für die Versuche wurden pigmentierte Mäuse vom Zuchtstamm Black CL 57 insgesamt 22 Wochen lang mit Amiodaron gefüttert. Die durchschnittlich aufgenommene Arzneimittel-Tagesdosis betrug 176,15 mg pro Kilogramm Körpergewicht. Zu Beginn der Versuchsreihe, sowie nach 4, 8 und 22 Wochen wurden die Elektroretinogramme abgeleitet. Nach den Messungen erfolgten jeweils die Entnahmen der Präparate für die Histologie.

**Ergebnisse:** Es ließen sich weder nach 4, nach 8 oder 22 Wochen im Vergleich zu den Ausgangswerten signifikante Änderungen der Amplituden a und b sowie der Gipfelzeiten a und b in den gemessenen Elektroretinogrammen nachweisen. In den histologischen Präparaten waren lichtmikroskopisch keine lipidotischen Einlagerungen sichtbar geworden.

**Schlußfolgerungen:** Trotz der relativ hohen Applikation von Amiodaron im Mäusemodell konnten weder funktionelle Veränderungen im ERG noch lichtmikroskopische Veränderungen an der Mäuseretina nachgewiesen werden. Erst der geplante Einsatz von diffizileren Untersuchungsmethoden erlaubt eine abschließende Beurteilung der Retinotoxizität von Amiodaron. In der frühen Funktionsdiagnostik zur Beurteilung von okulären Nebenwirkungen von Amiodaron zeigt das ERG keine pathologischen Veränderungen und korreliert damit mit den lichtmikroskopischen Befunden.

Simon, Laura Enikö: MORPHOLOGISCHE UND FUNKTIONELLE VERÄNDERUNGEN DER RETINA VON MÄUSEN NACH CHRONISCHER GABE VON AMIODARON. Halle, Univ., Med. Fak., Diss., 39 Seiten, 2003

## Inhaltsverzeichnis

## Seite

### Verzeichnis der Abkürzungen und Symbole

<b>1</b>	<b>Einleitung</b>	<b>1</b>
1.1	Amiodaron: Substanz, Wirkung und Nebenwirkung	2
1.2	Das Elektroretinogramm	3
1.3	Fragestellung und Ziel der Untersuchungen	4
<b>2</b>	<b>Material und Methoden</b>	<b>4</b>
2.1	Versuchstiere	4
2.2	Haltung	6
2.2.1	Dunkeladaptation und Betäubung	6
2.3	Meßsystem	6
2.3.1	Stimulationsgerät	6
2.3.2	ERG-Verstärker	7
2.3.3	Elektroden	7
2.3.4	Computerauswertung	7
2.3.5	Reizprogramm	8
2.3.6	Statistik	8
2.4	Histologische Präparate	9
2.4.1	Präparation des Gewebes	9
2.4.2	Herstellung der Präparate	9
<b>3</b>	<b>Ergebnisse</b>	<b>10</b>
3.1	Ergebnisse ERG	10
3.1.1	Ergebnisse für die Amplitude a (AA)	10
3.1.2	Ergebnisse für die Amplitude b (AB)	12
3.1.3	Ergebnisse für die Gipfelzeit a (GZA)	14
3.1.4	Ergebnisse für die Gipfelzeit b (GZB)	16
3.2	Ergebnisse Histologie	18
<b>4</b>	<b>Diskussion</b>	<b>21</b>

<b>5</b>	<b>Zusammenfassung</b>	<b>26</b>
<b>6</b>	<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>29</b>
<b>7</b>	<b>Thesen</b>	<b>38</b>

**Lebenslauf**

**Selbständigkeitserklärung und Erklärung über frühere Promotionsversuche**

**Publikationen von Ergebnissen der Arbeit**

**Danksagung**

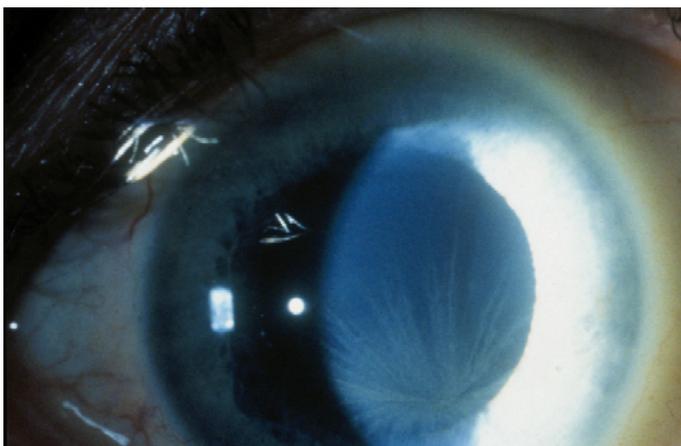
## Verzeichnis der Abkürzungen und Symbole

AA	Amplitude a
AB	Amplitude b
Abb.	Abbildung
°C	Grad Celsius
DDE	Dynamic Data Exchange
EOG	Elektrookulogramm
ERG	Elektroretinogramm
FRP	Frühes Rezeptorpotential
g	Gramm
GZA	Gipfelzeit a
GZB	Gipfelzeit b
H <sub>0</sub>	Nullhypothese
Hz	Hertz
kg	Kilogramm
KGW	Körpergewicht
KiloΩ	Kilo Ohm
Lumen/cm <sup>2</sup>	Lumen per Quadratzentimeter
mcđ	Millicandela
mg	Milligramm
mg/kg	Milligramm per Kilogramm
MHz	Mega Hertz
msec/m <sup>2</sup>	Millisekunden per Quadratmeter
MΩ	Mega Ohm
μm	Mikrometer
μsec	Mikrosekunden
OP	Oszillatorisches Potential
PC	Personal Computer
%	Prozent
vgl.	vergleiche
vs.	versus
z.B.	zum Beispiel
ZMG	Zentrum für Medizinische Grundlagenforschung

## 1 Einleitung

Die chronische Einnahme von kationisch-amphiphilen Medikamenten verursacht beim Menschen eine generalisierte lysosomale Lipidspeicherung, die auch als Lipidose bezeichnet wird. Hierbei bilden die Pharmaka mit polaren Lipiden Komplexe, so daß ihr hydrolytischer Abbau durch den menschlichen Organismus erschwert wird. Diese Tatsache führt zwangsläufig dazu, daß in zahlreichen Organen Einlagerungen nachzuweisen sind. Zu diesen gehört auch die Retina. Es konnte bereits nachgewiesen werden, daß sich unterschiedliche kationisch-amphiphile Substanzen in verschiedenen Netzhautarealen anreichern. Das Antimalariamittel Chloroquin bewirkt zum Beispiel eine Lipidose im Bereich der Ganglienzellen, der Müllerzellen und der Neuronen der inneren Körnerschicht (Ivanina et al. 1983) während das ebenfalls amphiphile Anorektikum Chlorphentermin eine Lipidose insbesondere im Pigmentepithel zu induzieren vermag (Lüllmann-Rauch 1976).

Eine retinale Lipidose soll auch das Pharmakon Amiodaron, welches ebenfalls kationisch-amphiphile Anteile enthält, aufweisen (Bockhardt et al. 1978a). Des weiteren werden auch lipidotische Ablagerungen an der Oberfläche der Cornea (siehe Abb. 1) sowie Photosensibilitätsstörungen mit Amiodaron in Verbindung gebracht. Die funktionellen Auswirkungen der Amiodaron-induzierten Lipidose sind bisher nur unzureichend untersucht.



*Abb. 1: Hornhautablagerungen bei einem Patienten unter Amiodaron-Langzeittherapie.  
Quelle: Universitätsklinik und Poliklinik für Augenheilkunde an der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg*



Schilddrüsenhormonen T3 und T4 verursacht Amiodaron auch Störungen der Schilddrüsenfunktion (Heufelder und Wiersinga 1999).

Durch den kationisch-amphiphilen Charakter bewirkt Amiodaron eine lysosomale Speicherung von polaren Lipiden, die am Auge zu Einschlüssen in der Hornhaut und den Konjunktiven geführt hat (D'Amico und Kenyon 1981). Ingram (1983) konnte ebenfalls eine Keratopathie bei Patienten mit einer Langzeittherapie beobachten. Linsentrübungen (Flach et al. 1983), Papillopathie (Gittinger und Asdourian 1987) sowie Optikus-Neuropathie (Feiner et al. 1987, Garrett et al. 1988, Nazarian und Jay 1988) sind auch auf die Lipidose-induzierende Wirkung von Amiodaron zurückzuführen.

## 1.2 Das Elektretinogramm

Im Elektretinogramm (ERG) werden die von der Cornea gegen den Fundus meßbaren Potentialveränderungen des Auges bei Lichtreiz dargestellt (siehe Abb. 3). Somit kann das ERG als licht-evoziertes Summenaktionspotential des Wirbeltierauges verstanden werden (Niemeyer 1979). Nach der Reizung zeigt sich dabei zuerst eine schnelle Potentialerhöhung mit nachfolgender, etwas größerer Senkung. Diesem "frühen Rezeptorpotential" (FRP) folgt eine elektronegative Phase mit doppeltem Gipfel ( $a_1$ ,  $a_2$ ), a-Welle genannt. Dem anschließenden Anstieg des Potentials zu seiner größten Amplitude, der b-Welle, überlagern sich höherfrequente Bestandteile und bilden die "oszillatorischen Potentiale" (OP), die als  $x_1$ ,  $x_2$  und  $x_3$  bezeichnet werden. Der b-Welle folgt ein erneuter, langgezogener Anstieg, die c-Welle.

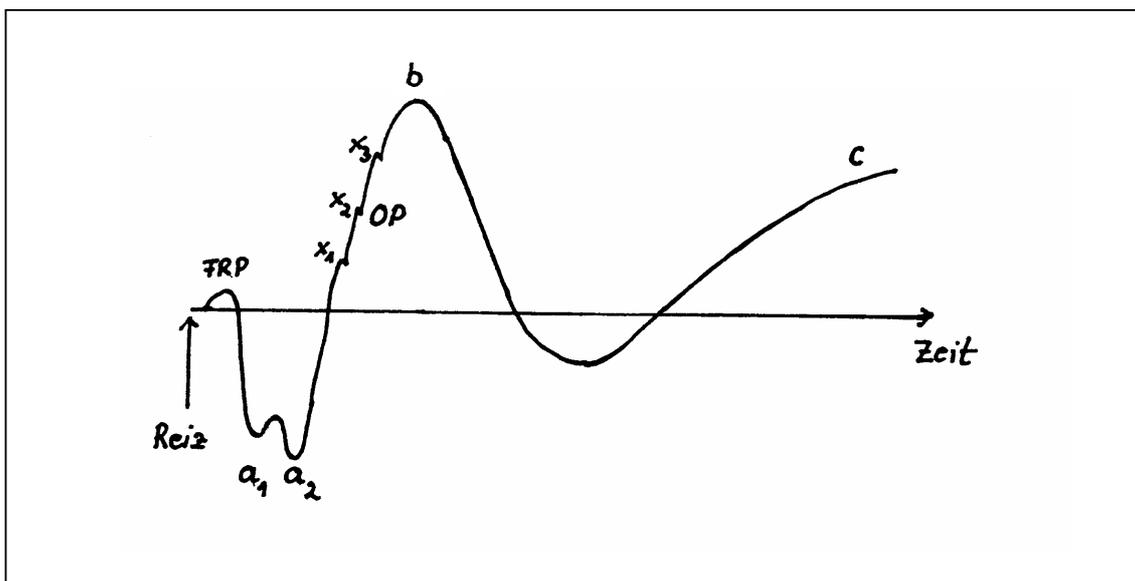


Abb. 3: Elektretinogramm (ERG) nach Rütther (1996).

Die verschiedenen Komponenten des ERG spiegeln die Funktionen unterschiedlicher Anteile der Netzhaut wider. Das "frühe Rezeptorpotential" entsteht durch Photopigmentveränderungen in den Rezeptoren, die a-Welle wird durch die Hyperpolarisierung der Photorezeptoren, also der Stäbchen und Zapfen, als Folge eines Transduktionsprozesses generiert (Rüther 1996, Brown und Wiesel 1961, Miller und Dowling 1970, Berson 1975). Die Depolarisation der Müllerzellen und der Bipolarzellen der inneren Körnerschicht kommt in der b-Welle zur Darstellung und die c-Welle ist die Summe der Hyperpolarisation der Müllerzellen und der Pigmentepithel-Apikalmembran (Rüther 1996, Brown und Wiesel 1961, Miller und Dowling 1970, Berson 1975, Niemeyer 1976). Die "oszillatorischen Potentiale" haben ihren Ursprung in der inneren plexiformen Schicht (Rüther 1996). Der für die Durchführung klinischer ERGs etablierte weltweite Standard von Jacobi et al. (1993), der die Vergleichbarkeit klinischer und grundlagenwissenschaftlicher Untersuchungen erleichtert, wurde von uns dem Versuchsaufbau zugrunde gelegt.

### **1.3 Fragestellung und Ziel der Untersuchungen**

Unter Verwendung von elektrophysiologischen Methoden wie der Elektroretinographie im Vergleich mit histologischen Untersuchungen sollen die eventuell durch Amiodaron verursachten Schädigungen der Retina sichtbar gemacht und lokalisiert werden.

Im einzelnen sollen durch die Versuchsreihe folgende Fragen beantwortet werden:

1. Wird durch Amiodaron eine Lipidose in der Retina von Mäusen induziert?
2. Treten in Folge der Lipidose ERG-Veränderungen auf? Wenn ja, welche?
3. Sind die Resultate ähnlich den bisherigen Erkenntnissen auf diesem Gebiet oder gibt es Abweichungen?
4. Inwieweit sind diese Ergebnisse mit Wirkungen auf die menschliche Retina vergleichbar?
5. Können die histologischen Präparate Schädigungen der Retina bestätigen?
6. Falls lichtmikroskopisch eine Lipidose nachweisbar ist, in welchen Schichten der Netzhaut ist sie hauptsächlich lokalisiert?

## **2 Material und Methoden**

### **2.1 Versuchstiere**

Für die Versuche wurden pigmentierte Mäuse vom Zuchtstamm Black CL 57 verwendet. Die anfängliche Versuchsgruppe bildeten 21 weibliche Tiere im Alter von 4

Wochen; die Kontrollgruppe bestand aus 20 ebenfalls 4 Wochen alten, weiblichen Tieren (siehe Abb. 4). Ihr Gewicht betrug durchschnittlich 20 Gramm.

Die Versuchstiere wurden vor Versuchsbeginn zwei Wochen zur Adaptation mit Normalfutter (Altromin-Lage) gefüttert. Danach wurde ein Normalfutter-Amiodaron-Gemisch bestehend aus 500 g Normalfutter und 400 mg Amiodaron hergestellt. Aus dem Futterverbrauch und dem alle drei Tage registrierten Gewicht konnte die durch die Tiere über die Nahrung aufgenommene Arzneimittelkonzentration berechnet werden. Es ergab sich für den Behandlungszeitraum von 22 Wochen für Amiodaron die Tagesdosis von 176,15 mg pro Kilogramm Körpergewicht. Nach 22 Wochen wurde die Medikamentengabe beendet und die Mäuse erhielten weiter Normalfutter.

ERG-Untersuchungen sind zu Beginn der Versuchsreihe, sowie nach 4, 8, und 22 Wochen durchgeführt worden. Nach den genannten Zeitintervallen wurden einige Mäuse zur histologischen Untersuchung vorbereitet. Über die Zahl der während der Versuchsreihe verstorbenen, beziehungsweise zur Histologie verwendeten Tiere geben Abb. 5a und 5b Auskunft.

	0 Wo.	4 Wo.	8 Wo.	22 Wo.
Versuchstiere	21	19	16	10
Kontrollen	20	13	17	16

Abb. 4: Zahl der in den jeweiligen Wochen gemessenen Tiere.

	0 Wo.	4 Wo.	8 Wo.	22 Wo.
Histologie	0	0	3	2
Verstorben	2	3	0	0

Abb. 5a: Abgänge zur Histologie bzw. verstorben aus der Gruppe der Versuchstiere.

	0 Wo.	4 Wo.	8 Wo.	22 Wo.
Histologie	0	0	1	1
Verstorben	0	1	0	0

Abb. 5b: Abgänge zur Histologie bzw. verstorben aus der Gruppe der Kontrolltiere.

## **2.2 Haltung**

Die Mäuse sind als Fünfergruppen in Gitterlaufkäfigen untergebracht und bei etwa 20°C Raumtemperatur ihrem natürlichen Tagesrhythmus entsprechend gehalten worden. Ihre Nahrung erhielten sie als gemahlenes Trockenfutter (Altromin-Lage), dem auch die erforderliche Tagesdosis Amiodaron beigemischt war. Trinkwasser war für die Tiere frei zugänglich entsprechend ihren Bedürfnissen.

### **2.2.1 Dunkeladaptation und Betäubung**

Vor dem Ableitungstag verbrachten die Tiere 14 Stunden in lichtundurchlässigen Kästen in einem verdunkelten Raum und wurden auf diese Weise dunkeladaptiert.

Unmittelbar vor den Ableitungen erhielten die Mäuse als Anästhetikum eine intraperitoneale Mischinjektion bestehend aus Ketavet® 100 mg/kg und Rompun® 1,5 mg/kg (Schaeppi et al. 1988). Ketavet® führt zu einer Analgesie bei bestehender freier Atmung und Erhaltung der Cornealreflexe. Rompun® hat analgetische, betäubende und muskelrelaxierende Wirkungen. Eine Pupillendilatation erfolgte mit Neosynephrin 5% und Tropicamid 5,0 mg.

## **2.3 Meßsystem**

Das Meßsystem bestand aus einem Ganzfeldstimulationsgerät, einem ERG-Verstärker, einer Vorrichtung zur sicheren Applikation der Elektroden auf der Hornhaut und einer Zustelleinrichtung zur Positionierung der Versuchstiere im Ganzfeldstimulator. Vervollständigt wurde das System durch einen Computer mit Kontrollbildschirm und der passenden Software.

Die Meßeinrichtung und die Versuchsdurchführung wurden in Zusammenarbeit mit dem Zentrum für Medizinische Grundlagenforschung (ZMG) entsprechend angepaßt, so daß eine Stimulation der Retina mit verschiedenen Reizen wie Einzel- und Serienblitzen, Ganzfeldstimulation, variabler Lichtintensität und Reizdauer unabhängig von der Tierspezies (zum Beispiel Maus oder Ratte) möglich war.

### **2.3.1 Stimulationsgerät**

Der Ganzfeldstimulator emittierte durch eine Xenonlampe Einzelblitze von 10µsec. Dauer. Die Intensität der Einzelblitze konnte über mehrere Stufen eingestellt werden, wobei die maximal erreichbare Intensität 25 Lumen/cm<sup>2</sup> betrug. Die Triggerung und Steuerung der Beleuchtungsstärke erfolgte über den PC.

### 2.3.2 ERG-Verstärker

Der verwendete Verstärker verfügte über zwei Kanäle und hatte eine Bandbreite von 0,03-1000 Hz. Der Eingangswiderstand betrug 1 M $\Omega$ . Eine 100-, 1000- oder 10000fache Verstärkung konnte über den PC eingestellt werden.

### 2.3.3 Elektroden

Die Corneaelektrode hatte einen Durchmesser von 2 mm und bestand aus einer 0,25 mm dicken Platinschleife, die mit Methocel-Gel zur Verbesserung des Kontaktes mit der Hornhaut angelegt wurde. Die Referenzelektrode, eine Platinnadel, wurde subkutan medial über dem Nasenbein eingestochen. Die Erdung erfolgte über eine subkutan in das Schwanzfell eingestochene Edelstahlnadel. Das Anbringen der Elektroden geschah unter Rotlicht. Danach erfolgte eine Impedanzmessung der Referenz- und Aktivelektroden, die unter 10 Kilo $\Omega$  liegen sollten.

### 2.3.4 Computerauswertung

Das Einlesen der Meßwerte erfolgte über einen Pentium-PC mit 200 MHz und 64 MByte RAM unter Windows NT 4,0 mit zwei Datenerfassungskarten: National Instruments DAQ 516 im PCI MIO 16 XE 50 Format und DIO 24 im PCMCIA Format. Die Software für den ERG-Meßplatz wurde mit der Grafischen Programmierung LabVIEW erstellt. Zur Datenerfassung mußten vom Programm folgende Anforderungen erfüllt werden: Bereitstellung einer im Dunkeln einfach zu bedienenden grafischen Benutzeroberfläche mit sofortiger Anzeige der ERG-Ableitung (siehe Abb. 6), Erfassung von ERG-Analogdaten über einen Zeitraum von 1-40 sec. und parallel dazu die Ausgabe zeitlich definierter Stimulationsimpulse mit einer Folgefrequenz von bis zu 30 Hz sowie die Speicherung der Meßdaten in Dateien mit vordefinierten Namen.

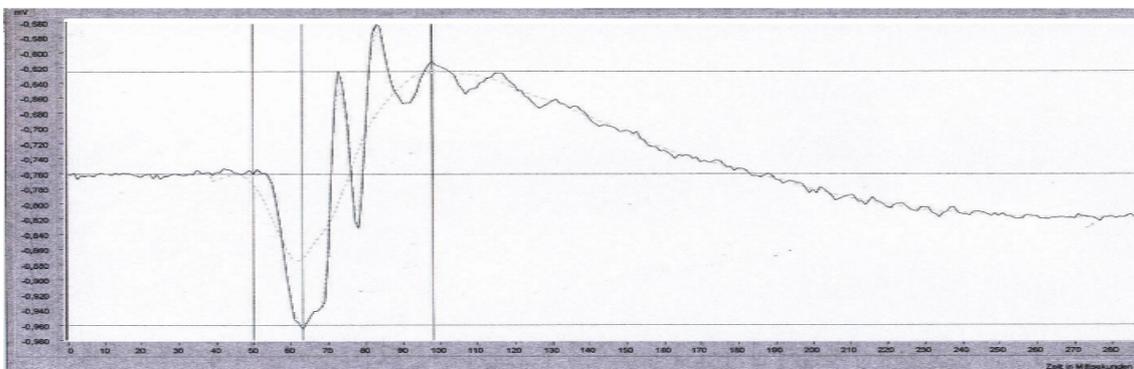


Abb. 6: Original Mäuse-ERG vor Beginn der Behandlung mit Amiodaron.  
Dunkeladaptation für 14 Stunden, Reizdauer 10  $\mu$ sec., Lichtintensität 3000 mcd.

Die Auswertung der Daten stellte an das Programm auch einige Bedingungen, unter anderem: Einlesen und Anzeigen der ERG-Dateien, interaktive oder manuelle Merkmalsextraktionen und komfortable Übergabe der ermittelten Parameter mittels DDE (Dynamic Data Exchange) nach EXCEL.

### 2.3.5 Reizprogramm

Das Reizprogramm bestand aus skotopischen Einzelblitzen von 3000 msec/m<sup>2</sup>. Die Messungen wurden nach dem Anlegen der Elektroden am rechten und dann am linken Auge durchgeführt.

Die Lichtstärke von 3000 mcd ist für die ERG-Auswertung im Sinne der Vergleichbarkeit gewählt worden, denn sie entspricht dem Standardblitz am menschlichen Auge.

### 2.3.6 Statistik

Zur Auswertung der Ergebnisse wurde das Statistikprogramm SPSS 10.0 für Windows angewandt.

Zu Beginn der statistischen Auswertung wurden die ermittelten Werte der Amplituden a und b sowie die der Gipfelzeiten a und b der rechten und der linken Augen mittels SPSS-Programm aggregiert .

Mit Hilfe der Varianzanalyse mit Meßwiederholung (SPSS Advanced Model 10.0 1999) und der graphischen Darstellung mittels Boxplots sollte der Einfluß des Amiodarons auf die erhobenen Daten geprüft und verdeutlicht werden. Dabei wurden die benutzten Variablen wie folgt definiert: als Innersubjektfaktor wurde die Variable Zeit (4 Stufen: 0, 4, 8, 22 Wochen) festgelegt und als Zwischensubjektfaktor die Variablen Medikament vs. Kontrolle (siehe Abb. 7a und 7b).

#### Innersubjektfaktoren

Zeit	Abhängige Variable
1	0 Wo.
2	4 Wo.
3	8 Wo.
4	22 Wo.

Abb. 7a: Definition des Innersubjektfaktors

#### Zwischensubjektfaktoren

		N
Medikament	Amiodaron	10
	Kontrolle	10

Abb. 7b: Definition des Zwischensubjektfaktors

Statistische Tests auf Haupteffekte ( $H_0$ : keine Änderung im Mittel über die Zeit;  $H_0$ : im Mittel über die Zeit keine Unterschiede zwischen Medikament und Kontrolle) und dem Wechselwirkungseffekt ( $H_0$ : die mittleren Zeitverläufe zwischen Medikamentengruppe und Kontrollgruppe verlaufen parallel) wurden durchgeführt.

## **2.4 Histologische Präparate**

### **2.4.1 Präparation des Gewebes**

Die Tiere wurden durch intraperitoneale Mischinjektion von 10%-igem Ketaminhydrochlorid (Ketavet®) 80-130 mg/kg Körpergewicht entsprechend 0,8-1,3 ml/100g Körpergewicht und 5%-igem Xylazine-Hydrochlorid (Rompun®) 4 ml/100kg Körpergewicht in tiefe Narkose versetzt. Der Thorax wurde von abdominal inzidiert und eröffnet, ebenso der linke Vorhof, durch den eine Kanüle bis zur Aorta ascendens vorgeschoben und mit einer Gefäßklemme fixiert wurde. Danach wurde das Gefäßsystem mit einer Fixierlösung, bestehend aus 3%-igem Glutaraldehyd in 0,1 molarem Phosphatpuffer (pH 7,4), perfundiert, wozu der rechte Vorhof eröffnet und das Kreislaufsystem dreimal mit 5 ml der Fixierlösung gespült werden mußte. Um eine Vasokonstriktion zu verhindern, wurde den ersten 5 ml der Perfusionslösung 1%-iges Procain-HCl® (Sigma-Werke München) zugesetzt. Nach Kennzeichnung des nasalen Anteils des rechten und linken Auges mit Hilfe eines an der Tenonschen Kapsel oder am periorbitalen Gewebe angenähten Fadens (farblich codiert für rechts und links) wurden die Bulbi vorsichtig enukleiert.

### **2.4.2 Herstellung der Präparate**

Die entnommenen Augen wurden durch einen sagittalen Schnitt mit der Rasierklinge in zwei Hälften geteilt, die eine Übersicht von Hornhaut, peripherer und zentraler Netzhaut boten. Danach wurden die Retinae mit 3%-igem Glutaraldehyd in 0,1 molarem Phosphatpuffer (pH 7,4) fixiert. Das Gewebe ist dann in 0,1 molarem Phosphatpuffer (pH 7,4) gespült und in 2%-iger ungepufferter Osmium-Lösung für zwei Stunden nachfixiert worden. Danach wurde das Gewebe in aufsteigender Alkoholreihe (50%, 70%, 90% und 100%) entwässert und über das Intermedium Propylenoxid in Araldit eingebettet. Die Semidünnschnitte (1  $\mu$ m) für die Lichtmikroskopie sind mit Glasmessern am Reichert' Mikrotom angefertigt und mit 0,1%-iger Toluidinblaulösung gefärbt, sowie mit einem Photomikroskop (Zeiss, Typ 3) fotografiert worden.

### 3 Ergebnisse

#### 3.1 Ergebnisse ERG

##### 3.1.1 Ergebnisse für die Amplitude a (AA)

Im Folgenden wird die statistische Auswertung für die Amplitude a bei 3000 mcd dargestellt (siehe Abb. 8a-e).

##### Deskriptive Statistiken

	Medikament	Mittelwert	Standard- abweichung	N
AA 0 Wo.	Amiodaron	-0,1516	0,005702	10
	Kontrolle	-0,1487	0,002311	10
AA 4 Wo.	Amiodaron	-0,0055	0,003013	10
	Kontrolle	-0,1044	0,003135	10
AA 8 Wo.	Amiodaron	-0,1151	0,003581	10
	Kontrolle	-0,1131	0,004867	10
AA 22 Wo.	Amiodaron	-0,1644	0,006078	10
	Kontrolle	-0,1963	0,003917	10

Abb. 8a: Darstellung der Mittelwerte und der Standardabweichungen für die Amplitude a zu den jeweiligen Meßzeitpunkten für Amiodaron und für die Kontrollen.

##### Tests der Innersubjekteffekte

	Signifikanz
Zeit	0,000
Zeit * Medikament	0,152

Abb. 8b: Darstellung des Wechselwirkungseffektes zwischen Amiodaron und Kontrollen für die Amplitude a.

Aus der obigen Tabelle (siehe Abb. 8b) wird deutlich, daß signifikante Veränderungen der Amplitude a über die Zeit auftreten. Die mittleren Zeitverläufe zwischen Medikamentengruppe und Kontrollgruppe verlaufen aber parallel. Bei einem Signifikanzniveau von  $p < 0,05$  lassen sich keine signifikanten Wechselwirkungseffekte zwischen Amiodaron und Kontrollen feststellen.

##### Tests der Innersubjektkontraste

Quelle	Zeit	Signifikanz
Zeit	Stufe 2 gegen Stufe 1	0,000
	Stufe 3 gegen Stufe 1	0,018
	Stufe 4 gegen Stufe 1	0,071

Abb. 8c: Darstellung der Veränderung der Amplitude a über die Zeit bezogen auf die Ausgangsmeßwerte.

Verglichen mit den Meßwerten bei 0 Wochen zeigen die Amplituden der a-Welle nach 4 und nach 8 Wochen signifikante Veränderungen (siehe Abb. 8c). Nach 22 Wochen treten im Vergleich mit den Ausgangsmeßwerten keine signifikanten Änderungen auf. Das Signifikanzniveau liegt auch hier bei  $p < 0,05$ .

### Tests der Zwischensubjekteffekte

Quelle	Signifikanz
Medikament	0,059

Abb. 8d: Darstellung der Veränderung über die Zeit zwischen Amiodaron und Kontrollen für die Amplitude a.

Im Mittel zeigen sich über die Zeit keine signifikanten Unterschiede zwischen Medikament und Kontrollen (siehe Abb. 8d). Das Signifikanzniveau liegt bei  $p < 0,05$ .

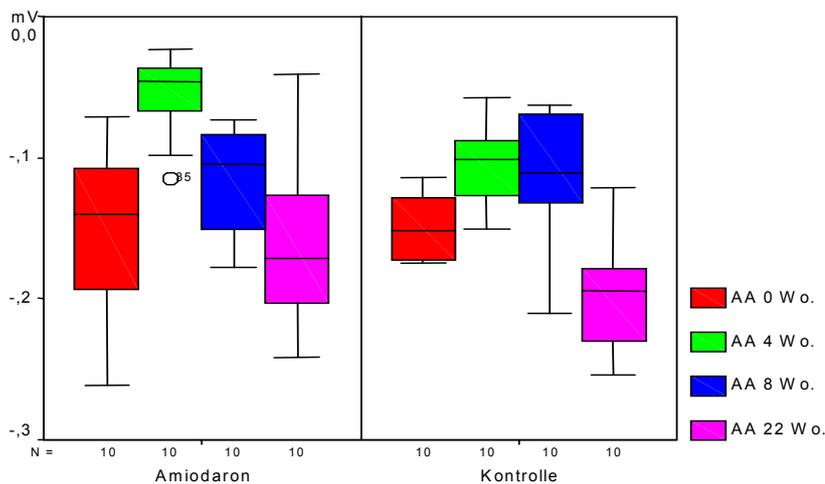


Abb. 8e: Graphische Darstellung der Amplitude a zu den jeweiligen Meßzeitpunkten getrennt nach Amiodaron und Kontrollen.

Zusammenfassend kann man für die Amplitude a signifikante Änderungen über die Zeit feststellen. Es treten aber im Mittel über die Zeit keine signifikanten Unterschiede zwischen Medikament und Kontrollen auf und es lassen sich keine signifikanten Wechselwirkungseffekte zwischen Medikamentengruppe und Kontrollgruppe feststellen (siehe Abb. 8e).

### 3.1.2 Ergebnisse für die Amplitude b (AB)

Im Folgenden wird die statistische Auswertung für die Amplitude b bei 3000 mcd dargestellt (siehe Abb. 9a-e).

#### Deskriptive Statistiken

	Medikament	Mittelwert	Standard- abweichung	N
AB 0 Wo.	Amiodaron	0,2337	0,008163	10
	Kontrolle	0,2328	0,003728	10
AB 4 Wo.	Amiodaron	0,007855	0,003832	10
	Kontrolle	0,1373	0,004123	10
AB 8 Wo.	Amiodaron	0,1574	0,004518	10
	Kontrolle	0,1604	0,007380	10
AB 22 Wo.	Amiodaron	0,2189	0,009082	10
	Kontrolle	0,2578	0,006934	10

Abb. 9a: Darstellung der Mittelwerte und der Standardabweichungen für die Amplitude b zu den jeweiligen Meßzeitpunkten für Amiodaron und für die Kontrollen.

#### Tests der Innersubjekteffekte

	Signifikanz
Zeit	0,000
Zeit * Medikament	0,387

Abb. 9b: Darstellung des Wechselwirkungseffektes zwischen Amiodaron und Kontrollen für die Amplitude b.

Aus der obigen Tabelle (siehe Abb. 9b) wird deutlich, daß signifikante Veränderungen der Amplitude b über die Zeit auftreten. Die mittleren Zeitverläufe zwischen Medikamentengruppe und Kontrollgruppe verlaufen aber parallel. Bei einem Signifikanzniveau von  $p < 0,05$  lassen sich keine signifikanten Wechselwirkungseffekte zwischen Amiodaron und Kontrollen feststellen.

#### Tests der Innersubjektkontraste

Quelle	Zeit	Signifikanz
Zeit	Stufe 2 gegen Stufe 1	0,000
	Stufe 3 gegen Stufe 1	0,002
	Stufe 4 gegen Stufe 1	0,830

Abb. 9c: Darstellung der Veränderung der Amplitude b über die Zeit bezogen auf die Ausgangsmeßwerte

Verglichen mit den Meßwerten bei 0 Wochen zeigen die Amplituden der b-Welle nach 4 und nach 8 Wochen signifikante Veränderungen (siehe Abb. 9c). Nach 22 Wochen

treten im Vergleich mit den Ausgangsmeßwerten keine signifikanten Änderungen auf. Das Signifikanzniveau liegt auch hier bei  $p < 0,05$ .

### Tests der Zwischensubjekteffekte

Quelle	Signifikanz
Medikament	0,087

Abb. 9d: Darstellung der Veränderung über die Zeit zwischen Amiodaron und Kontrollen für die Amplitude b.

Im Mittel zeigen sich über die Zeit keine signifikanten Unterschiede zwischen Medikament und Kontrollen (siehe Abb. 9d). Das Signifikanzniveau liegt bei  $p < 0,05$ .

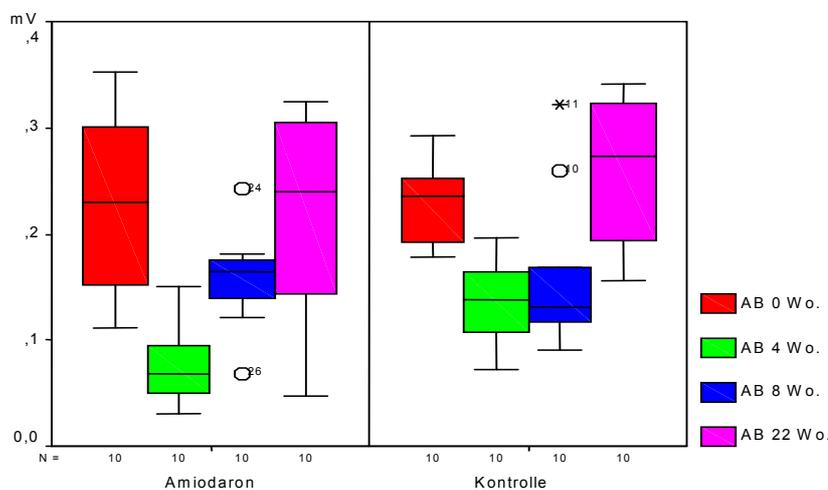


Abb. 9e: Graphische Darstellung der Amplitude b zu den jeweiligen Meßzeitpunkten getrennt nach Amiodaron und Kontrollen.

Zusammenfassend kann man für die Amplitude b signifikante Änderungen über die Zeit feststellen. Es treten aber im Mittel über die Zeit keine signifikanten Unterschiede zwischen Medikament und Kontrollen auf und es lassen sich keine signifikanten Wechselwirkungseffekte zwischen Medikamentengruppe und Kontrollgruppe feststellen (siehe Abb. 9e).

### 3.1.3 Ergebnisse für die Gipfelzeit a (GZA)

Im Folgenden wird die statistische Auswertung für die Gipfelzeit a bei 3000 mcd dargestellt (siehe Abb. 10a-e).

#### Deskriptive Statistiken

	Medikament	Mittelwert	Standard- abweichung	N
GZA 0 Wo.	Amiodaron	16,6487	4,2197	10
	Kontrolle	15,6184	1,0541	10
GZA 4 Wo.	Amiodaron	19,5230	4,2532	10
	Kontrolle	23,1563	2,7940	10
GZA 8 Wo.	Amiodaron	22,3116	16,5351	10
	Kontrolle	19,0891	2,1419	10
GZA 22 Wo.	Amiodaron	17,1911	1,6258	10
	Kontrolle	19,9568	4,5084	10

Abb. 10a: Darstellung der Mittelwerte und der Standardabweichungen für die Gipfelzeit a zu den jeweiligen Meßzeitpunkten für Amiodaron und für die Kontrollen.

#### Tests der Innersubjekteffekte

	Signifikanz
Zeit	0,068
Zeit * Medikament	0,326

Abb. 10b: Darstellung des Wechselwirkungseffektes zwischen Amiodaron und Kontrollen für die Gipfelzeit a.

Aus der obigen Tabelle (siehe Abb. 10b) wird deutlich, daß keine signifikanten Veränderungen der Gipfelzeit a über die Zeit auftreten. Die mittleren Zeitverläufe zwischen Medikamentengruppe und Kontrollgruppe verlaufen parallel. Bei einem Signifikanzniveau von  $p < 0,05$  lassen sich keine signifikanten Wechselwirkungseffekte zwischen Amiodaron und Kontrollen bezüglich der Gipfelzeit a feststellen.

#### Tests der Innersubjektkontraste

Quelle	Zeit	Signifikanz
Zeit	Stufe 2 gegen Stufe 1	0,000
	Stufe 3 gegen Stufe 1	0,119
	Stufe 4 gegen Stufe 1	0,027

Abb. 10c: Darstellung der Veränderung der Gipfelzeit a über die Zeit bezogen auf die Ausgangsmeßwerte.

Verglichen mit den Meßwerten bei 0 Wochen verändern sich die Gipfelzeiten der a-Welle nach 4 und nach 22 Wochen signifikant (siehe Abb. 10c). Nach 8 Wochen treten

dagegen im Vergleich mit den Ausgangsmeßwerten keine signifikanten Änderungen auf. Das Signifikanzniveau liegt auch hier bei  $p < 0,05$ .

### Tests der Zwischensubjekteffekte

Quelle	Signifikanz
Medikament	0,711

Abb. 10d: Darstellung der Veränderung über die Zeit zwischen Amiodaron und Kontrollen für die Gipfelzeit a.

Im Mittel zeigen sich über die Zeit keine signifikanten Unterschiede zwischen Medikament und Kontrollen (siehe Abb. 10d). Das Signifikanzniveau liegt bei  $p < 0,05$ .

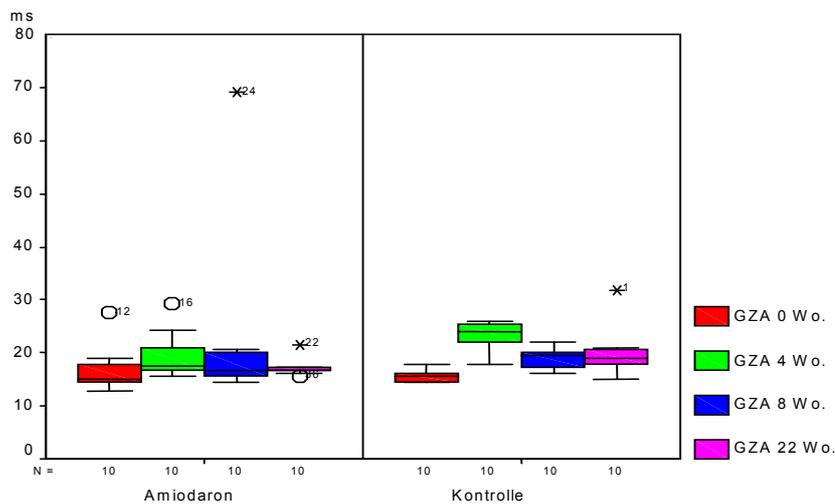


Abb. 10e: Graphische Darstellung der Gipfelzeit a zu den jeweiligen Meßzeitpunkte getrennt nach Amiodaron und Kontrollen.

Zusammenfassend kann man für die Gipfelzeit a keine signifikanten Änderungen über die Zeit feststellen. Es treten auch im Mittel über die Zeit keine signifikanten Unterschiede zwischen Medikament und Kontrollen auf und es lassen sich keine signifikanten Wechselwirkungseffekte zwischen Medikamentengruppe und Kontrollgruppe feststellen (siehe Abb. 10e).

### 3.1.4 Ergebnisse für die Gipfelzeit b (GZB)

Im folgenden wird die statistische Auswertung für die Gipfelzeit b bei 3000 mcd dargestellt (siehe Abb. 11a-e).

#### Deskriptive Statistiken

	Medikament	Mittelwert	Standard- abweichung	N
GZB 0 Wo.	Amiodaron	61,9305	9,7186	10
	Kontrolle	52,9283	4,6496	10
GZB 4 Wo.	Amiodaron	73,4272	14,1188	10
	Kontrolle	81,4533	11,5385	10
GZB 8 Wo.	Amiodaron	72,0605	19,9643	10
	Kontrolle	80,6941	9,3615	10
GZB 22 Wo.	Amiodaron	67,6248	15,4942	10
	Kontrolle	76,0845	12,3960	10

Abb. 11a: Darstellung der Mittelwerte und der Standardabweichungen für die Gipfelzeit b zu den jeweiligen Meßzeitpunkten für Amiodaron und für die Kontrollen

#### Tests der Innersubjekteffekte

	Signifikanz
Zeit	0,000
Zeit * Medikament	0,057

Abb. 11b: Darstellung des Wechselwirkungseffektes zwischen Amiodaron und Kontrollen für die Gipfelzeit b.

Aus der obigen Tabelle (siehe Abb. 11b) wird deutlich, daß signifikante Veränderungen der Gipfelzeit b über die Zeit auftreten. Die mittleren Zeitverläufe zwischen Medikamentengruppe und Kontrollgruppe verlaufen aber parallel. Bei einem Signifikanzniveau von  $p < 0,05$  lassen sich keine signifikanten Wechselwirkungseffekte zwischen Amiodaron und Kontrollen bezüglich der Gipfelzeit b feststellen.

#### Tests der Innersubjektkontraste

Quelle	Zeit	Signifikanz
Zeit	Stufe 2 gegen Stufe 1	0,000
	Stufe 3 gegen Stufe 1	0,000
	Stufe 4 gegen Stufe 1	0,000

Abb. 11c: Darstellung der Veränderung der Gipfelzeit b über die Zeit bezogen auf die Ausgangsmeßwerte.

Verglichen mit den Meßwerten bei 0 Wochen verändern sich die Gipfelzeiten der b-Welle nach 4, nach 8 und nach 22 Wochen signifikant (siehe Abb. 11c). Das Signifikanzniveau liegt auch hier bei  $p < 0,05$ .

## Tests der Zwischensubjekteffekte

Quelle	Signifikanz
Medikament	0,260

Abb. 11d: Darstellung der Veränderung über die Zeit zwischen Amiodaron und Kontrollen für die Gipfelzeit b.

Im Mittel zeigen sich über die Zeit keine signifikanten Unterschiede zwischen Medikament und Kontrollen (siehe Abb. 11d). Das Signifikanzniveau liegt bei  $p < 0,05$ .

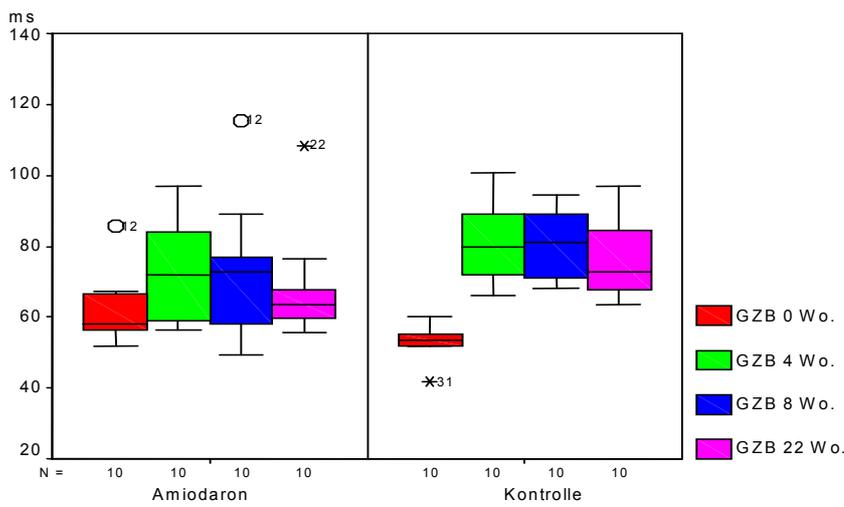


Abb. 11e: Graphische Darstellung der Gipfelzeit b zu den jeweiligen Meßzeitpunkten getrennt nach Amiodaron und nach Kontrollen.

Zusammenfassend kann man für die Gipfelzeit b signifikante Änderungen über die Zeit feststellen. Es treten aber im Mittel über die Zeit keine signifikanten Unterschiede zwischen Medikament und Kontrollen auf und es lassen sich keine signifikanten Wechselwirkungseffekte zwischen Medikamentengruppe und Kontrollgruppe feststellen (siehe Abb. 11e).

### 3.2 Ergebnisse Histologie

In den histologischen Präparaten, die nach 8 Wochen angefertigt wurden, waren lichtmikroskopisch keine Lipidose-ähnlichen Einschlüsse sichtbar. Das gleiche Ergebnis zeigte sich auch nach 22 wöchiger Fütterung mit Amiodaron: es ließ sich in keiner Zellschicht eine Lipidose nachweisen. Außer einer leichten Vakuolisierung in den Ganglienzellen sowie in den Müllerschen Stützzellen und im Pigmentepithel, die keine Folge der Amiodaron-Therapie ist, zeigen die folgenden Abbildungen 12a-d keine pathologischen Veränderungen.

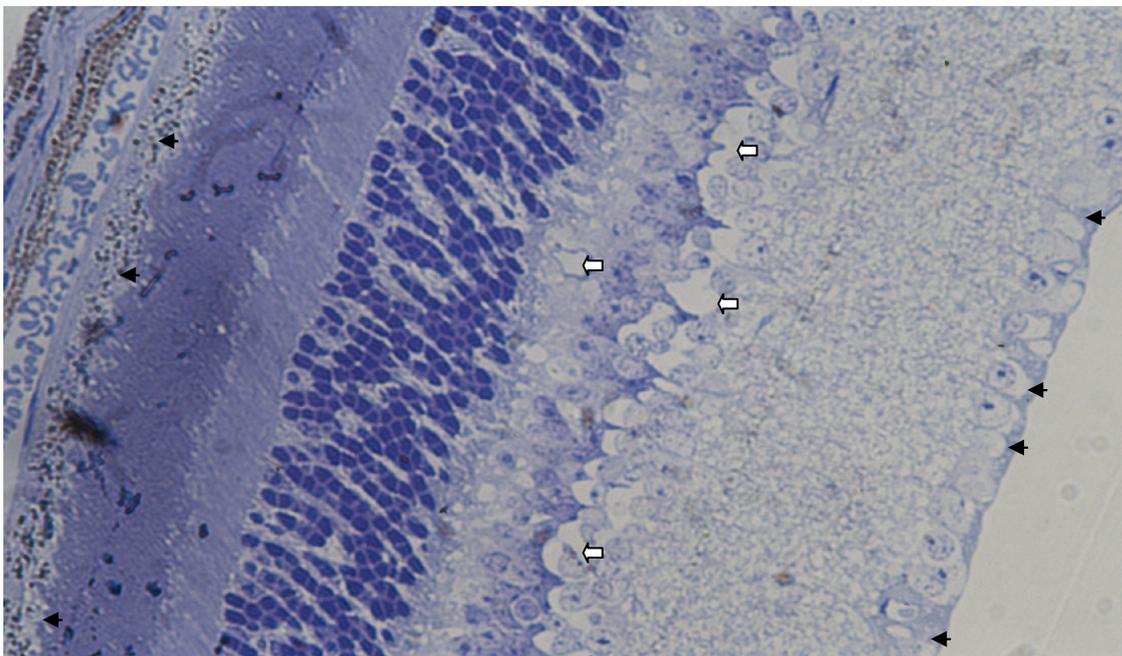


Abb. 12a: Lichtmikroskopisch keine Lipidose der Retina der Maus nach 8 wöchiger Behandlung mit Amiodaron (176,15 mg/kg KGW) sichtbar. Semidünnschnitte, Toluidinblau, 4500x.

- 
- ◀ Vakuolisierung u.a. in der Ganglienzellschicht und in der Pigmentepithelschicht.
  - ⇨ Spongiosierung in der inneren Körnerschicht als Artefakt.

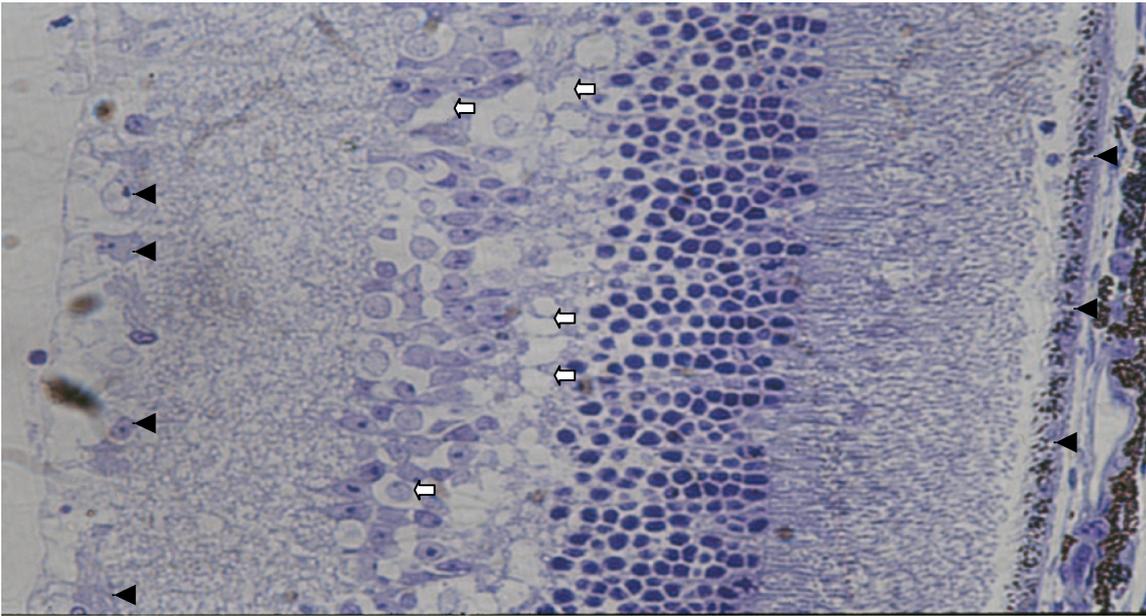


Abb. 12b: Lichtmikroskopisch keine Lipidose der Retina der Maus nach 22 wöchiger Behandlung mit Amiodaron (176,15 mg/kg KGW) sichtbar. Semidünnschnitte, Toluidinblau, 4500x.

- 
- ◀ Vakuolisierung u.a. in der Ganglienzellschicht und in der Pigmentepithelschicht.
  - ⇨ Spongiosierung in der inneren Körnerschicht als Artefakt.

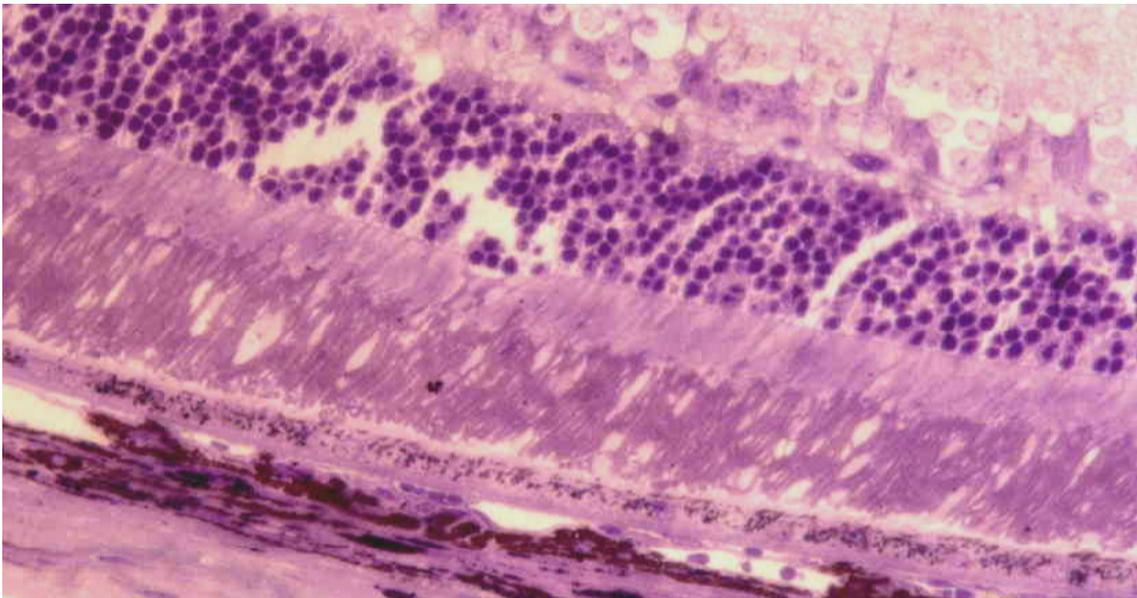
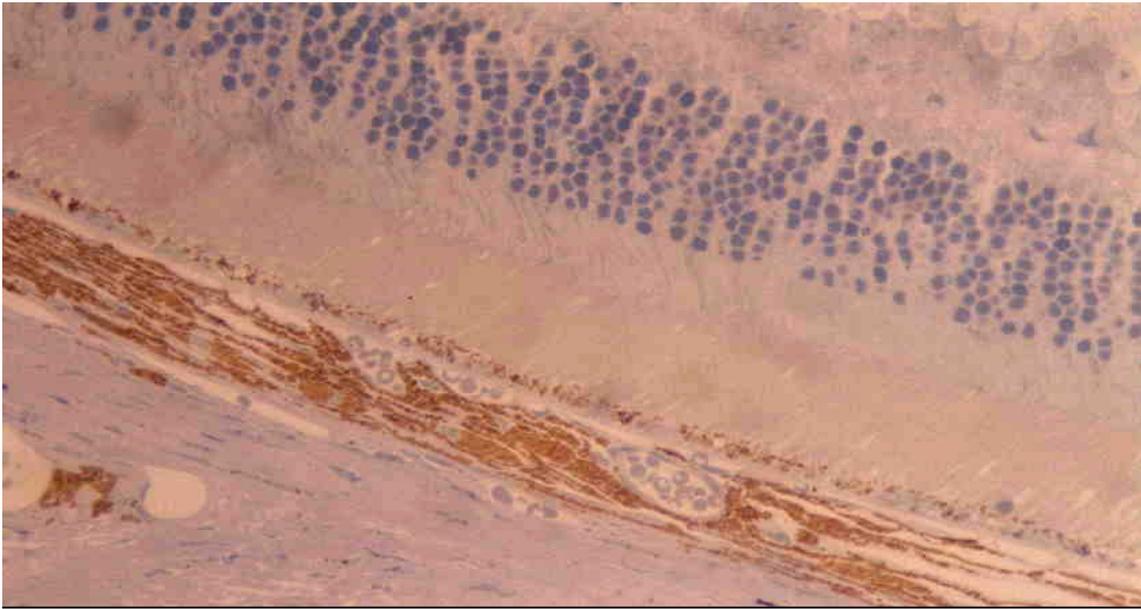


Abb. 12c: Lichtmikroskopische Darstellung der Kontrollmaus-Retina zum Vergleich. Semidünnschnitte, Toluidinblau, 4500x



*Abb. 12d: Lichtmikroskopische Darstellung der Kontrollmaus-Retina zum Vergleich.  
Semidünnschnitte, Toluidinblau, 4500x.*

#### 4 Diskussion

Es traten signifikante Änderungen der Amplituden a und b und der Gipfelzeit b über die Zeit auf. Es zeigten sich aber im Mittel über die Zeit keine signifikanten Unterschiede zwischen Amiodaron und Kontrollen. Es konnten auch keine signifikanten Wechselwirkungseffekte zwischen Medikamenten- und Kontrollgruppe festgestellt werden. Das Gesamtergebnis betrachtet, deuten die signifikanten Veränderungen über die Zeit am ehesten auf einen systematischen Fehler oder einen Meßfehler hin und sind nicht durch die Amiodaronwirkung zu erklären.

Auf der Grundlage der statistischen Auswertung lassen sich auch keine richtungsweisenden Tendenzen bezüglich einer eventuellen Frühwirkung des Amiodarons innerhalb der ersten 4 bzw. 8 Wochen der Versuchsreihe feststellen. Ebenso manifestiert sich auch keine Spätwirkung nach 22 Wochen.

Die fehlenden ERG-Veränderungen nach Amiodaron-Fütterung entsprechen der lichtmikroskopisch nicht nachweisbaren Lipidose der Retina der Mäuse.

Frühere Untersuchungen, elektrophysiologisch an Retinae von Mäusen die Wirkungen von Amiodaron nachzuweisen, sind uns aus der Literatur nicht bekannt.

Zu den ebenfalls kationisch-amphiphilen Substanzen, die zu einer Lipidose in unterschiedlichen Schichten der Retina sowie in anderen Organen führen, gehören Chloroquin und Chlorphentermin. ERG-Untersuchungen an Ratten, die mit Chloroquin bzw. mit Chlorphentermin über einen längeren Zeitraum behandelt wurden, zeigten deutliche Veränderungen der a- und b-Wellenparameter mit Abnahme der Amplituden und Verzögerung der Gipfelzeiten der a-Wellen und einer Abnahme der Amplituden der b-Wellen ohne Veränderung der entsprechenden Gipfelzeiten (Bredehorn et al. 1994, Duncker und Bredehorn 1994, Duncker et al. 1995).

Die Chloroquin-induzierten pathologischen ERGs könnten durch corneale Lipidspeicherung und damit einer Reduktion der Lichtintensität oder durch eine unabhängig von der Chloroquin-Gabe entstandene Photorezeptorzelldegeneration hervorgerufen werden (Hennekes 1989, Lüllmann-Rauch und Lüpkes 1987).

Es stellt sich nun die Frage, ob beim Menschen ERGs abgeleitet worden sind, um funktionelle Veränderungen der Retina nach chronischer Amiodaron-Gabe nachzuweisen. Arden et al. haben 1980 ERGs, EOGs und Muster-ERGs bei Patienten abgeleitet, die sich in Langzeit-Amiodarontherapie befanden und stellten bei 50% (bei

drei der getesteten sechs Personen) von ihnen pathologische ERG-Veränderungen fest. Allerdings hatte einer der Kandidaten eine diabetische Retinopathie und der zweite einen Katarakt im Frühstadium. Beide oben beschriebenen Veränderungen können Auswirkungen auf die Ergebnisse der Untersuchungen haben und diese verfälschen. Eine chronische Einnahme von Amiodaron findet vermehrt bei einer Patientengruppe statt, die möglicherweise aus Altersgründen multimorbide ist und neben Herzrhythmusstörungen noch andere Grunderkrankungen aufweist, die sich ebenfalls in ERG-Veränderungen manifestieren können. Aus diesem Grunde müssen Aussagen über pathologische ERGs hervorgerufen durch Amiodaron beim Menschen mit Vorbehalt betrachtet werden.

Die histologischen Präparate, die wir nach 8 und 22 wöchiger Fütterung mit Amiodaron von den Mäuseretinae anfertigten, zeigten in keiner Zellschicht Lipidose-ähnliche Einschlüsse.

In der Literatur gibt es unterschiedliche Aussagen bezüglich der okulären Nebenwirkungen und der histologischen Veränderungen nach Langzeittherapie mit Amiodaron.

Kaplan und Cappaert (1984) fanden bei Patientenuntersuchungen Einlagerungen im Corneaepithel, die abhängig waren von Dauer und Dosis des verabreichten Amiodarons. Diese Einlagerungen führten aber nicht zu einer Beeinträchtigung der Sehleistung und waren nach Absetzen des Medikamentes reversibel. Die gleichen Veränderungen am Auge fanden auch Babel und Stangos (1972) und Harris et al. (1983) sowie Feiler-Ofry et al. (1980) und Ciancaglini et al. (2001). Die Mikroablagerungen der Cornea wurden zunächst 1969 von Miller in drei Schweregrade eingeteilt. Diese Einteilung wurde von Orlando et al. 1984 wieder aufgegriffen und erweitert.

Ingram et al. haben 1982 bei 98% der 175 von ihnen untersuchten Testpersonen Mikroablagerungen in der Hornhaut gefunden, die sich durch unterschiedliche Sehstörungen, z.B. Photophobie und „Halos“ bemerkbar gemacht haben. Die Ablagerungen waren an beiden Augen symmetrisch verteilt und waren abhängig von Dauer und Dosis der Amiodaron-Therapie. Weiterhin konnte Ingram keinen Zusammenhang zwischen Amiodaron und Farbsehstörungen, trockenen Augen oder einer Veränderung des Augeninnendruckes finden.

Ikaheimo et al. (2002) stellten ebenfalls bei allen von ihnen untersuchten Patienten (22 an der Zahl) mit Langzeit-Amiodarontherapie Hornhautablagerungen fest.

In einigen Fällen berichteten Gittinger und Asdourian (1987) über eine Amiodaron-induzierte Optikus-Neuropathie verbunden mit einer Schwellung der Papille, wobei aber insgesamt die Retinotoxizität des Medikamentes als geringfügig eingestuft wurde. Die Hornhautveränderungen wurden als ähnlich dem Morbus Fabry beschrieben. Eine Optikus-Neuropathie als Folge einer Langzeit-Amiodarontherapie tauchte auch in aktuelleren Arbeiten auf (Uebermuth und Gerke 2002, Polak et al. 2001, Leifert et al. 2000, Speicher et al. 2000, Sreih et al. 1999). Ebenfalls eine Optikus-Neuropathie nach dem Muster einer Anterioren Ischämischen Optikus-Neuropathie (AION) stellte auch Sedwick (1992) fest. Gobbele et al. beschrieben 1999 bei einem Patienten ein beidseitiges akutes Papillenödem, ebenso auch Kristin und Ulbig 2001. Einen eventuellen aber eher unwahrscheinlichen Zusammenhang mit Amiodaron stellten auch Thystrup und Fledelius 1994 bei einer Patientin mit feuchter Makulopathie fest.

D'Amico et al. konnten 1981 komplexe intrazytoplasmatische lysosomenähnliche Lipidspeicherungen nicht nur in der Cornea, sondern auch im Epithel der Konjunktiven und der Linse finden. Diese Speicherungen waren der Chloroquin-Toxizität sowie der Fettspeicherkrankheit Morbus Fabry (Kenyon 1974) ähnlich.

Clemett und MacIntosh stellten 1982 bei mit Amiodaron behandelten Patienten Veränderungen der Hornhaut und des Pigmentepithels der Retina fest sowie Störungen des Farbsinnes und eine Makulopathie. Die aufgetretene Makulopathie konnte aber nicht deutlich der Wirkung von Amiodaron zugeschrieben werden, da der Patient auch mit mehreren Antimalariamitteln behandelt wurde, von denen einige ebenfalls solche Störungen hervorrufen können, z.B. Chloroquin. Ablagerungen in der vorderen Kapsel der Linse ohne Beeinträchtigung der Sehleistung beschrieben 1983 Flach et al.

Gosh und McCulloch haben 1984 auch histologische Untersuchungen an Augen von verstorbenen Patienten, die über einen längeren Zeitraum mit Amiodaron behandelt wurden, durchgeführt. Lichtmikroskopische Veränderungen fanden sie nur im Bereich der Hornhaut und der Konjunktiven, nicht aber im Bereich der Retina. Mit dem Elektronenmikroskop konnten die Veränderungen genau zugeordnet werden: sowohl im Hornhautepithel als auch im Hornhautendothel fanden sich intrazytoplasmatische, membrangebundene, lamelläre Körperchen. Die Fibroblasten der Hornhaut und der Iris zeigten ähnliche Einschlüsse. Im Pigmentepithel der Netzhaut traten viele

Einschlußkörperchen auf, während nur einzelne Ganglienzellen die oben beschriebenen Veränderungen aufwiesen.

Bicer et al. haben 2002 die Wirkung von Amiodaron auf die Hornhaut von gesunden Hunden untersucht und nach 11 wöchiger Amiodaron-Gabe bei einem von 6 Hunden beidseitige Hornhautablagerungen festgestellt. Die Augen der restlichen Hunde waren unauffällig. Lichtmikroskopische Untersuchungen der Hornhaut des Hundes mit Hornhautablagerungen zeigten Einschlüsse in den basalen Hornhautepithelzellen. Als Ursache für die niedrige Prävalenz von Hornhautablagerungen bei den Hunden im Vergleich mit dem Menschen vermuten die Autoren speziesabhängige Unterschiede vor allem in der Menge der Tränenflüssigkeit.

Bockhardt et al. untersuchten 1978a die ultrastrukturellen Veränderungen hervorgerufen durch Amiodaron an Rattenaugen. Sie stellten Einschlüsse im Zytoplasma der Hornhautepithelzellen fest. In der Retina waren vor allem die Pigmentepithelzellen durch membranbegrenzte, kristalloide Einschlüsse gekennzeichnet ebenso wie einzelne Ganglien- und Müller-Zellen. Die übrigen Schichten der Netzhaut wiesen keine eindeutigen Veränderungen auf, vor allem die Photorezeptorschicht schien unverändert.

Im Mittelpunkt der histologischen Beurteilung steht in dieser Versuchsreihe die Netzhaut der Mäuse. Im Bereich der Retinae sowohl von Menschen als auch von Ratten sind bislang bei histologischen Untersuchungen lysosomale Einschlüsse vor allem im Pigmentepithel und in den Ganglienzellen, selten auch in den Müller-Zellen, nachgewiesen worden (Mäntyjärvi et al. 1998, Gosh und McCulloch 1984, Bockhardt et al. 1978b, Lüllmann-Rauch 1976). Die lysosomalen Einschlußkörperchen konnten bei den Rattenretinae mit dem Lichtmikroskop festgestellt werden, während beim Menschen die retinale Lipidose nur mittels Elektronenmikroskop darzustellen war. Das Muster der Lipidosespeicherung war in beiden Fällen ähnlich.

Im Kontrast zu den oben beschriebenen ultrastrukturellen Veränderungen, hervorgerufen durch Amiodaron, im Bereich der verschiedenen Augenabschnitte bei Menschen und bei Ratten, zeigen die Untersuchungen der Augen von Mäusen keine lichtmikroskopisch nachweisbaren Veränderungen. Diese Tatsache läßt sich eventuell auf eine Spezies- und Dosiabhängigkeit zurückführen. Vielleicht verfügen die Mäuse über einen Mechanismus zum Abbau der Lipidgranula, die noch nicht bekannt ist. Diese Hypothese ist allerdings noch zu beweisen.

Im ERG entspricht die a-Welle der Aktivität der Photorezeptoren und die b-Welle der Müller-Zellen, der horizontalen Bipolarzellen und der amakrinen Zellen (Rüther 1996, Asi und Perlman 1992, Gouras 1970). Lichtmikroskopisch zeigen sich in keiner dieser Zellen zytoplasmatische Einschlüsse. Diese Tatsache würde die Befunde der ERGs erklären.

Die Funktion der eventuell von der Lipidose betroffenen Ganglienzellen ließe sich besser durch ein Muster-ERG bestimmen, der Grad der Beeinträchtigung des Pigmentepithels könnte eher durch ein EOG nachgewiesen werden (Bach 1996, Rüther 1996). Bei der Beurteilung der histologischen Präparate bestünde noch die Möglichkeit einer elektronenmikroskopischen Aufarbeitung. Ob sich hierdurch eine Lipidose belegen ließe, muß als eher zweifelhaft eingestuft werden.

Die ausbleibenden elektroretinographischen und histologischen Veränderungen könnten auf eine Speziesabhängigkeit der Lipidose-induzierenden Wirkung von Amiodaron hindeuten.

Insgesamt ist zu sagen, daß erst der geplante Einsatz von diffizileren Untersuchungsmethoden eine abschließende Beurteilung der Retinotoxizität von Amiodaron erlaubt. In der frühen Funktionsdiagnostik zur Beurteilung von okulären Nebenwirkungen von Amiodaron erscheint das ERG wenig geeignet.

## 5 Zusammenfassung

Das diiodierte Benzofuranderivat Amiodaron wird heute zu den Klasse-III-Antiarrhythmika gezählt, nachdem es vor 30 Jahren zur Behandlung der Angina pectoris in die klinische Medizin eingeführt wurde (Heufelder und Wiersinga 1999). Eingesetzt wird Amiodaron zur Therapie supraventrikulärer sowie maligner ventrikulärer Arrhythmien und hämodynamisch bedeutender linksventrikulärer Funktionsminderungen.

Durch den kationisch-amphiphilen Charakter bewirkt Amiodaron eine lysosomale Speicherung von polaren Lipiden, die am Auge zu Einschlüssen in der Hornhaut und den Konjunktiven geführt hat (D'Amico und Kenyon 1981). Ingram (1983) konnte ebenfalls eine Keratopathie bei Patienten mit einer Langzeittherapie beobachten. Linsentrübungen (Flach et al. 1983), Papillopathie (Gittinger und Asdourian 1987) sowie Optikus-Neuropathien (Feiner et al. 1987, Garrett et al. 1988, Nazarian und Jay 1988) sind auch auf die Lipidose-induzierende Wirkung von Amiodaron zurückzuführen.

Unter Verwendung von elektrophysiologischen Methoden wie der Elektroretinographie im Vergleich mit histologischen Untersuchungen sollen die eventuell durch Amiodaron verursachten Schädigungen der Retina lokalisiert werden.

Für die Versuche wurden 21 pigmentierte Mäuse vom Zuchtstamm Black CL 57 insgesamt 22 Wochen lang mit Amiodaron, das in einem Verhältnis von 400 mg Amiodaron zu 500 g Normalfutter, diesem beigemischt war, gefüttert. Aus dem Futterverbrauch und dem alle drei Tage registrierten Gewicht konnte die durch die Tiere über die Nahrung aufgenommene Arzneimittelkonzentration berechnet werden. Die durchschnittlich aufgenommene Arzneimittel-Tagesdosis betrug 176,15 mg pro Kilogramm Körpergewicht. Zu Beginn der Versuchsreihe, sowie nach 4, 8 und 22 Wochen wurden die Elektroretinogramme abgeleitet. Nach den Messungen erfolgten jeweils die Entnahmen der Präparate für die Histologie. Die Kontrollgruppe bestand aus 20 Mäusen gleichen Alters und Geschlecht.

Das Meßsystem bestand aus einem Ganzfeldstimulationsgerät, einem ERG-Verstärker, einer Vorrichtung zur sicheren Applikation der Elektroden auf der Hornhaut und einer Zustelleinrichtung zur Positionierung der Versuchstiere im Ganzfeldstimulator. Vervollständigt wurde das System durch einen Computer mit Kontrollbildschirm und der passenden Software.

Die Lichtstärke von 3000 mcd ist für die ERG-Auswertung im Sinne der Vergleichbarkeit gewählt worden, denn sie entspricht dem Standardblitz am menschlichen Auge.

Zur Auswertung der Ergebnisse wurde das Statistikprogramm SPSS 10.0 für Windows angewandt.

Es lassen sich im Mittel über die Zeit keine signifikanten Änderungen der Amplituden a und b sowie der Gipfelzeiten a und b in den gemessenen Elektroretinogrammen weder nach 4, noch nach 8 oder 22 Wochen zwischen Amiodaron und Kontrollen nachweisen. Auf der Grundlage der statistischen Auswertung zeigen sich auch keine richtungsweisenden Tendenzen bezüglich einer eventuellen Frühwirkung des Amiodarons innerhalb der ersten 4 bzw. 8 Wochen der Versuchsreihe. Ebenso manifestiert sich auch keine Spätwirkung nach 22 Wochen.

In den histologischen Präparaten sind, außer einer leichten Vakuolisierung in den Ganglienzellen sowie in den Müllerschen Stützzellen und im Pigmentepithel, die keine Folge der Amiodaron-Therapie sind, lichtmikroskopisch keine lipidotischen Einlagerungen sichtbar.

ERG-Untersuchungen an Ratten, die mit Chloroquin und Chlorphentermin, beides Substanzen mit Amiodaron-ähnlicher Wirkung, behandelt wurden, zeigen deutliche Veränderungen der Amplituden und Gipfelzeiten (Bredehorn et al. 1994, Duncker und Bredehorn 1994, Duncker et al. 1995), während bei den Untersuchungen an Mäusen Amiodaron keine pathologischen ERG-Veränderungen induziert.

ERG-Veränderungen beim Menschen nach chronischer Amiodaron-Einnahme sind mit Vorbehalt zu betrachten. Die Patientengruppe, die Amiodaron z.B. wegen Herzrhythmusstörungen über einen längeren Zeitraum einnimmt, ist multimorbide und hat mehrere Grunderkrankungen, die möglicherweise pathologische ERGs zur Folge haben können.

Im Mittelpunkt der histologischen Beurteilung steht in dieser Versuchsreihe die Netzhaut der Mäuse. Bei der lichtmikroskopischen Betrachtung der Präparate lassen sich in keinem Netzhautabschnitt pathologische Einlagerungen nachweisen.

Im Bereich der Retina sind sowohl bei Ratten als auch beim Menschen lysosomale Einschlüsse vor allem im Pigmentepithel und in den Ganglienzellen, selten auch in den Müllerschen Stützzellen nachgewiesen worden (Mäntyjärvi et al. 1998, Gosh und

McCulloch 1984, Bockhardt et al. 1978b, Lüllmann-Rauch, 1976). Das Muster der Lipidospeicherung war in beiden Fällen ähnlich.

Weitere histologische Veränderungen nach Langzeittherapie mit Amiodaron sind vermehrt im Bereich der Hornhaut (Kaplan und Cappaert 1984), aber auch in den Konjunktiven und der Linse (D'Amico et al. 1981) aufgetreten. Optikus-Neuropathien (Gittinger und Asdourian 1987), ein akutes Papillenödem (Kristin und Ulbig 2001) und eine feuchte Makulopathie (Thystrup und Fledelius 1994) sind ebenfalls als Folgen chronischer Amiodaron-Einnahmen beschrieben worden.

Die geringen elektoretinographischen und histologischen Veränderungen könnten durch eine Speziesabhängigkeit der Lipidose-induzierenden Wirkung von Amiodaron erklärt werden.

Abschließend läßt sich sagen, daß die geringen pathologischen ERG-Veränderungen mit der in der Lichtmikroskopie nicht nachweisbaren Lipidose in der Aussage korrelieren.

## 6 Literaturverzeichnis

1. Algvère P., Wachtmeister L., Westbeck S.: On the oscillatory potentials of the human ERG in light and dark adaptation. I. Thresholds and relation to stimulus intensity on adaptation to short flashes of light. A Fourier analysis. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 50 (1972) 737-759.
2. Asi H., Perlman I.: Relationships between the electroretinogram a-wave, b-wave and oscillatory potentials and their application to clinical diagnosis. *Doc Ophthalmol* 79 (1992) 125-139.
3. Arden G.B., Vaegan F., Hogg C.R., Powell D.J., Carter R.M.: Pattern ERGs are abnormal in many amblyopes. *Trans Ophthalmol Soc UK* 100 (1980) 453-460.
4. Babel J., Stangos N.: L'action de l'amiodarone sur les tissus oculaires. *Schweiz Med Wochenschr* 102 (1972) 220-223.
5. Bach M.: Electrodiagnostik in der Ophthalmologie – Wann welche Untersuchung und warum?. *orthoptik-pleoptik* 20 (1996) 5-23.
6. Bärlocher F.: Biostatistik. Georg Thieme, Stuttgart, New York, 1999.
7. Berson E.L.: Electrical phenomena in the retina. In: Moses R.A. (Hrsg): *Adler's physiology of the eye*. Mosby, St. Louis, 1975 Kap. 17.
8. Bicer S., Fuller G.A., Wilkie D.A., Yamaguchi M., Hamlin R.L.: Amiodarone-induced keratopathy in healthy dogs. *Vet Ophthalmol* 5 (2002) 35-38.
9. Bockhardt H., Drenkhahn D., Lüllmann-Rauch R.: Generalisierte Lipidose bei der Ratte nach Behandlung mit Amiodaron und Zimelidin. *Verh Anat Ges* 72 (1978a) 417-418.
10. Bockhardt H., Drenkhahn D., Lüllmann-Rauch R.: Amiodarone-Induced Lipidosis-Like Alterations in Ocular Tissues of Rats. *Albrecht von Graefe's Arch Klin Exp Ophthalmol* 207 (1978b) 91-96.
11. Bredehorn T., Duncker G.I.W.: Chloroquin und Chlorphentermin induzierte Lipidose der Rattenretina. *Klin Monatsbl Augenheilkd* 214 (1999) 178-182.

12. Bredehorn T., Duncker G.I.W., Kuper H., Papst N. : A new system for recording electroretinographical potentials in animals. *Ophthalmologica* 208 (1994) 98-104.
13. Bredehorn T.: Ein neues Meßsystem für elektroretinographische Potentiale im tierexperimentellen Versuch. *Med Diss Kiel*, 1993.
14. Brown K.T., Wiesel T.N.: Localisation of the origins of electroretinogram components by intraretinal recording in the intact cat eye. *J. Physiol.* 158 (1961) 257-280.
15. Chew E., Gosh M., McCulloch C.: Amiodarone-induced cornea verticillata. *Can J Ophthalmol* 17 (1982) 96-99.
16. Ciancaglini M., Carpineto P., Zuppari E., Nubile M., Doronzo E., Mastropasqua L.: In Vivo Confocal Microscopy of Patients With Amiodarone-induced Keratopathy. *Cornea* 20 (2001) 368-373.
17. Clemett R.S., MacIntosh H.T.: Drug-induced ocular lipidosis. *Trans Ophthalmol Soc N Z* 34 (1982) 52-58.
18. D'Amico D.J., Kenyon K.R., Ruskin J.N.: Amiodarone keratopathy. Drug-induced lipid storage disease. *Arch Ophthalmol* 99 (1981) 257-261.
19. D'Amico D.J., Kenyon K.R.: Drug-induced lipidosis of the cornea and conjunctiva. *Int Ophthalmol* 4 (1981) 67-76.
20. Dolan B.J., Flach A.J., Peterson J.S. Amiodarone keratopathy and lens opacities. *J Am Optom Assoc* 56 (1985) 468-470.
21. Drenckhahn D., Lüllmann-Rauch R.: Drug induced retinal lipidosis: Differential susceptibilities of pigment epithelium and neuroretina towards several amphiphilic cationic drugs. *Exp Mol Pathol* 28 (1978) 360-371.
22. Duff G.R., Fraser A.G.: Impairment of colour vision associated with amiodarone keratopathy. *Acta Ophthalmol* 65 (1987) 48-52.

23. Duncker G., Bredehorn T.: Chlorphentermine-induced lipidosis in the rat retina: a functional and morphological study. *Albrecht von Graefe's Arch Klin Exp Ophthalmol* 232 (1994) 368-372.
24. Duncker G., Bredehorn T.: Chloroquin-induced lipidosis in the rat retina: functional and morphological changes after withdrawal of the drug. *Albrecht von Graefe's Arch Klin Exp Ophthalmol* 234 (1996) 378-381.
25. Duncker G., Schmiederer M., Bredehorn T.: Chloroquin-induced lipidosis in rat retina: A functional and morphological study. *Ophthalmologica* 209 (1995) 79-83.
26. Eliot L., Berson M.D.: Electrical Phenomena in the Retina. Chapter 21 in *Adler's physiology of the eye*. R.A. Moses, editor. St. Louis: Mosby Company 1975.
27. Feiler-Ofry V., Lazar M., Solomon A., Godel V.: Amiodarone keratopathy. *Ophthalmologica, Basel* 180 (1980) 257-261.
28. Feiner L.A., Younge B.R., Kazimer F.G., Stricker B:M:C, Fraunfelder F.T.: Optic neuropathy and amiodarone therapy. *Mayo Clinic Proceedings* 62 (1987) 702-717.
29. Flach A.J., Dolan B.J., Suddnth B., Weddel J.: Amiodarone-induced lens opacities. *Arch Ophthalmol* 101 (1983) 1554-1556.
30. Fraunfelder F.T., Meyer S.M.: Amiodarone keratopathy. *Trans Ophthalmol Soc N Z* 36 (1984) 33-34.
31. Garrett S.N., Kearney J.J., Schiffman J.S.: Papillopathy caused by amiodarone. *Arch Ophthalmol* 105 (1987) 349-351.
32. Garrett S.N., Kearney J.J., Schiffmann J.S.: Amiodarone optic neuropathy. *J Clin Neuroophthalmol* 8 (1988) 105-110.
33. Gosh M., McCulloch C.: Amiodarone-induced ultrastructural changes in human eyes. *Can J Ophthalmol* 19 (1984) 178-186.
34. Gittinger J.W., Asdourian G.K.: Papillopathy caused by amiodarone. *Arch Ophthalmol* 105 (1987) 349-351.

35. Gobbele R., Dahlke C., Mull M., Schwarz M.: Amiodarone-induced bilateral optic neuropathy---a case report. *Nervenarzt* 70 (1999) 560-565.
36. Gouras P.: Electroretinography: some basic principles. *Invest Ophthalmol* 9 (1970) 557-569.
37. Hennekes R.: Klinische Elektoretinographie. *Fortschr Ophthalmol* 86 (1989) 146-150.
38. Harris L., McKenna W.J., Rowland E., Holt D.W., Storey G.C.A., Krikler D.M.: Side effects of long-term amiodarone therapy. *Circulation* 67 (1983) 45-51.
39. Heufelder A.E., Wiersinga W.M.: Störungen der Schilddrüsenfunktion durch Amiodaron Pathogenese, Diagnostik und Therapie. *Dt Ärztebl* 96 (1999) 34-41.
40. Hilleman D., Miller M.A., Parker R., Doering P., Pieper J.A.: Optimal management of amiodarone therapy: efficacy and side effects. *Pharmacotherapy* 18 (1998) 138-145.
41. Ikaheimo K., Kettunen R., Mäntylarvi M.: Visual functions and adverse ocular effects in patients with amiodarone medication. *Acta Ophthalmol Scand* 80 (2002) 59-63.
42. Ingram D.V.: Ocular effects in long-term amiodarone therapy. *Am Heart J* 106 (1983) 902-905.
43. Ingram D.V., Jaggaro N.S., Chamberlain D.A.: Ocular changes resulting from therapy with amiodarone. *Br J Ophthalmol* 66 (1982) 676-679.
44. Ivanina T.A., Zueva M.V., Lebedeva H.N., Bogoslowsky A.I., Bruni A.J.: Ultrastructural alterations in rat and cat retina and pigment epithelium induced by chloroquine. *Albrecht von Graefe's Arch Klin Exp Ophthalmol* .220 (1983) 32-38.
45. Jacobi Ph.C., Rütter K., Miliczek K.-D., Völker M., Zrenner E.: Klinische Elektoretinographie. Standardprotokoll und Normwerte. *Klin Monatsbl Augenheilkd* 202 (1993) 27-42.

46. Kaplan L.J., Cappaert W.E.: Amiodarone-induced corneal deposits. *Ann Ophthalmol* 16(8) (1984) 762-766.
47. Kaplan L.J., Cappaert W.E.: Amiodarone keratopathy. Correlation to dosage and duration. *Arch Ophthalmol* 100 (1982) 601-602.
48. Kennedy J.I., Myers J.L., Plumb V.J., Fulmer J.D.: Amiodarone pulmonary toxicity: clinical, radiologic and pathologic correlations. *Arch Intern Med* 147 (1987) 50-55.
49. Kenyon K.R.: Ocular ultrastructure of inherited disease. In: Goldberg M.F., (ed.): *Genetic and Metabolic Eye Disease*. Little, Brown and Co., Boston 1974, 139-185.
50. Klingele T.G., Alves L.E., Rose E.P.: Amiodarone keratopathy. *Ann Ophthalmol* 16 (1984) 1172-1176.
51. Krieg P., Schipper I.: Bilateral optic neuropathy following amiodarone therapy. *Klin Monatsbl Augenheilkd* 200 (1992) 128-132.
52. Kristin N., Ulbig M.: Akutes Papillenödem. *Der Ophthalmologe* 98 (2001) 212-213.
53. Kueng-Hitz N., Rol P., Niemeyer G.: Das Elektretinogramm (ERG) der Maus: normative Werte, optimierte Stimulation und Ableitung. *Klin Monatsbl Augenheilkd* 214 (1999) 288-290.
54. Lehnich H., Kaltenborn G., Bredehorn T., Duncker G.I.W., Pauer H.-D.: Grafische Programmierung der Stimulationsabläufe für die Elektretinografie. Jamal/Jaschinski (eds.) *VIP 2000 Virtuelle Instrumente in der Praxis*, Hüthig (2000).
55. Leifert D., Hansen L.L., Gerling J.: Amiodarone –associated optic neuropathy: an independent symptom? Three patients with bilateral optic neuropathy. *Klin Monatsbl Augenheilkd* 217 (2000) 171-177.
56. Lüllmann H., Lüllmann-Rauch R., Wassermann O.: Lipidosis induced by amphiphilic cationic drugs. *Biochem Pharmacol* 27 (1978) 1103-1108.
57. Lüllmann H., Lüllmann-Rauch R., Wassermann O.: Arzneimittel-induzierte Phospholipidspeicherkrankheit. *Dtsch med Wschr* 98 (1973) 1616-1625.

58. Lüllmann-Rauch R.: Retinal lipidosis in albino rats treated with chlorphetomine and tricyclic antidepressants. *Acta Neuropathol* 35 (1976) 55-67.
59. Lüllmann-Rauch R.: Experimentally Induced Lipidosis in Rat Retinal Pigment Epithelium. A Brief Review. *Albrecht von Graefe's Arch Klin Exp Ophthalmol* 215 (1981) 297-303.
60. Lüllmann-Rauch R., Lüpkes S.: Drug-induced degeneration of photoreceptor cells. *Adv Biosci* 62 (1987) 461-476.
61. Lüpkes S.: Retinopathie bei Ratten nach oraler Behandlung mit Tiloron und Chloroquin. *Med Diss Kiel*, 1990.
62. Macaluso D.C., Shults W.T., Fraunfelder F.T.: Features of Amiodarone-induced optic neuropathy. *Am J Ophthalmol* 127 (1999) 610-612.
63. Mansour A.M., Puklin J.E., O'Grady R.: Optic nerve ultrastructure following amiodarone therapy. *J Clin Neuroophthalmol* 8 (1988) 231-237.
64. Macrae W.G., Gosh M., McCulloch C.: Corneal changes in Fabry's disease : a clinicopathologic case report of a heterozygote. *Ophthalmic Paediatr Genet* 5 (1985) 185-190.
65. Mäntyjärvi M., Tuppurainen K., Ikäheimo K.: Ocular Side Effects of Amiodarone. *Surv Ophthalmol* 42 (1998) 360-366.
66. Marcus F.I., Fontaine G.H., Frank R., Grosogeat Y.: Clinical pharmacology and therapeutic applications of the antiarrhythmic agent amiodarone. *Am Heart J* 101 (1981) 480-493.
67. Marmor M.F., Holder G.E., Porciatti V., Trick G.L., Zrenner E.: Guidelines for basic pattern electroretinography. *Doc Ophthalmol* 91 (1996) 291-298.
68. Marmor M.F., Zrenner E.: Standard for clinical electroretinography (1994 update). *Doc Ophthalmol* 89 (1995) 199-210.
69. Martin W.J., Rosenow E.C.: Amiodarone pulmonary toxicity: recognition and pathogenesis. Part 1. *Chest* 93 (1988) 1067-1074.

70. Matsui A., Matsuo H., Takanaga H. Sasaki S., Maeda M., Sawada Y.: Prediktion of Catalepsis Induced by Amiodarone, Apiridine and Procaine: Similarity in Conformation of Diethylaminoethyl Side Chain. *J Pharmacol and Exp Ther* 287 (1998) 725-732.
71. Miller H.A.: Keratopathie consecutive au traitement par cordasone (chlorhydrate d'amiodarone). *Bull Soc Ophthalmol Fr* 69 (1969) 1059-65.
72. Miller R.F., Dowling J.E.: Intracellular responses of the Müller (glial) cells of mudpuppy retina: their relation to the b-wave of the electroretinogram. *J Neurophysiol* 33 (1970) 323-341.
73. Nair L.A., Grant A.O.: Emerging class III antiarrhythmic agents: mechanism of action and proarrhythmic potential. *Cardiovasc Drug Ther* 11 (1997) 149-67.
74. Nazarian S.M., Jay W.M.: Bilateral optic neuropathy associated with amiodarone therapy. *J Clin Neuroophthalmol* 8 (1988) 25-28.
75. Niemeyer G.: Stäbchen- und Zapfenaktivität im klinischen Elektroretinogramm. *Ophtalmologica* 172 (1976) 175-180.
76. Niemeyer G.: Information von der Netzhaut durch Elektroretinographie. *Albrecht von Graefe's Arch Klin Exp Ophthalmol* 211 (1979) 127-137.
77. Niemeyer G.: Vom Symptom zur Elektroretinographie-Diagnose. *Klin Monatsbl Augenheilkd* 214 (1999) 328-331.
78. Oberdisse, Hackenthal, Kuschinsky: *Pharmakologie*. 3.Aufl. Springer, New York, Berlin, Heidelberg 2002, S. 339-340.
79. Orlando R.G., Dangel M.E., Schaal S.F.: Clinical experience and grading of amiodarone keratopathy. *Ophthalmology* 91 (1984) 1184-1187.
80. Otto T., Bach M.: Reproduzierbarkeit des Musterelektroretinogramms. *Der Ophthalmologe* 94 (1997) 217-221.

81. Polak B.C., Tutein H.S., Nolthenius P.A. Rietveld E.: Visual impairment due to optic neuropathy in 2 patients on amiodarone therapy, i.e. ethambutol and isoniazide. *Ned Tijdschr Geneesk* 145 (2001) 922-926.
82. Rennie I.G.: Clinically Important Ocular Reactions to Systemic Drug Therapy. *Drug Safety* 9 (1993) 196-211.
83. Rütther K., Zrenner E.: Entwicklung in der ophthalmologischen Elektrophysiologie. *Klin Monatsbl Augenheilkd* 202 (1993) 140-145.
84. Rütther K.: Das Elektretinogramm in der Ophtahalmologie. In: Stöhr M., Dichgans J., Buettner U.W., Hess Ch.W., Altenmüller E. (Hrsg): *Evozierte Potentiale*. 3. Aufl. Springer, New York, Berlin, Heidelberg 1996, S. 364-391.
85. Schaeppi U., Krinke G., Fink X., Hofer R., Duennenberger D.: Electoretinography in rats. *Agents Actions* 24 (1988) 395-402.
86. Sedwick L.A.: Getting to the Heart of Visual Loss: When Cardiac Medication May Be Dangerous to the Optic Nerves. *Surv Ophthalmol* 36 (1992) 366-372.
87. Seidler M.: Chloroquin - klinische Untersuchungsergebnisse und ERG-Analysen bei Langzeittherapie. *Folia Ophthalmol* 14 (1989) 27-31.
88. Seiler K.U., Thiel H.J., Wassermann O.: Chloroquine keratopathy as an example of drug-induced phospholipidosis. *Klin Monatsbl Augenheilkd* 170 (1977) 64-73.
89. Speicher M.A., Goldman M.H., Chrousos G.A.: Amiodarone optic neuropathy without disc oedema. *J Neuroophthalmol* 20 (2000) 171-172.
90. SPSS Advanced Model 10.0 : GLM Repeated Measures. SPSS Inc., Chicago, 1999 Kap.2, S. 15-32.
91. Sreih A.G., Schoenfeld M.H., Marieb M.A.: Optic neuropathy following amiodarone therapy. *Pacing Clin Electrophysiol* 22 (1999) 1108-1110.
92. Stodtmeister R., Pillunat L., Gaus W., Schuster J.: Quantitative Beurteilung Klinischer Elektretinogramme. *Klin Monatsbl Augenheilkd* 193 (1988) 370-381.

93. Thystrup J.D., Fledelius H.C. : Retinal maculopathy possibly associated with amiodarone medication. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 72 (1994) 639-641.
94. Uebermuth C.A., Gerke E.: Kasuistik: Zunächst einseitige, später beidseitige Optikopathie Amiodaron als Ursache? *Der Ophthalmologe* 99 (2002) 470-473.
95. Wachtmeister L.: Luminosity functions of the oscillatory potentials of the human electroretinogram. *Acta Ophthalmol* 52 (1972) 353-365.
96. Wachtmeister L.: Stimulus duration and the oscillatory potentials of the human electroretinogram. *Acta Ophthalmol* 52 (1972) 729-739.
97. Wilson J.S., Podrid P.J.: Side effects from amiodarone. *Am Heart J* 121 (1991) 158-171.

## 7 Thesen

1. Es treten nach Verfütterung von 176,15 mg Amiodaron pro kg Körpergewicht bei pigmentierten Mäusen vom Zuchtstamm Black CL 57 keine signifikanten Veränderungen der Amplituden a und b und der Gipfelzeiten a und b in den ERGs zwischen Amiodaron- und Kontrollgruppe auf.
2. Es lassen sich im ERG in unserem Mäuse-Versuchsmodell keine Tendenzen im Sinne einer möglichen Früh- bzw. einer Spätwirkung von Amiodaron erkennen.
3. ERG-Untersuchungen an Ratten, die mit Chloroquin und Chlorphentermin, beides Substanzen mit Amiodaron-ähnlicher Wirkung, behandelt wurden, zeigen deutliche Veränderungen der Amplituden und Gipfelzeiten (Bredehorn et al. 1994, Duncker und Bredehorn 1994, Duncker et al. 1995).
4. Für diese voneinander verschiedenen elektroretinographischen Ergebnisse (Thesen 1-3) könnten Unterschiede, z.B. im Speicherverhalten der Retinae von Ratten und Mäusen verantwortlich sein, genauso auch eventuell unterschiedliche Speichermechanismen.
5. ERG-Veränderungen beim Menschen nach chronischer Amiodaron-Einnahme können multifaktoriell sein. Die Patientengruppe, die Amiodaron z.B. wegen Herzrhythmusstörungen über einen längeren Zeitraum einnimmt, ist multimorbide und hat mehrere Grunderkrankungen, die möglicherweise pathologische ERGs zur Folge haben können.
6. Im Mittelpunkt der histologischen Beurteilung steht in dieser Versuchsreihe die Netzhaut der Mäuse. Bei der lichtmikroskopischen Betrachtung der Präparate lassen sich in keinem Netzhautabschnitt pathologische Einlagerungen nachweisen. Diese Tatsache läßt sich eventuell auf eine Spezies- und Dosisabhängigkeit zurückführen.
7. Im Bereich der Retina sind nach Amiodaron-Einnahme sowohl bei Ratten als auch beim Menschen lysosomale Einschlüsse vor allem im Pigmentepithel und in den

Ganglienzellen, selten auch in den Müllerschen Stützzellen nachgewiesen worden (Mäntyjärvi et al. 1998, Gosh und McCulloch 1984, Bockhardt et al. 1978b, Lüllmann-Rauch 1976). Das Muster der Lipidosespeicherung war in beiden Fällen ähnlich.

8. Weitere histologische Veränderungen nach Langzeittherapie mit Amiodaron sind vermehrt im Bereich der Hornhaut (Kaplan und Cappaert 1984), aber auch in den Konjunktiven und der Linse (D'Amico et al. 1981) aufgetreten. Optikus-Neuropathien (Gittinger und Asdourian 1987), ein akutes Papillenödem (Kristin und Ulbig 2001) und feuchte Makulopathien (Thystrup und Fledelius 1994) sind ebenfalls als Folgen chronischer Amiodaron-Einnahmen beschrieben worden.
9. Die geringen elektroretinographischen und histologischen Veränderungen in den beschriebenen Mäuseversuchen könnten durch eine Speziesabhängigkeit der Lipidose-induzierenden Wirkung von Amiodaron erklärt werden.
10. Eine abschließende Beurteilung der morphologischen und funktionellen Netzhautveränderungen von Amiodaron bei Mäusen sollte erst nach dem geplanten Einsatz diffizilerer Untersuchungsmethoden, wie z.B. der Elektronenmikroskopie, Elektrookulogramm und Muster-Elektroretinogramm erfolgen.
11. In der Frühdiagnostik zur Beurteilung von okulären Nebenwirkungen von Amiodaron erscheint das ERG nicht aussagekräftig.

## Laura Enikö Simon

---

<b>Persönliche Angaben</b>	<i>Familienstand:</i>	ledig
	<i>Staatsangehörigkeit:</i>	Deutsch
	<i>Alter:</i>	25
	<i>Geburtsort:</i>	Reghin
<b>Schulbildung</b>	1996	Allgemeine Hochschulreife am Erasmus-von-Rotterdam-Gymnasium in Viersen mit der Durchschnittsnote 1,5
<b>Studium</b>	1996	Beginn des Medizinstudiums an der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg
	1998	Bestehen der Ärztlichen Vorprüfung
	1999	Bestehen des Ersten Abschnitts der Ärztlichen Prüfung
	2001	Bestehen des Zweiten Abschnitts der Ärztlichen Prüfung
	2001	Beginn des Praktischen Jahres an den Maria Hilf Kliniken gGmbH Mönchengladbach, Akademisches Lehrkrankenhaus der Rheinisch-Westfälischen Technischen Hochschule Aachen
	2002	Bestehen des Dritten Abschnitts der Ärztlichen Prüfung
	2003	Ärztin im Praktikum in der Gemeinschaftspraxis für Augenheilkunde Drs. Clasen, Boekels-Clasen und Tacke in Jülich
<b>Famulaturen</b>	Famulatur auf dem Gebiet der Augenheilkunde vom 01.03.1999 bis 27.03.1999 und vom 14.08.2000 bis zum 27.08.2000 bei Dr. med. S. Grefkes in Viersen	
	Famulatur auf dem Gebiet der Chirurgie vom 28.02.2000 bis zum 27.03.2000 bei Dr. med. R. Blind im St. Irmgardis-Krankenhaus Viersen-Süchteln	
	Famulatur auf dem Gebiet der Augenheilkunde vom 06.09.1999 bis zum 19.09.1999 und vom 17.07.2000 bis 06.08.2000 bei Prof. Dr. med. G. I. W. Duncker in der Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde an der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg	
	Famulatur auf dem Gebiet der Sozialpädiatrie vom 28.08.2000 bis zum 27.09.2000 bei Dr. med. M. Petermüller im Sozialpädiatrischen Zentrum der Dr. Horst-Schmidt-Kliniken GmbH Wiesbaden	
<b>Sprachkenntnisse</b>	Englisch, Ungarisch	
<b>Hobbies</b>	Tanzen, Lesen, Tennis spielen, Musik hören, Fremdsprachen	

Viersen, den \_\_\_\_\_

**Selbständigkeitserklärung und Erklärung über frühere  
Promotionsversuche**

Hiermit erkläre ich, Laura Enikö Simon, daß ich die eingereichte Dissertation:

*„Morphologische und funktionelle Veränderungen der Retina von Mäusen nach  
chronischer Gabe von Amiodaron“*

selbständig verfaßt habe. Sie ist nicht bereits für eine Promotion oder einen ähnlichen Zweck eingereicht worden. Es wurden keine weiteren Hilfsmittel als die aufgeführten wissenschaftlichen Arbeiten verwendet.

Gleichzeitig erkläre ich, daß dies mein erster Promotionsversuch ist.

Viersen, den \_\_\_\_\_

## **Publikationen von Ergebnissen der Arbeit**

Poster und Abstract

Simon L.E., Bredehorn T., Duncker G.I.W., Pauer H.-D., Holzhausen H.-J.:  
Morphologische und Funktionelle Veränderungen der Retina der Maus nach  
chronischer Gabe von Amiodaron. Posterpräsentation auf der 99. Tagung der Deutschen  
Ophthalmologischen Gesellschaft. Berlin, September 2001

## **Danksagung**

Mein herzlicher Dank gilt Herrn Professor Dr. med. G.I.W. Duncker für die Überlassung des Themas und für das damit verbundene Vertrauen, sowie für die freundliche Unterstützung bei der Durchführung dieser Arbeit.

Ganz besonders bedanken möchte ich mich bei Herrn Dr. med. T. Bredehorn für die stets vorhandene Diskussionsbereitschaft, die vielen wertvollen Hinweise und Anregungen bei der Anfertigung dieser Arbeit und die kritische Durchsicht des Manuskripts.

Bedanken möchte ich mich auch ganz herzlich bei Herrn Professor Dr. rer. nat. J. Haerting im Institut für Medizinische Epidemiologie, Biometrie und Informatik an der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg für seine wertvollen Ratschläge und seine Hilfe bei der Erstellung der Statistik dieser Arbeit.

Mein Dank gilt auch Herrn Professor Dr. med. H.-J. Holzhausen im Institut für Pathologie an der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg für seine Unterstützung bei der Herstellung und Beurteilung der histologischen Präparate.

An dieser Stelle danke ich ebenfalls Frau J. Klaua, Frau P. Harm, Frau R. Bartosch, Frau A. Buchholz und Herrn Ch. Schöne für ihre Hilfe .

Nicht zuletzt möchte ich mich auch bei meinen Eltern, meinem Lebensgefährten und meinen Freunden für ihre Geduld und Unterstützung bedanken.