

Aus der Klinik für Neurologie
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Hans-Peter Hartung

**Optische Kohärenztomografie zur Quantifizierung neuronaler
Degeneration in verschiedenen Netzhautschichten bei
Amyotropher Lateralsklerose**

Dissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität
Düsseldorf

vorgelegt von
Nazmiye Keser
2020

Als Inauguraldissertation gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

gez.:

Dekan: Univ.-Prof. Dr. med. Nikolaj Klöcker

Erstgutachter: Univ.-Prof. Dr. med. Orhan Aktas

Zweitgutachter: Univ.-Prof. Dr. med. Rainer Guthoff

Widmung

Diese Arbeit widme ich meinen Eltern Saniye und Gürcan Keser. Sie ermöglichten und förderten meine universitäre Laufbahn, welche ihnen selbst verwehrt geblieben ist. Durch ihre Erziehung erfuhr ich den hohen Stellenwert von Bildung und Bildungsaufstieg. Sie vermittelten mir, dass nur ein aufgeklärter Geist seinen Mitmenschen und der Gesellschaft dienlich sein kann.

Liste der Publikationen

Teile dieser Arbeit wurden veröffentlicht:

Ringelstein, M., Albrecht, P., Südmeyer, M., Harmel, J., Müller, A.K., **Keser, N.**, Finis, D., Ferrea, S., Guthoff, R., Schnitzler, A., Hartung, H.P., Methner, A., Aktas, O., *Subtle retinal pathology in amyotrophic lateral sclerosis*. Ann Clin Transl Neurol, 2014. **1**(4): p. 290-7.

Habilitationsschrift von Dr. med. Marius Ringelstein, *Future diagnostic and therapeutic perspectives in rare neuroinflammatory, neurovascular and neurodegenerative diseases*, Klinik für Neurologie des Universitätsklinikums Düsseldorf, Heinrich-Heine Universität, 2016.

Zusammenfassung

Die Amyotrophe Lateralsklerose (ALS) ist eine neurodegenerative Erkrankung, die primär das willkürmotorische System betrifft. Gemäß klassischer Definition führt die Degeneration von erstem und zweitem Motoneuron zum typischen klinischen Bild mit gleichzeitig bestehenden schlaffen und spastischen Paresen, Muskelatrophien, Faszikulationen und pathologischen, pathologisch gesteigerten, oder erloschenen Reflexen. Der Krankheitsverlauf ist rasch progredient, und die Prognose ungünstig. Obschon die ALS als klassische Erkrankung der Pyramidenbahn gilt, gibt es Hinweise dafür, dass auch andere zentralnervöse Systeme vom Degenerationsprozess betroffen sind, darunter auch die Sehbahn. Daher ist die Erforschung etwaiger degenerativer Veränderungen der Netzhaut als Teil des visuellen Systems bei ALS Gegenstand dieser Arbeit. Hierfür bietet sich die Optische Kohärenztomografie (OCT) an. Es handelt sich um ein nicht-invasives, leicht durchführbares und kostengünstiges Verfahren aus der Augenheilkunde. Sie ermöglicht hochauflösende zwei- und dreidimensionale Aufnahmen der Netzhaut (NH, *lat. Retina*) im Bereich der Makula und Papille. So ist die Darstellung und Quantifizierung von NH-Dicke und -Volumen, sowie der einzelnen NH-Schichten möglich. Da die Retina ontogenetisch gesehen ein vorverlagerter Teil des Gehirns ist, eignet sie sich zur Beurteilung zentralnervöser Erkrankungen. In der neurologischen Forschung konnte die OCT bereits bei Multipler Sklerose, M. Parkinson und M. Alzheimer retinale Veränderungen nachweisen. Der entscheidende Vorteil der retinalen Nervenfasern (*engl. retinal nerve fibre layer, RNFL*), die den Sehnerven bilden, ist die Tatsache, dass sie unmyelinisiert sind, d.h. eine Ausdünnung der RNFL korreliert unmittelbar mit einer axonalen Degeneration. So zeigten prospektive Studien, dass die RNFL-Dicke bei neurodegenerativen Erkrankungen signifikant geringer ist, verglichen mit gesunden Kontrollen. Da die Retina repräsentativ für das zentrale Nervensystem steht, verfügt die OCT also über die Möglichkeit, das Ausmaß der allgemeinen Neurodegeneration zu bestimmen. Zudem zeigten ältere vorangegangene Studien, dass bei ALS-Patienten die Sehbahn beeinträchtigt ist.

Daher untersuchten wir bei 24 Patienten mit definitiver (n=20) und wahrscheinlicher (n=4) ALS Retinaveränderungen mit Hilfe eines hochauflösenden *Spectral-Domain-OCT*-Geräts. Von jedem Patienten wurden drei verschiedene Aufnahmen durchgeführt, wovon eine es ermöglichte, die einzelnen NH-Schichten voneinander zu differenzieren und die jeweiligen Schichtdicken im Mikrometerbereich zu quantifizieren. Zuvor wurden etwaige ophthalmologische und neurologische Komorbiditäten ausgeschlossen. Ferner wurden 24 hinsichtlich Alter und Geschlecht passende gesunde Kontrollen rekrutiert. Die Auswertung ergab eine signifikante Reduktion der Dicke der RNFL, der gesamtmakulären NH-Dicke (*engl. total macular thickness, TMT*) und der inneren nukleären Schicht (*engl. inner nuclear layer, INL*) bei ALS-Patienten, verglichen mit den Kontrollen. Somit konnten wir erstmals einen Hinweis auf eine weitergefasste axonale Schädigung – hier außerhalb der Pyramidenbahn in der Sehbahn – durch OCT beschreiben. Allerdings stellten wir auch Schäden in der weiter innen liegenden NH-Schicht, der INL, fest. Dies könnte neben der axonalen Schädigung auf einen direkten neuronalen Degenerationsprozess im Rahmen der ALS-Pathologie hinweisen. Unsere Ergebnisse bezüglich der TMT und RNFL sowie der INL wurde mittlerweile von nachfolgenden Studien bestätigt. Falls es somit gelänge, ein typisches Degenerationsmuster des visuellen Systems bei ALS zu entdecken, könnte dies zu einer früheren Erstdiagnose verhelfen und somit dazu beitragen, den Krankheitsverlauf günstig zu beeinflussen.

Zusammengefasst konnten wir erstmals eine Netzhaut-Beteiligung bei der ALS zeigen, damit eine Beteiligung der Sehbahn bei dieser Erkrankung bestätigen, und möglicherweise einen neuen Parameter für die Beurteilung der Neurodegeneration bei der ALS erarbeiten.

Summary

Amyotrophic lateral sclerosis (ALS) is a neurodegenerative disease of the central nervous system (CNS) primarily affecting the voluntary motoric function. According to its traditional definition degeneration of the upper and lower motor neurons lead to a typical clinical presentation with both flaccid and spastic paresis, muscular atrophy, fasciculations and pathologic, brisk or absent reflexes. It shows a rapidly progressive course and has a fatal prognosis.

Although ALS is classically considered to be a disorder of the pyramidal tract there is evidence for the involvement of other modules of the CNS, including the visual pathway. Therefore the aim of this thesis is to investigate whether degenerative alterations of the retina -as part of the visual system- are detectable in ALS as well. For this purpose optical coherence tomography (OCT) is a convenient tool. It is a non-invasive technique that is well-known in ophthalmology but increasingly used in neurology. It enables two- and three-dimensional scans of the paramacular and peripapillary retina. Thus, imaging and quantification of retinal thickness, volume and layers are possible. As the retina is ontogenetically part of the CNS, it is – aside from the brain and spinal cord- suitable for evaluation of CNS diseases. In several neurologic studies retinal alterations were found in multiple sclerosis, Parkinson's and Alzheimer's disease. The fact that the retinal nerve fibres, which form the optic nerve, are not myelinated is a crucial advantage, thus thinning of the retinal nerve fibre layer (RNFL) correlates directly with axonal degeneration. In line with that prospective studies showed significant thinning of the RNFL in neurodegenerative conditions. As the retina is representative for the central nervous system, OCT has the potential to detect the extent of general neurodegeneration. Thus we examined 24 patients with clinically definite (n=20) or probable (n=4) ALS with a high-resolution *Spectral-Domain*-OCT device in order to find possible retinal alterations. Three retinal scans of each patient were made, one of them enabling to differentiate retinal layers and to quantify them in micrometer range. Patients with ophthalmologic and neurologic comorbidities were excluded from the study. 24 age- and sex-matched controls were recruited. Our results showed a significant reduction of the total macular thickness (TMT) and a significant thinning of the RNFL and inner nuclear layer (INL) in ALS patients compared to healthy controls. Thus for the first time we found evidence for more widespread axonal damage apart from the pyramidal tract in the visual pathway through OCT-examination. However, we also found impairment of an inner retinal layer where the soma of the retinal neurons is located. This could be evidence for direct neuronal degeneration next to known axonal damage in ALS-pathology.

Our results concerning TMT, RNFL and INL were confirmed by following trials. If it was possible to reveal a typical pattern of degeneration of the visual system in ALS, it would help for early diagnosis and therefore positively affect prognosis of ALS.

In conclusion this study enabled us to demonstrate retinal involvement in ALS and hence confirm involvement of the visual pathway in this condition. OCT-based detection and quantification of retinal changes may define a new parameter for the evaluation of neurodegeneration in ALS.

Abkürzungen

ALS:	Amyotrophe Lateralsklerose
EDSS:	<i>engl. Expanded Disability Status Scale</i>
ERG:	Elektroretinogramm
FTD:	Frontotemporale Demenz
GCIP:	GCL und IPL (s.u.) zusammengefasst
GCL:	<i>engl. ganglion cell layer</i> , Ganglienzellschicht
GF:	Gesichtsfeld
INL:	<i>engl. inner nuclear layer</i> , innere Körnerschicht
IPL:	<i>engl. inner plexiform layer</i> , innere plexiforme Schicht
MN:	Motoneuron
MRT:	Magnetresonanztomographie
MS:	Multiple Sklerose
NMO:	Neuromyelitis optica (Devic-Syndrom)
NON:	<i>engl. no optic neuritis</i> , keine Sehnerventzündung
OCT:	<i>engl. optical coherence tomography</i> , Optische Kohärenztomografie
ON:	<i>engl. optic neuritis</i> , Sehnerventzündung
ONL:	<i>engl. outer nuclear layer</i> , äußere Körnerschicht
OPL:	<i>engl. outer plexiform layer</i> , äußere plexiforme Schicht
POAG:	<i>engl. primary open angle glaucoma</i> , primäres Offenwinkelglaukom
PPMS:	<i>engl. primary progressive multiple sclerosis</i> , primär progrediente MS
pTDP-43:	mehrfach phosphoryliertes 43 kDa TAR-DNA-bindendes Protein
RM:	Rückenmark
RNFL:	<i>engl. retinal nerve fibre layer</i> , retinale Nervenfaserschicht
RRMS:	<i>engl. relapsing remitting multiple sclerosis</i> , schubförmige MS
SD-OCT:	<i>engl. Spectral-Domain-OCT</i>
SPMS:	<i>engl. secondary progressive multiple sclerosis</i> , sekundär progrediente MS
TD-OCT:	<i>engl. Time-Domain-OCT</i>
TMT:	<i>engl. total macular thickness</i> , gesamtmakuläre Netzhautdicke
TMV:	<i>engl. total macular volume</i> , gesamtmakuläres Netzhautvolumen
VEP:	Visuell evozierte Potentiale
ZNS:	Zentrales Nervensystem

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Das Krankheitsbild der Amyotrophen Lateralsklerose	1
1.2	Die Netzhaut und der Sehnerv	10
1.3	Optische Kohärenztomografie in der Neurologie – Stand der Forschung	14
1.3.1	OCT als Marker der Degeneration der Sehbahn: Beispiel Multiple Sklerose.....	14
1.3.2	Weiterentwicklung der OCT-Technologie: Feinauflösung zellulärer Schichten	19
1.3.3	OCT bei anderen neurologischen Erkrankungen.....	21
1.4	Fragestellung und Ziele der Arbeit	23
2	Methoden und Materialien	25
2.1	Probanden	25
2.2	Optische Kohärenztomografie	26
2.3	OCT-Aufnahmen und Segmentation	28
2.4	Statistische Analyse	30
3	Ergebnisse	31
3.1	Deskriptive Statistik.....	31
3.2	Vergleich der Ergebnisse für die Makula- und RNFL-Dicke	33
3.3	Vergleich der Ergebnisse der inneren Netzhautschichten	34
3.4	Korrelation mit klinischen Parametern	36
3.5	Korrelation zwischen den beiden Segmentationsmethoden	36
3.6	Inter-Rater Reliabilität für die manuelle Segmentationsmethode	36
4	Diskussion.....	37
5	Fazit.....	41
	Literaturverzeichnis	42
	Abbildungsverzeichnis.....	46
	Tabellenverzeichnis.....	47

1 Einleitung

1.1 Das Krankheitsbild der Amyotrophen Lateralsklerose

Anatomische Grundlagen

Die Amyotrophe Lateralsklerose (ALS) ist eine degenerative Erkrankung der Motoneurone (MN), deren Zellkörper in der grauen Substanz des Gehirns (Hirnrinde und Hirnnervenkerne) bzw. des Rückenmarks (Vorderhorn) liegen. Die efferenten Neurone der motorischen Kortex-Areale werden dabei als erstes motorisches Neuron bezeichnet, die Efferenzen aus den motorischen Hirnnervenkernen im Stammhirn bzw. aus dem Vorderhorn des Rückenmarks (RM) hingegen als zweites motorisches Neuron. Das erste MN zieht in der sog. Pyramidenbahn als *Tractus corticospinalis lateralis* und *Tractus corticospinalis anterior* ins RM, um dort innerhalb der grauen Substanz mit der nächsten Nervenzelle der motorischen Bahn synaptisch verschaltet zu werden. Das zweite MN nimmt seinen Ursprung in den motorischen Hirnnervenkernen bzw. dem Vorderhorn des RM und zieht als alpha-MN zu den entsprechenden Muskelfasern, die es innerviert (s. Abbildung 1). Die ALS betrifft also die Willkürmotorik [1, 2].

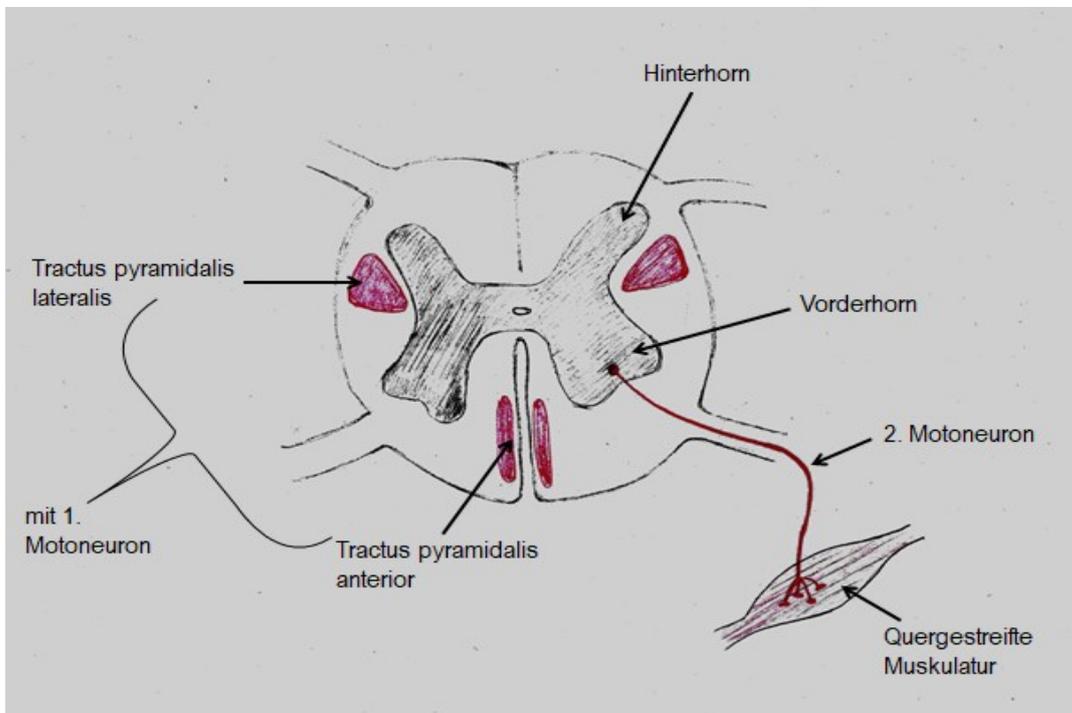


Abb. 1: Schematische Darstellung eines Rückenmark-Querschnitts: Topografie von erstem und zweitem Motoneuron, die bei der ALS betroffen sind (modifiziert nach Masuhr, K.F. [3])

Klinik und Verlauf

Die Degeneration von erstem und zweitem motorischen Neuron führt zum typischen klinischen Bild (s. Tabelle 1) mit gleichzeitig bestehenden schlaffen und spastischen Paresen, Muskelatrophien, Faszikulationen, gesteigerten oder erloschenen Muskeleigenreflexen oder pathologischen Fremdre reflexen [1, 4].

Je nach primär betroffener Muskelgruppe unterscheidet man verschiedene Formen: a) die spinale Verlaufsform (ca. 60%) betrifft vor allem die Muskulatur der Extremitäten und des Rumpfes, b) bei der bulbären Verlaufsform (ca. 35%) sind vornehmlich Atem-, Schlund- und Kehlkopfmuskulatur involviert. Die spinale Verlaufsform lässt sich wiederum unterteilen in Formen mit klinischem Beginn an der oberen (ca. 27%) oder unteren (ca. 30%) Extremität, sowie mit Beginn im thorakalen Bereich (ca. 3%) [4].

Zu Beginn der spinalen Form sind die Paresen häufig einseitig und fokal, im Verlauf kommt es zur Generalisierung durch Ausbreitung nach proximal oder distal bzw. durch Befall kontralateraler Muskelgruppen. Faszikulationen und (schmerzhafte) Muskelkrämpfe können bereits vor den Paresen und in gesunden Muskeln auftreten [1, 4]. An der oberen Extremität bemerken Patienten oft eine Schwäche und Atrophie der kleinen Handmuskeln. In der klinischen Untersuchung ist diese besonders am Daumenballen (*Thenar*), sowie im ersten intraossären Spalt zwischen Daumen und Zeigefinger (sog. *Split-Hand*-Phänomen) zu inspizieren. Bei initialem Befall der unteren Extremität kommt es häufig zu einer Fußheberparese. Bei bulbärem Beginn berichten Patienten von einer veränderten Sprechweise, anfangs meist bei längerem Sprechen, sowie im Verlauf von Schluckbeschwerden und erhöhtem Speichelfluss. In der klinischen Untersuchung sind hier häufig eine Zungenatrophie und Faszikulationen feststellbar. Ist bei der bulbären Verlaufsform vornehmlich das zweite MN (aus den entsprechenden Hirnnervenkernen) betroffen, spricht man von der Bulbärparalyse [4].

Wenngleich die ALS weiterhin oft als reine MN-Erkrankung beschrieben wird, so häufen sich seit mehreren Jahren Hinweise dafür, dass es sich bei der ALS um eine Multisystemerkrankung handelt. Anhaltende Sensibilitätsstörungen, Störungen der Okulomotorik und Sphinktermuskulatur, sowie kognitive Veränderungen dominieren im Anfangsstadium nicht das klinische Bild, werden mit Fortschreiten des Krankheitsprozesses jedoch bei einer beachtlichen Anteil von Patienten berichtet. Die Erforschung der genetischen Ursachen der ALS zeigt, dass das motorische Nervensystem zwar zuerst, aber nicht ausschließlich betroffen ist [4, 5]. Die Krankheitsprogression geht mit dem Übergreifen der degenerativen Prozesse auf andere zentralnervöse Areale einher [4, 6]. In familiären ALS-Verlaufsformen ist eine

gehäufte Assoziation zu frontotemporaler Demenz (FTD) gegeben, was auf gleiche genetische Ursachen zurückgeführt wird [4, 7].

Tabelle 1: Klinische Symptome und Zeichen der ALS (nach Hacke, W. [1], Witzel, S. und Ludolph, A. [4])

	<u>Zeichen des 1. Motoneurons</u>	<u>Zeichen des 2. Motoneurons</u>
Motorisches System betreffend (außer: Okulomotorik)	<ul style="list-style-type: none"> - Erhöhter Muskeltonus - Spastische Paresen - Pathologisch gesteigerte Muskeleigenreflexe - Pathologische Reflexe (z.B. Babinski-Zeichen) - Dysarthrie - Dysphagie 	<ul style="list-style-type: none"> - Muskelatrophie - Schlaaffe Paresen - Erloschene Muskeleigenreflexe - Faszikulationen - Muskelkrämpfe
Nicht-Motorisches System betreffend	<ul style="list-style-type: none"> - Kognitive und behaviorale Störungen, u.a. frontotemporale Demenz (FTD) - Störungen des visuellen Systems, incl. Okulomotorik - Sensibilitätsstörungen - Kachexie 	

Beteiligung nicht-motorischer Systeme bei der Amyotrophen Lateralsklerose

An dieser Stelle ist die Erörterung der übrigen, bei der ALS betroffenen zentralnervösen Systeme **nicht-motorischer** Art von Interesse (s. Tabelle 1). Obschon sie als klassische MN-Erkrankung gilt, gibt es in verschiedenen Studien Anhalt dafür, dass es sich bei der ALS um eine degenerative Multisystemerkrankung handelt [8]. So haben Weis et al. 2011 in ihrer Arbeit mittels Hautbiopsien festgestellt, dass ALS-Patienten im Vergleich zu gesunden Kontrollen signifikant häufiger unter einer sog. *Small-Fiber*-Neuropathie mit entsprechenden Sensibilitätsstörungen (Dys-, Par- und Hypästhesie) leiden [9]. Die Arbeitsgruppe um Byrne et al. hat bei Patienten mit ALS sowohl familiärer, als auch sporadischer Form eine Häufung von frontotemporaler Demenz (FTD) mit entsprechenden pathologischen Ergebnissen bei neuropsychologischer Testung entdeckt. Ferner konnten sie in hochauflösenden 3-Tesla-Magnetresonanztomografie-Bildern ein spezifisches Atrophiemuster in Arealen der grauen Substanz, welche nicht dem Motocortex zugehörig sind (rechter Gyrus frontalis superior und inferior, Pars anterior des linken Gyrus cinguli, Gyrus precentralis rechts), darstellen [7]. In einer weiteren Studie wurde das Gehirn von 76 ALS-Patienten *post-mortem* im Rahmen einer Autopsie immunhistochemisch untersucht. Dabei zeigte sich eine mit Krankheitsprogression voranschreitende Verteilung des als neuropathologischer ALS-Marker diskutierten 43 kDa TAR DNA-bindenden Proteins (pTDP-43) in Gehirnarealen jenseits der Pyramidenbahn wie dem präfrontalen Neocortex und dem Hippocampus [6].

Beteiligung des visuellen Systems bei der Amyotrophen Lateralsklerose

Wie im vorangegangenen Abschnitt erläutert, häufen sich die wissenschaftlichen Hinweise für einen multisystemischen Befall von zentralnervösen Strukturen bei ALS. Da die Erforschung der Netzhaut von ALS-Patienten Gegenstand dieser Arbeit ist, soll in diesem Kapitel näher auf die bisherigen Forschungsergebnisse, die eine Beteiligung des visuellen Systems im zentralen Nervensystem (ZNS) nahelegen, eingegangen werden. Es finden sich dabei Hinweise sowohl für strukturelle als auch für funktionelle Schädigungen.

Bereits 1998 untersuchten Münte et al. visuell evozierte Potentiale (VEP) bei ALS-Patienten im Vergleich zu gesunden Kontrollen. Bei den ALS-Patienten fiel dabei an den temporo-okzipitalen Mess-Elektroden eine fehlende Reizantwort im Latenzbereich 90-140ms (P1, wird der frühen Phase der visuellen Signalverarbeitung zugeordnet)

auf. Die P300-Antwort, die der späten Phase der visuellen Signalverarbeitung zugeordnet wird, war hingegen bei ALS-Patienten und gesunden Kontrollen gleichermaßen zu erhalten [10]. Da sich die P1-Komponente, die mit der räumlichen Wahrnehmung in Verbindung gebracht wird [11], den inferioren okzipito-temporalen Kortextbereichen zuordnen lässt, postulierten die Forscher letztlich eine Störung der frühen visuellen Reizverarbeitung und der räumlichen Wahrnehmung [10]. Diese Veränderungen der visuellen Reizverarbeitung wurden von Münte und Kollegen mit neuropathologischen Auffälligkeiten im Sinne einer Astrogliose bzw. reaktiven Astrozytose in korrespondierenden Arealen sowohl der grauen Substanz als auch des subkortikalen Marklagers in Verbindung gebracht [12, 13].

Mittels bildgebender Verfahren konnten auch strukturelle Veränderungen des visuellen Systems bei ALS aufgezeigt werden. In einer Arbeit wurde das Ausmaß an Atrophie der grauen Substanz bei ALS-Patienten im Vergleich zu gesunden Kontrollen mittels Magnetresonanztomografie (MRT) bzw. Voxel-basierter Morphometrie ermittelt. Hierbei zeigten sich neben einer Reduktion der grauen Substanz im primär-motorischen Kortex fünf weitere Atrophie-Regionen jenseits der motorischen Hirnareale. Eine davon war der rechtsseitige, okzipitale Pol des Gehirns, d.h. der Bereich der Sehrinde, in der die kortikale Verarbeitung der Informationen aus der Sehbahn stattfindet [14].

Dass bei der ALS die okulomotorischen Funktionen nicht - wie lange angenommen - von dem Verfall der übrigen willkürmotorischen Funktionen ausgespart sind, ist mittlerweile gut untersucht [15]. Die Degeneration der Motoneurone in den kranialen Hirnnervenkernen (*Nucleus nervi oculomotorii* (N. III), *Nucleus nervi trochlearis* (N. IV) und *Nucleus nervi abducentis* (N. VI)) wurde in (immun-)histologischen Experimenten mit Maus-Modellen nachgewiesen [16], scheint jedoch anderen Pathomechanismen zu folgen und somit erst in späteren Krankheitsphasen klinisch manifest zu werden [17]. Dazu gibt es verschiedene anatomische, physiologische und biochemische Hypothesen: Besagte Hirnnerven scheinen höhere neuronale Feuerraten und weniger rekurrente Kollateralen zu haben. Insbesondere die Neurone des *Nervus oculomotorius* und des *Nervus trochlearis* zeigen weniger Glycin- und anticholinerge (muskarinische) Rezeptoren auf, was einen protektiven Effekt zu haben scheint [18]. Auf symptomatischer Ebene sind bei ALS-Patienten im Vergleich zu gesunden Kontrollen signifikant höhere Raten von Störungen der langsamen Augenfolgebewegungen und Blickfixierung, sowie Nystagmen zu verzeichnen, ferner eine reduzierte Sehschärfe sowohl in hoch-, als auch niedrig-contrastierten Sehtests [19].

Aktuelle Studien aus den letzten Jahren beschäftigen sich mit den Parallelen zwischen ALS und dem primären Offenwinkelglaukom (*engl. primary open angle glaucoma*,

POAG). Bei Letzterem kommt es zu einer mittels optischer Kohärenztomographie (OCT; ausführliche Erläuterungen s.u.) detektierbaren Degeneration der retinalen Ganglienzellen und somit zu einer progredienten Ausdünnung der retinalen Nervenfaserschicht [20]. Das POAG gilt nicht als rein ophthalmologische, sondern als neurodegenerative Erkrankung und zeigt Gemeinsamkeiten mit Erkrankungen wie M. Alzheimer und M. Parkinson [21, 22]. Humangenetische Studien zeigten, dass bei der ALS die Mutation von Optineurin und TANK-bindender Kinase 1 eine ursächliche Rolle spielen [23, 24]. Beide Mutationen sind im Rahmen der Pathogenese des POAG bereits länger bekannt [25, 26]. In einer aktuellen Studie von 2018 wurden neben verschiedenen OCT-Parametern auch die Ergebnisse von Gesichtsfeld-Bestimmungen von ALS- und POAG-Patienten, sowie gesunden Kontrollen verglichen: beim POAG zeigte sich ein signifikant höherer mittlerer Defekt (*engl. mean defect*) im Vergleich zu ALS und gesunden Kontrollen. Die letzten beiden unterschieden sich nicht signifikant voneinander, jedoch waren mittlere Empfindlichkeit (*engl. mean sensitivity*) und Defekttiefe (*engl. square root of lost variance*) von POAG- und ALS-Patienten gegenüber Gesunden signifikant vermindert bzw. vermehrt [20]. Insgesamt häufen sich also Hinweise für eine regelhafte Beteiligung des visuellen Systems bei ALS und motivieren Forscher dazu, auf diesem Gebiet nach geeigneten Biomarkern für Diagnose und Monitoring der ALS zu suchen.

Epidemiologie

In Deutschland liegt die Inzidenz der ALS bei 3/100.000 Einwohnern. Am häufigsten ist die sporadische Form mit einem Erkrankungsgipfel um das 60.-65. Lebensjahr. Etwa 5% der ALS-Patienten leiden unter der familiären Form mit unregelmäßiger Vererbung, diese erkranken früher. Männer sind etwas häufiger betroffen als Frauen [1, 4].

Auf den Guam-Inseln im westlichen Pazifik ist eine endemische Form mit Inzidenzraten von 20 (Frauen) bis 50 (Männer) pro 100.000 Einwohnern bekannt, hier geht die ALS mit einem Parkinson-Demenz-Syndrom einher [3].

Ätiologie und Pathogenese

Die Ursachen und Pathomechanismen, die der ALS zugrunde liegen, sind bislang ungeklärt. Genetische Faktoren spielen eine Rolle und sind Gegenstand der Forschung. Bei der familiären ALS sind verschiedene Erbgänge möglich, die meisten

davon sind autosomal-dominant. In Deutschland machen Mutationen im C9ORF72-, SOD- und FUS-Gen nahezu 50% aller familiären Verlaufsformen aus. Bei den C9ORF72-Mutationen sind häufiger dementielle Symptome zu verzeichnen. Welche Fehlfunktionen im Einzelnen auf zellulärer Ebene aus diesen Gendefekten resultieren, ist Gegenstand der aktuellen Forschung [1, 4]. Dabei wird besonders ein progredienter Mechanismus diskutiert: die intrazelluläre Ablagerung von mehrfach phosphoryliertem 43 kDa TAR-DNA-bindendem Protein 43 (pTDP-43), die sich im Laufe der Erkrankung über Strukturen, die das motorische System betreffen, hinaus im ZNS verbreitet [6]. Dies unterstreicht das zunehmende Verständnis der ALS als Multisystemdegeneration, wobei pTDP-43 als möglicher neuropathologischer Biomarker angesehen wird [1, 4].

Diagnostik

Die ALS ist in erster Linie eine klinische Diagnose und erfolgt nach gründlicher Anamnese und körperlich-neurologischer Untersuchung. Elektrophysiologische Diagnostik ist sinnvoll und kann im Zweifel wertvolle ergänzende Informationen liefern. In jedem Fall muss ein sorgfältiger Ausschluss von Differentialdiagnosen erfolgen. Hierzu gehören neben anderen primären ZNS-Erkrankungen auch chronisch-systemische Erkrankungen mit möglicher Manifestation im ZNS, sowie muskuläre Erkrankungen unterschiedlicher Genese [4].

Für die Diagnosestellung haben sich die im Jahr 2000 revidierten El-Escorial- [27] bzw. die Awaji-Kriterien [28] bewährt. Dafür müssen in beiden Systemen zunächst folgende Voraussetzungen erfüllt sein:

1. klinischer Nachweis der Degeneration des 1. Motoneurons,
2. klinischer, elektrophysiologischer oder pathologischer Nachweis der Degeneration des 2. Motoneurons,
3. Generalisierung der Symptome.

Gleichzeitig darf kein elektrophysiologischer, pathologischer oder bildgebender Befund die klinische Symptomatik anderweitig erklären.

Sind diese Bedingungen erfüllt, wird bei den El-Escorial-Kriterien anhand der Anzahl der motorischen Symptome in vier Regionen (bulbär, cervical, thorakal, lumbal) unterschieden in:

- a) sichere/definitive ALS: 1. und 2. MN sind in drei von vier Regionen betroffen,
- b) wahrscheinliche ALS: 1. und 2. MN sind in zwei von vier Regionen betroffen, wobei die Region des betroffenen 1. MN rostral der Region des betroffenen 2. MN sein sollte,

- c) wahrscheinliche, laborunterstützte ALS: 1. und 2. MN sind in einer von vier Regionen betroffen oder nur das 1. MN ist in einer Region betroffen und typische Elektromyografie-Befunde in min. zwei Extremitäten liegen vor,
- d) mögliche ALS: 1. und 2. MN sind in einer von vier Regionen betroffen oder 1. MN ist in zwei oder mehr Regionen betroffen [1, 27].

Ziel ist eine frühe und sichere Diagnosestellung, um möglichst frühzeitig mit der verlaufsmodifizierenden und symptomatischen Therapie zu beginnen. Dies ist entscheidend für die Prognose und Lebensqualität der Betroffenen [4]. Dass im Frühstadium der Erkrankung mithilfe der El-Escorial-Kriterien oft keine definitive ALS zu diagnostizieren ist, wird von Klinikern bemängelt. An dieser Stelle bieten die Awaji-Kriterien den Vorteil, dass sie ALS-typische elektrophysiologische Befunde mit klinischen Befunden gleichwertig erachten, zumal Veränderungen im Elektromyogramm vor klinischer Manifestation auftreten können [28].

Therapie

Angesichts der weitestgehend noch ungeklärten Ätiopathogenese ist eine kausale Behandlung der ALS bislang nicht möglich. Es wird zwischen der verlaufsmodifizierenden, medikamentösen Therapie und der symptomatischen Therapie unterschieden.

A. Verlaufsmodifizierende Therapie

Der Glutamat-Antagonist Riluzol wird seit vielen Jahren als verlaufsmodifizierende, medikamentöse Therapie eingesetzt [1]. Pathophysiologisch beruht diese Therapie auf der Vorstellung, dass die Wirkung von Glutamat als wichtigster exzitatorischer Neurotransmitter des ZNS abgemildert und damit eine Überlastung von verbleibenden Motoneuronen eingeschränkt wird. Riluzol ist oral verfügbar und wird üblicherweise in einer Dosis von 100mg/ Tag verordnet. Klinisch basiert die Rationale des Einsatzes von Riluzol auf einer moderaten Verlängerung der Lebenserwartung unter Riluzol-Behandlung, verglichen mit einer reinen Placebo-Behandlung [1, 29].

B. Symptomatische Therapie

Die symptomatische Behandlung von Krankheitsbeschwerden und Komplikationen, sowie der Unterstützung mittels Hilfsmitteln ist bei der ALS von wesentlicher Bedeutung, letztlich mit dem Ziel den Patienten trotz rascher Krankheitsprogression

und entsprechenden Einschränkungen möglichst viel Lebensqualität zu erhalten. Um die noch vorhandenen motorischen Funktionen bestmöglich zu nutzen und so lang wie möglich zu erhalten, sind Physio- und Ergotherapie sowie Logopädie unabdingbar. Bei Spastik und Immobilität hilft Physiotherapie auch gegen Schmerzen und etwaige Wundbildungen [1, 4]. Interessanterweise kann einer zwar kleinen, aber sorgfältig kontrollierten Studie nach eine hochkalorische (Trink)nahrung nicht nur einer Mangelernährung vorbeugen, sondern auch das Überleben signifikant verlängern [30]. Diese Erkenntnisse weisen darauf hin, dass es sich bei der ALS über das ZNS hinausgehend um eine systemische Erkrankung handelt, die mit einer metabolischen Dysfunktion einhergeht [31]. Bei fortschreitender Dysphagie sollte frühzeitig über eine perkutane endoskopische Gastrostomie nachgedacht werden. Diese dient auch der Vorbeugung einer Aspirationspneumonie. Pseudohypersalivation infolge verminderter Schluckfrequenz kann mittels Anticholinergika verringert werden. Die Behandlung der Ateminsuffizienz erfolgt je nach Krankheitsstadium mittels nicht-invasiver oder invasiver Ventilation nach Tracheotomie. Letzteres sollte rechtzeitig mit den Patienten und ihren Angehörigen besprochen werden. Bei terminaler Ateminsuffizienz ist eine palliative Versorgung angezeigt. Ferner können psychische Belastungsreaktionen eine psychopharmakologische und/ oder psychotherapeutische Unterstützung notwendig machen. In allen Fällen ist eine frühzeitige Beratung von Angehörigen, evtl. mit Aufklärung zu Selbsthilfe-Angeboten, ratsam [1, 4].

Prognose

Die Prognose der ALS ist infaust. Prognose-bestimmend sind vornehmlich die bulbären Symptome. Aspirationspneumonie und Ateminsuffizienz sind die Todesursachen in fortgeschrittenem Krankheitsstadium [3]. Die frühzeitige, nicht-invasive Behandlung der Ateminsuffizienz und die Prävention einer Mangelernährung zeigen günstige Effekte auf die Mortalität [4]. Die durchschnittliche Überlebenszeit nach Diagnosestellung beträgt drei Jahre [3]. Allerdings stellt sich mit zunehmender Erforschung der neuropathologischen Veränderungen, der molekularen Pathophysiologie, der genetischen Assoziationen und der klinischen Krankheitsvarianten heraus, dass die ALS eine beträchtliche Variabilität hinsichtlich des Degenerationsmusters und der Prognose aufweist [32, 33].

1.2 Die Netzhaut und der Sehnerv

Die Netzhaut (*lat. Retina*) des Menschen ist ontogenetisch ein Teil des ZNS. Sie entwickelt sich aus den kranialen Abschnitten der Neuralfalten, deren Verschmelzung die Entstehung des Vorderhirns zur Folge hat. Die Augenentwicklung beginnt mit der vierten Schwangerschaftswoche und ist eng an die des Vorderhirns geknüpft (s. Abbildung 2). Die Augenbläschen bilden sich beidseitig bei der Fusion der beiden Neuralfalten im Bereich des späteren Zwischenhirns. Durch die Einstülpung der Linsenanlage lassen sie sich im weiteren Verlauf in den proximalen Augenbecherstiel und den distalen Augenbecher unterteilen (s. Abbildung 3). Der Augenbecherstiel ist der Vorgänger des Sehnervs (*lat. Nervus opticus*). Der Augenbecher hat zwei Blätter- aus dem äußeren Blatt entsteht das retinale Pigmentepithel, aus dem inneren Blatt die Neuroretina mit den Fotorezeptoren, Bipolar-, Horizontal- und amakrinen Zellen sowie den Ganglienzellen [34, 35].

Insgesamt besteht die Retina aus zehn Schichten (s. Abbildung 4 und 5). Die äußerste, d.h. zur Wand des Augapfels hin gerichtete, Schicht ist das retinale Pigmentepithel. Es ist einschichtig-kubisch mit apikalen Fortsätzen, die die Fotorezeptoren umgreifen. Es hat mehrere Funktionen: Neben der Beteiligung an der Blut-Retina-Schranke und dem Vitamin A-Metabolismus, spielt es auch bei der Regeneration der Fotorezeptoren durch Phagozytose der Außensegmente eine Rolle. Darauf folgt die Schicht der Innen- und Außensegmente der Fotorezeptoren. Man unterscheidet hierbei die Stäbchen, die für das Hell-Dunkel-Sehen verantwortlich sind und zahlenmäßig überwiegen (100-120 Mio.), von den Zapfen, die für das Farbsehen zuständig und an der *Fovea centralis* (Punkt des schärfsten Sehens) am dichtesten sind. Sie sind das erste Neuron der Sehbahn und für die Transformation des Lichtreizes in ein elektrisches Signal verantwortlich. Die folgende äußere Gliagrenzmembran trennt die Innen- und Außensegmente von den Zellkörpern, die in der äußeren Körnerschicht (*engl. outer nuclear layer, ONL*) liegen. In der anschließenden äußeren plexiformen Schicht (*engl. outer plexiform layer, OPL*) bilden die Fortsätze der Rezeptoren Synapsen mit den bipolaren und Horizontalzellen aus. Grundsätzlich sind die bipolaren Zellen das zweite Neuron der Sehbahn und leiten die Information an die Ganglienzellen weiter. Horizontalzellen können sich dazwischenschalten und durch sog. laterale Interaktion zur Kontrastverstärkung beitragen. In der inneren Körnerschicht (*engl. inner nuclear layer, INL*) liegen die Perikarya der Bipolar-, Horizontal und amakrinen Zellen. Zur Synapsenbildung zwischen Bipolar-, amakrinen und Ganglienzellen kommt es in der inneren plexiformen Schicht (*engl. inner plexiform layer, IPL*). Letztere bilden das dritte Neuron der Sehbahn. Ihre Zellkörper liegen in der darauffolgenden Ganglienzellschicht

(engl. *ganglion cell layer*, GCL), ihre Axone verlaufen in der retinalen Nervenfaserschicht (engl. *retinal nerve fiber layer*, RNFL) und verlassen den Bulbus an der *Papilla nervi optici* (blinder Fleck), um als *N. opticus* zu der nächsten Station des visuellen Systems zu ziehen. Von diesem Punkt an werden die Axone durch Oligodendrozyten myelinisiert. Die letzte Schicht ist die innere Gliagrenzmembran, welche eine Abgrenzung zum Glaskörper herstellt. Der Sehnerv ist als zentralnervöse Struktur von den Hirnhäuten (von außen nach innen: *Dura mater*, *Arachnoidea* und *Pia mater*) umhüllt. In ihm verläuft die *A. centralis retinae*, welche alle Schichten von der RNFL bis zur OPL versorgt. Die weiter außen gelegenen Schichten werden über choroidale Gefäße perfundiert [35, 36].

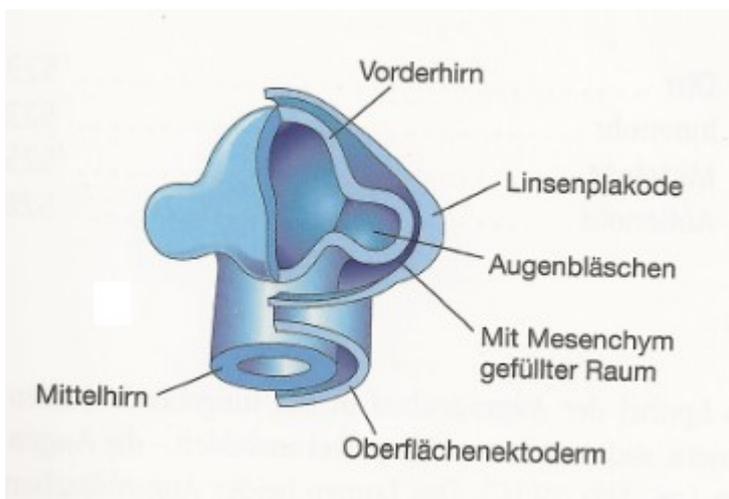


Abb. 2: Vorderhirnanlage eines 28 Tage alten Embryos (schematisch): Die Augenbläschen bilden sich im Bereich des späteren Zwischenhirns. Die enge Verknüpfung zwischen Augen- und Gehirnentwicklung wird deutlich (aus: Moore, K.L. [34]; englische Originalversion [37]).

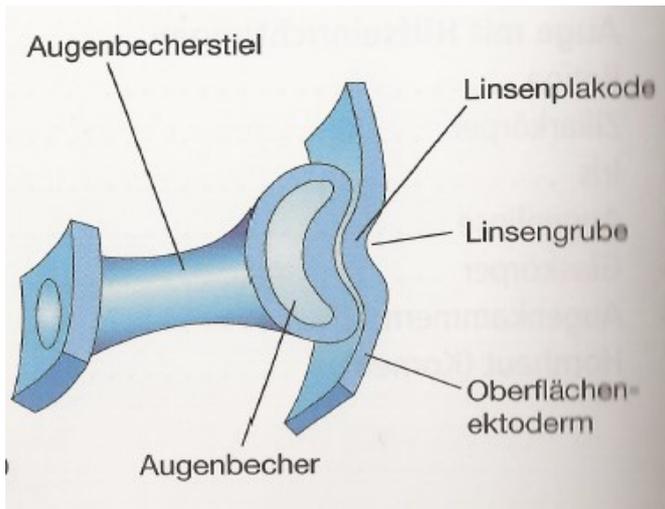


Abb. 3: Weiterentwicklung von Augen- und Linsenanlage (schematisch): Der Augenbecherstiel ist der Vorläufer des Sehnervs (*N.opticus*; aus: Moore, K.L. [34]; englische Originalversion [37]).

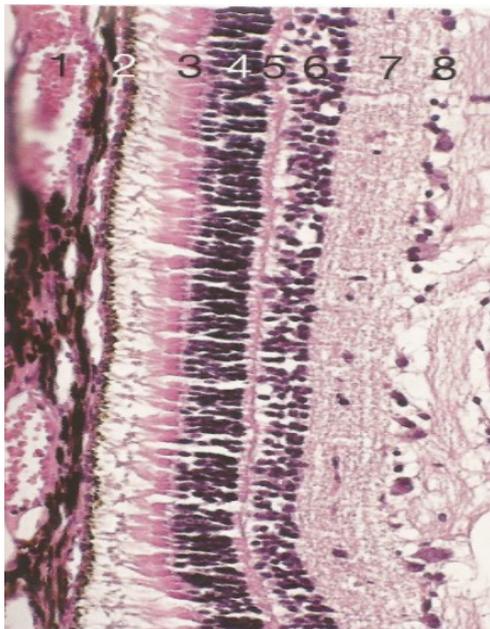


Abb. 4: Histologischer Aufbau der Netzhaut: 1 Choroidea mit Blutgefäßen, 2 Pigmentepithel, 3 Außen- und Innensegmente der Fotorezeptoren, 4 äußere Körnerschicht, 5 äußere plexiforme Schicht, 6 innere Körnerschicht, 7 innere plexiforme Schicht, 8 Ganglienzellschicht (aus: Welsch, U. [36]).

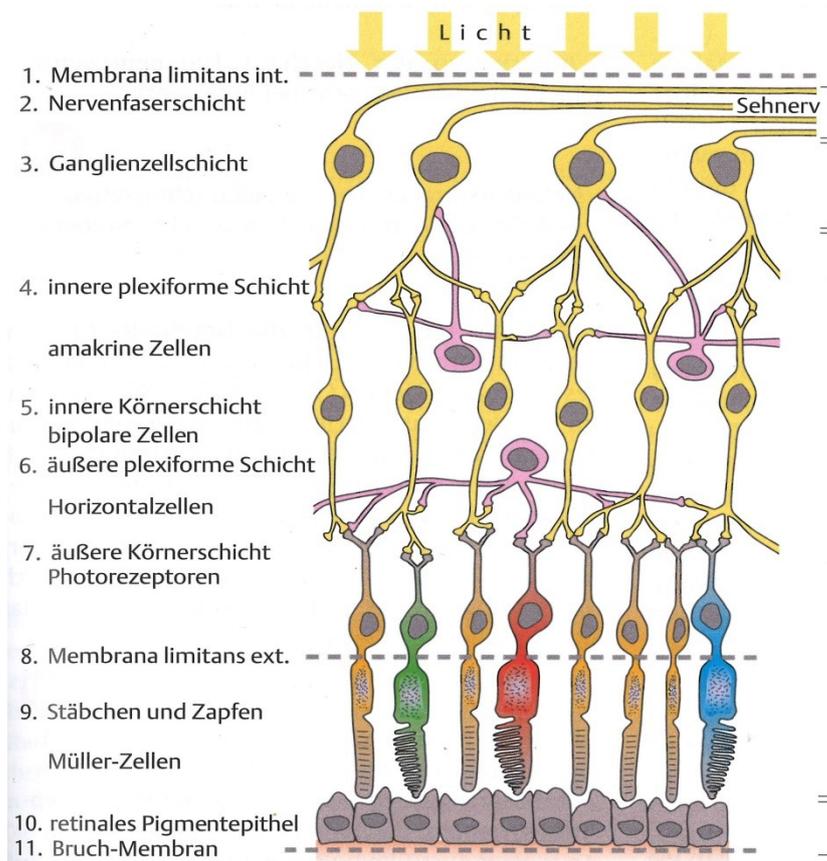


Abb. 5: Schematische Darstellung der Netzhautarchitektur und der neuronalen Verschaltung (aus: Lang, G.K. [38]).

1.3 Optische Kohärenztomografie in der Neurologie – Stand der Forschung

Wie zuvor ausgeführt haben Studien wiederholt Hinweise für die Beteiligung des visuellen Systems bei der ALS ergeben (siehe Abschnitt „Beteiligung des visuellen Systems bei der ALS“ oben). Die diagnostischen Mittel zur Detektion von visuellen Einschränkungen sind vergleichsweise leichter durchführbar und für die Patienten vergleichsweise wenig invasiv. Dazu gehören beispielsweise die Bestimmung der Sehschärfe mittels Sloan-Diagramm oder die oben genannten VEP. Die optische Kohärenztomographie (OCT) ist in diesem Kontext ebenfalls eine vielversprechende Untersuchungstechnik. Es handelt sich um eine nicht-invasive, leicht zu erlernende und kostengünstige Untersuchungsmethode, die durch die Erstellung von Querschnitts- und 3D-Bildern der Netzhaut in nahezu mikroskopischer Auflösung eine quantitative Beurteilung der einzelnen Netzhautschichten ermöglicht (zur ausführlichen Darstellung dieser Technik siehe Kapitel 3 „Materialien und Methoden“). Vor etwa zwanzig Jahren wurde die OCT erstmals in der Ophthalmologie angewendet und ist seitdem fester Bestandteil der Diagnostik des Glaukoms, des Makulaödems und anderer Erkrankungen des hinteren, aber auch des vorderen Augenabschnittes.

1.3.1 OCT als Marker der Degeneration der Sehbahn: Beispiel Multiple Sklerose

Die erste Arbeit, in der die OCT zur Erforschung einer neurologischen Erkrankung eingesetzt wurde, befasste sich 1999 mit der Multiplen Sklerose (MS) [39]. Aus diesem Grund erfolgt nachfolgend eine Darstellung der mittlerweile intensiven Forschung zur OCT-basierten Erfassung der Neurodegeneration bei der MS, die als häufigste entzündliche Krankheit des ZNS eine relevante Rolle im neurologischen Alltag spielt. Zudem existieren zahlreiche Studien, die bei der MS OCT-basierte Veränderungen der Retina mit anderen Parametern – so z.B. klinischen Veränderungen wie auch MRT-basierten Degenerationsmustern – in Beziehung setzten.

A) MS: OCT-basierter Nachweis von Veränderungen der Retina

Die oben erwähnte seminale Arbeit von Parisi et al. verglich die RNFL-Dicke von 14 MS-Patienten Augen nach vollständiger Remission einer unilateralen Sehnerventzündung (*engl. optic neuritis*, ON) mit der gleichen Anzahl an

altersentsprechenden gesunden Kontrollen. Es stellte sich dabei heraus, dass die RNFL von ON-Augen im Mittel um etwa 46% dünner war als die der Kontroll-Augen ($p < 0,01$). Auch im Vergleich zu dem vermeintlich unbeeinträchtigten Partnerauge (*engl. no optic neuritis*, NON) zeigte sich eine mittlere Reduktion der RNFL um 28% ($p < 0,01$). Selbst die RNFL der vermeintlichen NON-Augen war im Mittel um 26% dünner als die der Kontroll-Augen ($p < 0,01$). Zur Darstellung der funktionellen Folgen dieser morphologischen Veränderung der Retina wurde die RNFL-Dicke mit den Ergebnissen des Elektretinogramms (ERG) korreliert. Hierbei zeigten sich signifikante Zusammenhänge zwischen Ausmaß der RNFL-Ausdünnung und Veränderungen in der Latenz und Amplitude der elektrischen Potentiale [39].

2005 untersuchten Trip et al. in einer Querschnittsstudie die Hypothese, dass bleibende Sehschäden nach ON auf einen Verlust von intakten Axonen der RNFL zurückzuführen sind. Dazu untersuchten sie Patienten mit MS und klinisch isoliertem Syndrom (CIS) mit zurückliegender unilateraler ON. Sie führten mehrere neue Aspekte in diesem Zusammenhang ein: Als erstes kam neben der RNFL ein weiterer Parameter zum Einsatz- das gesamtmakuläre Netzhautvolumen (*engl. total macular volume*, TMV) als Maß für die Intaktheit der retinalen Ganglienzellen. Die Ergebnisse für RNFL und TMV wurden neben elektrophysiologischen (VEP und ERG) auch mit klinischen (Sehschärfe und Farbsehvermögen) Parametern, die Aussagen über die Intaktheit des Sehvermögens erlauben, korreliert. Die RNFL und das TMV betroffener Augen waren im Vergleich zu gesunden Augen im Mittel um 33% bzw. 11% reduziert ($p < 0,001$). Beim Vergleich von ON-Augen mit dem nicht-betroffenen Partnerauge zeigten sich ebenfalls signifikante Verringerungen der Mittelwerte von RNFL und TMV um 27% bzw. 9% ($p < 0,001$). Reduzierte RNFL-Werte gingen in signifikantem Ausmaß mit reduzierter Sehschärfe (*LogMAR-Visus*, $p = 0,01$) und Farbsehvermögen (*Farnsworth-Munsell 100 Hue-test*, $p < 0,001$), sowie verringertem Gesichtsfeld (*visual field mean deviation*, $p = 0,003$) einher. Ein verringertes Makulavolumen war mit schlechterem Farbsehvermögen (*Farnsworth-Munsell 100 Hue-test*, $p < 0,001$) verbunden. Zum ersten Mal wurde die Assoziation zwischen reduzierten RNFL- und TMV-Werten mit verringerten Amplituden der VEP dargestellt [40].

Die Kernaussage dieser beiden Pionier-Studien war, dass selbst in Augen ohne klinische Zeichen einer ON im Vergleich zu gesunden Kontrollen eine signifikante Schädigung der Sehnervenfasern zu beobachten war, die über ein Ausmaß verfügte, funktionelle Einbußen zu verursachen. Der Schädigungsgrad war jedoch gegenüber den Partneraugen mit symptomatischer ON geringer ausgeprägt.

In den folgenden Jahren häuften sich Studien zur Quantifizierung retinaler Degeneration mittels OCT. Bei den meisten davon kamen *Time-Domain-OCT*-Geräte

(TD-OCT) zum Einsatz. Die am häufigsten untersuchten Parameter sind die RNFL-Dicke und das TMV. In einer Meta-Analyse von Daten, die mittels TD-OCT erhoben wurden, haben Petzold et al. 2010 bei ON-Augen eine durchschnittliche RNFL-Reduktion von 20,38 µm festgestellt, bei nicht betroffenen Augen betrug diese im Mittel 7,08 µm [41]. Um die Aussagekraft der OCT-Ergebnisse zu prüfen, werden sie in Verhältnis zu bereits etablierten Parametern anderer bildgebender Verfahren wie z.B. der MRT gesetzt und mit gängigen klinischen und paraklinischen Daten korreliert.

B) MS: OCT-basierter Nachweis von retinalen Veränderungen und MRT-Auffälligkeiten

In einigen repräsentativen Studien wurden Parameter der MRT - als derzeitiger Goldstandard der bildgebenden Beurteilung der MS - mit OCT-Befunden in Zusammenhang gebracht. Reduzierte Werte für die Dicke der RNFL gingen mit einem verringerten Anteil von Hirngewebe am Hirngesamtvolumen (*engl. brain parenchymal fraction*) einher, sodass anhand der RNFL auch Aussagen bezüglich des Ausmaßes an Hirnatrophie getroffen werden könnten [42, 43]. Eine inverse Korrelation zeigten die RNFL-Dicke und das T1- und T2-Läsionsvolumen, sowie der prozentuale Anteil an grauer Substanz [44, 45].

C) MS: OCT-basierter Nachweis von retinalen Veränderungen und VEP-Abweichungen

Der von Trip et al. (2005) zum ersten Mal beschriebene Zusammenhang zwischen verringerter RNFL und reduzierten VEP-Amplituden [40] wurde in weiteren Arbeiten bestätigt [41]. Diese Beobachtung bekräftigt die Annahme, dass der akute Entzündungsprozess direkte axonale Schädigung verursacht. Durch die Anwendung von multifokalen VEP wurde eine topographische Differenzierung erreicht. Im zentralen Anteil des Gesichtsfeldes waren die Amplituden am meisten verringert. Dieser Bereich entspricht dem temporalen Quadranten der Retina, wo auch das größte Ausmaß an RNFL-Ausdünnung verzeichnet wurde [46].

D) MS: OCT-basierter Nachweis von retinalen Veränderungen und Sehvermögen

Klinisch kann die Sehschärfe anhand verschiedener Sehprobentafeln quantifiziert werden. Bei MS-Patienten und in Studien zu OCT werden zur Bestimmung des Auflösungsvermögens bei hohem Kontrast *ETDRS charts* (2,5% Kontrastgrad), zur

Bestimmung des Auflösungsvermögens bei geringem Kontrast *Sloan charts* (1,25% Kontrastgrad) verwendet. In zahlreichen Querschnittsstudien wurde ein signifikanter Zusammenhang zwischen der RNFL-Dicke und dem Visus gezeigt. In der o.g. Arbeit von Trip et al. wurde eine lineare Korrelation zwischen den Ergebnissen der *ETDRS*-Sehprobentafeln und der RNFL-Dicke beschrieben [40]. Fisher und seine Arbeitsgruppe konnten in ihrer Arbeit beobachten, dass jeder Verlust an 4 µm RNFL-Dicke mit einer Verschlechterung der Sehschärfe um eine Zeile auf der *Sloan chart* einhergeht [47].

In einer longitudinalen Studie der Arbeitsgruppe um Talman stellte sich heraus, dass die Ausdünnung der RNFL bei den meisten MS-Patienten zeitabhängig ist. Jedes vergangene Folgejahr ging mit einer mittleren Reduktion der RNFL um 2 µm einher ($p < 0,001$, für alle MS-Patienten). Interessanterweise ergab sich bei NON-Augen ein höherer Mittelwert von 2,4 µm ($p < 0,001$) als bei ON-Augen (1,4 µm, $p = 0,005$), was die Hypothese von subklinischen Entzündungsgeschehen im vorderen Abschnitt der Sehbahn stützt [48].

Ein anderes Verfahren zur Beurteilung des Sehvermögens ist die Bestimmung des Gesichtsfeldes (GF). Die Sehnervenentzündung kann jede Form des GF-Defektes verursachen, häufig ist ein Zentralskotom. Costello et al. stellten 2006 ihre Studie vor, in der sie erstmals einen Zusammenhang zwischen durchschnittlicher RNFL-Dicke und der mittleren Abweichung des GF (*engl. visual field mean deviation, VFMD*) beobachteten. Sie führten ihre Regressionsanalyse getrennt für Patienten mit einem RNFL-Wert von größer/ gleich bzw. geringer als 75 µm durch. Dabei zeigte sich, dass zwar in beiden Fällen geringere RNFL-Messwerte mit einer erhöhten VFMD einhergingen, jedoch nur in der Gruppe mit einer RNFL-Dicke von weniger als 75 µm die Steigung der Veränderung signifikant ist ($p = 0,0002$). In dieser Gruppe ging jede Zunahme der RNFL-Dicke um 10 µm mit einer Verbesserung der VFMD um 6,46 dB einher [49]. Diese Ergebnisse stimmen weitestgehend mit denen von Trip und Kollegen (2005) überein [40].

E) MS: OCT-basierter Nachweis von retinalen Veränderungen und EDSS

Unter der Annahme, dass Axonschädigung das pathologische Korrelat klinischer Beeinträchtigung ist, wäre anzunehmen, dass reduzierte RNFL-Werte mit einer Zunahme des Behinderungsausmaßes einhergehen. Der im klinischen Alltag und in wissenschaftlichen Studien zu MS am häufigsten verwendete Parameter zur Einschätzung des Grades an Behinderung ist der *Expanded Disability Status Scale* (EDSS) [50]. In vielen OCT-Studien wurde ein etwaiger Zusammenhang mit der RNFL-

Dicke untersucht. Fisher und Kollegen kamen zu dem Ergebnis, dass Patienten mit höherem Wert für EDSS geringere RNFL-Werte hatten [47]. Albrecht et al. beobachteten, dass bei Patienten ohne ON die Abnahme der RNFL-Dicke signifikant mit einer Zunahme des EDSS-Wertes einhergeht (Spearman's Rangkorrelationskoeffizient $r = 0,42$, $p = 0,05$). Dieser Zusammenhang war bei Patienten mit ON interessanterweise nicht signifikant [51]. Verschiedene andere Studien kamen zu dem gleichen Ergebnis. [41] Dies könnte man dadurch erklären, dass der höhere Schädigungsgrad der RNFL nach ON das Ausmaß an Neurodegeneration im ZNS nicht korrekt widerspiegelt, sondern vielmehr „übertönt“, sodass die RNFL-Dicke von NON-Augen verlässlicher ist. Toledo und Kollegen konnten nach sektorieller Korrelation der RNFL-Werte zeigen, dass neben der mittleren RNFL-Dicke auch die temporale RNFL-Dicke allein negativ mit den EDSS-Werten korreliert. Dies ist in Einklang mit vorherigen Beobachtungen, dass die RNFL-Ausdünnung im temporalen Quadranten besonders ausgeprägt ist [52].

Die Ergebnisse dieser Studien lassen die OCT als vielversprechendes Instrument zum Monitoring der MS dastehen. In den meisten Arbeiten wird die Kohorte der Patienten allerdings nicht weiter unterteilt. Aufgrund der angenommenen unterschiedlichen pathogenetischen Muster bei der schubförmigen und progredienten Verlaufsform der MS, scheinen jedoch auch unterschiedliche Ergebnisse bezüglich der RNFL-Dicke und des TMV und ihrer Korrelation mit o.g. Parametern wahrscheinlich. Einige Arbeitsgruppen haben eine Differenzierung der Patienten in Anhängigkeit vom MS-Subtyp vorgenommen. Pulicken und Kollegen beobachteten beim Vergleich mit gesunden Kontrollen einen stärkeren Grad an RNFL-Reduktion bei Patienten mit primär (PPMS) und sekundär progredientem (SPMS) Verlauf als bei der schubförmigen MS (RRMS). Das TMV war lediglich bei SPMS-Patienten signifikant verringert [53]. In ihrer Studie von 2008 untersuchten Henderson et al. die RNFL von Patienten mit progredienter MS-Form. Die Mittelwerte der RNFL-Dicke und des TMV von SPMS-Patienten waren im Vergleich zu gesunden Kontrollprobanden signifikant verringert. Aber bei dem Vergleich von PPMS-Patienten und Kontrollen erreichte lediglich die mittlere RNFL-Dicke im temporalen Quadranten Signifikanz. Allerdings waren unter Letzteren keine Patienten mit stattgehabter ON, unter den SPMS-Patienten hingegen schon [54].

1.3.2 Weiterentwicklung der OCT-Technologie: Feinauflösung zellulärer Schichten

In den Jahren 2002/2003 wurde die menschliche Netzhaut erstmals mittels *Spectral-Domain-OCT*-Geräten (SD-OCT) dargestellt. Durch ihre *ultrahigh-resolution* Funktion mit einem axialen Auflösungsvermögen von bis zu 3 µm eröffnete sich die Möglichkeit der detaillierten Darstellung des retinalen Feinbaus, wie sie an Qualität nur in einem histologischen Präparat zu finden wäre [55]. Wenige Jahre später kam diese neue OCT-Generation auch bei der Exploration der Netzhaut von MS-Patienten zum Einsatz. Von besonderem Interesse waren dabei die retinalen Schichten jenseits der RNFL, die sich aus technischen Gründen bis dahin der präzisen Untersuchung entzogen hatten. Davies et al. (2011) untersuchten das GCL-Volumen von MS-Patienten mit und ohne vorheriger ON. Analog zu den zahlreichen Beobachtungen bezüglich der RNFL und des TMV war auch das GCL-Volumen unabhängig von der ON-Anamnese im Vergleich zu gesunden Kontrollen signifikant verringert. Auch hier war das Ausmaß der Reduktion bei ON-Augen stärker ausgeprägt als bei NON-Augen [56].

Saidha et al. (2011) nutzten eine Segmentationssoftware, die die äußeren Begrenzungen der RNFL, IPL und OPL festlegte. Im nächsten Schritt wurde dann eine quantitative Analyse der zusammengefassten Schichten GCL und IPL (GCIP), INL und OPL, sowie der ONL durchgeführt. Hierbei zeigte sich bei allen MS-Patienten eine signifikante Reduktion der GCIP verglichen mit der Kontrollpopulation. Innerhalb der MS-Kohorte war die GCIP-Atrophie am stärksten bei den SPMS-Patienten ausgeprägt. Die Dicke der GCIP zeigte eine größere Assoziation zu klinischen Parametern der Sehschärfe als die RNFL-Dicke. Bei einem Anteil von 13,6% der MS-Patienten lag auch eine Ausdünnung der INL oder ONL vor [57].

Seigo et al. (2012) verglichen in ihrer Arbeit die Ergebnisse von manueller, Software-unterstützter und automatischer Segmentation von OCT-Scans, die mit zwei verschiedenen SD-OCT-Geräten durchgeführt wurden. Dabei stellten sie fest, dass die Resultate sowohl unabhängig von der verwendeten Segmentationstechnik, als auch von der Art des OCT-Geräts vergleichbar waren. Auch sie beobachteten neben der RNFL- und GCIP-Atrophie, eine Reduktion der ONL-Dicke bei MS-Patienten. In Übereinstimmung mit o.g. Studie korrelierte auch hier die GCIP-Dicke stärker mit den Ergebnissen der Niedrigkontrast-Sehtests [58].

In einer eigenen, multizentrisch angelegten Studie unterschieden wir die MS-Patienten nach Krankheitssubtyp (schubförmig, primär und sekundär progredient) und ON-Anamnese und untersuchten RNFL und TMV mittels SD-OCT. Dabei konnte bei allen

Subtypen unabhängig von einer positiven ON-Anamnese eine Reduktion der RNFL-Dicke und des TMV festgestellt werden, bei stattgehabter ON fiel die Reduktion – im Einklang mit Vorgängerstudien - stärker aus. Ferner ließen sich bei progressiven Verlaufsformen geringere RNFL- bzw. TMV-Werte im Vergleich zur schubförmigen MS beobachten [59].

In einer weiteren eigenen Arbeit untersuchten wir 95 MS-Patienten, differenziert nach Subtyp und ON-Anamnese, mittels SD-OCT und analysierten neben TMT und RNFL auch die einzelnen, weiter innen gelegenen Netzhautschichten durch manuelle Segmentierung. Unsere Ergebnisse bezüglich der TMT und RNFL waren in Einklang mit Vorgängerstudien. Somit konnten wir die Detektierbarkeit von axonaler Schädigung durch OCT bestätigen. Allerdings stellten wir auch Schäden in den tieferen Netzhautschichten, in denen die Zellkörper der retinalen Neurone liegen, fest. Diese betrafen die GCL und IPL, sowie die INL. Dies könnte neben der bekannten axonalen Schädigung auf einen direkten neuronalen Degenerationsprozess im Rahmen der MS-Pathologie hinweisen. Die INL-Veränderungen waren nur bei der primär progredienten MS nachweisbar. Hierbei könnte es sich um ein typspezifisches Degenerationsmuster handeln, welches für Diagnose und Verlaufsbeobachtung Relevanz hätte [60].

Insgesamt ist anhand der Ergebnisse dieser Studien zu erkennen, dass bei der MS neben der RNFL als Marker für axonale Degeneration auch die tieferen Netzhautschichten mit den Zellkörpern von Nervenzellen vom Degenerationsprozess betroffen sind. Dies könnte auf die Notwendigkeit einer genaueren Differenzierung zwischen Axon- und Neuron-Schädigung hinweisen. Außerdem zeichnet sich bei der Atrophie der Schichten eine Abhängigkeit von der Verlaufsform der MS ab, woraus typspezifische Muster abgeleitet werden könnten.

1.3.3 OCT bei anderen neurologischen Erkrankungen

Die Eignung der OCT als diagnostisches Hilfsmittel bei anderen neurodegenerativen Erkrankungen wie dem M. Parkinson oder dem M. Alzheimer wurde in zahlreichen Studien überprüft. In ihrer Arbeit von 2012 stellten Albrecht et al. fest, dass die RNFL-Dicke in keiner der jeweiligen Parkinson-Syndrome signifikant verringert war. Interessanterweise zeigten sich aber in den tieferen Netzhautschichten bei den unterschiedlichen Parkinson-Syndromen (typisch/atypisch) verschiedenartige Veränderungen (i.S. einer Ausdünnung oder Verdickung) einer oder mehrerer Schichten. Dies könnte auf typenspezifische Muster hinweisen. Daraus folgte die Arbeitsgruppe, dass die Beurteilung der retinalen Integrität mittels OCT relevante Hinweise für die häufig schwierige differentialdiagnostische Unterscheidung zwischen den einzelnen Parkinson-Syndromen liefern könnte. Somit könnte die jeweils geeignete Therapie frühzeitig eingeleitet und der klinische Verlauf günstiger beeinflusst werden [61].

Bei den dementiellen Erkrankungen wie dem M. Alzheimer als häufigste Form, aber auch bei anderen Arten wie der Parkinson-assoziierten oder Lewy-Körperchen-Demenz wurde eine signifikante Reduktion der RNFL- und/oder gesamtmakulären Dicke sowie des TMV festgestellt. Diese Parameter korrelierten invers mit den Ergebnissen von Demenztests wie dem *Mini Mental State Examination*, als dass geringere Mittelwerte mit schlechteren Testergebnissen verbunden waren [62, 63].

Die OCT könnte auch bei der bisweilen anspruchsvollen Differentialdiagnose von MS-ähnlichen, entzündlichen ZNS-Erkrankungen wie der Neuromyelitis optica (NMO) oder dem Susac-Syndrom hinweisende Informationen zur Verfügung stellen. Es scheint, dass entzündliche Episoden des Sehnervs im Rahmen der NMO größeren Schaden anrichten als bei der MS. Ratchford et al. beobachteten, dass die erste Sehnervenentzündung eines NMO-Patienten mit durchschnittlich etwa 24 μm mehr RNFL-Ausdünnung einhergeht als bei einem RRMS-Patienten. Dies macht sich folglich in einem signifikant schlechteren Sehvermögen nach der Remission bemerkbar. Damit kommen die Autoren zu dem Schluss, dass nach dem ersten ON-Ereignis eines Patienten ohne bekannte entzündliche ZNS-Erkrankung, die zu einer RNFL-Atrophie von $> 15 \mu\text{m}$ geführt hat, unbedingt eine NMO ausgeschlossen werden sollte [64]. Auch topographische Unterschiede bezüglich der RNFL-Reduktion werden als Unterscheidungskriterium vorgeschlagen, so scheint es bei der NMO eine Präferenz für den superioren und inferioren Quadranten zu geben [65]. Das Mikrozystische Makulaödem, welches deutlich häufiger bei der NMO vorkommt als bei der MS, kann ebenfalls zur Differenzierung herangezogen werden [66].

Das Susac-Syndrom ist zwar sehr viel seltener als die MS oder NMO, wird aber möglicherweise durch seine klinische Ähnlichkeit zur MS verwechselt. Da sich das Syndrom typischerweise als eine Trias aus Enzephalopathie, Schwerhörigkeit und Gesichtsfelddefekten manifestiert, erscheint eine Veränderung der Netzhautarchitektur möglich. Hier könnte die OCT eventuell vorhandene spezifische Muster aufdecken, die sich als differentialdiagnostisch hilfreich erweisen könnten. In einer Studie von Brandt et al. (2012) zeigte sich bei Patienten mit Susac-Syndrom, dass im Vergleich zu RRMS-Patienten und gesunden Kontrollpersonen die Durchschnittswerte der RNFL-Dicke und/oder des TMV signifikant verringert waren. Interessanterweise war diese Reduktion nicht gleichmäßig über den gesamten Aufnahmebereich verteilt, sondern betraf insbesondere den Makulabereich und zeigte hier eine sektorielle Spezifität. Bei MS-Patienten hingegen war die Ausdünnung eher gleichmäßig verteilt mit der bekannten temporalen Prädilektion [67]. Zu vergleichbaren Ergebnissen kamen Ringelstein et al. (2015), hier zeigte sich bei Patienten mit Susac-Syndrom eine Ausdünnung aller inneren Retinaschichten bis auf die ONL und die Schicht der Fotorezeptoren, womit sich ein deutlich differenzierbares Degenerationsmuster im Vergleich zu RRMS-Patienten darstellte und die Beteiligung von retinalen Blutgefäßen (vs. choroidalen) an der Krankheitspathologie verdeutlichte [68].

1.4 Fragestellung und Ziele der Arbeit

Die Diagnosestellung der ALS stützt sich im Wesentlichen auf die klinische Symptomatik und elektromyografische Befunde. Spezifische Biomarker oder Surrogatparameter für die Diagnostik bzw. Beurteilung der Neurodegeneration im Verlauf sind bis dato nicht identifiziert worden. Das bedeutet, dass die Erstdiagnose im Wesentlichen von der Expertise des behandelnden Arztes/der behandelnden Ärztin abhängig ist. Nicht selten kommt es deshalb zu einer Latenz zwischen den ersten (unspezifischen) Symptomen der ALS bis zur Erstdiagnose. Eine frühe Diagnosestellung ist jedoch für die Prognose entscheidend. Für eine derart infauste Erkrankung sind das schlechte Voraussetzungen, was die Optimierung der Therapieplanung anbelangt. Denn neben neuartigen Behandlungsmethoden sind auch spezifische Parameter für eine frühe Erstdiagnose und das Monitoring der Therapie notwendig, um eine Verbesserung der Prognose zu erreichen.

In Anbetracht der Tatsache, dass die Zellkörper von erstem und zweitem Motoneuron in der grauen Substanz von Gehirn und Rückenmark liegen, sind die degenerativen Pathomechanismen der ALS also vornehmlich im ZNS verortet. Somit erscheint die Erforschung zentralnervöser Strukturen als potentielle Surrogatparameter für die Krankheitsaktivität sinnvoll. Wenn man in diesem Zusammenhang bedenkt, dass die Netzhaut entwicklungsgeschichtlich ein nach peripher verlagerter Teil des Gehirns ist, kann diese Struktur zur Beurteilung zentralnervöser Krankheitsprozesse herangezogen werden. Da die Axone der retinalen Ganglienzellen erst nach Eintritt in den Sehnerven durch Oligodendrozyten myelinisiert werden, stellt die RNFL eine optimale Struktur zur gezielten Quantifizierung axonaler Degeneration dar.

In der neurologischen Forschung fand die OCT bereits Anwendung bei MS, M. Parkinson und M. Alzheimer. In prospektiven Studien wurde nachgewiesen, dass die RNFL und/oder andere OCT-Parameter von Patienten mit neurodegenerativen Erkrankungen signifikant reduziert bzw. verändert sind, im Vergleich zu gesunden Kontrollen [59-62]. Indem die Retina repräsentativ für das ZNS steht, verfügt die OCT also über die Potenz, das Ausmaß der allgemeinen Neurodegeneration zu bestimmen. Dies führt schließlich zu der Annahme, dass man durch Untersuchungstechniken, die eine Darstellung der Retinamikrostruktur ermöglichen, suffiziente Aussagen über Krankheitsaktivität und -progredienz der ALS erhalten könnte. Gegenstand dieser Arbeit war daher die Erforschung etwaiger neurodegenerativer Veränderungen der Netzhaut als Teil des visuellen Systems bei ALS. Falls es gelänge ein ALS-typisches retinales Degenerationsmuster zu entdecken, könnte dies zur Verbesserung von

Diagnosesicherung und Therapieplanung beitragen und schließlich den Krankheitsverlauf günstig beeinflussen.

Da die Erforschung genetischer Pathomechanismen bei ALS die Zulassung von neuroprotektiven Substanzen für die medikamentöse Behandlung der ALS potentiell ermöglicht, besteht auch der Bedarf nach einem Instrument zur Beurteilung des Nutzens und des Ausmaßes der Effektivität, wofür sich die OCT auch anbieten würde.

Daher ergeben sich folgende konkrete Fragestellungen:

- 1) Lässt sich bei Patienten mit amyotropher Lateralsklerose (ALS) eine retinale Veränderung nachweisen, im Vergleich mit gesunden Kontrollprobanden?
- 2) Sofern Veränderungen nachweisbar sein sollten: Betreffen diese Abweichungen nur die axonale Faserschicht, oder auch umschriebene zelluläre Schichten der Retina?

2 Methoden und Materialien

2.1 Probanden

Die ALS-Patienten wurden aus der Klinik für Neurologie des Universitätsklinikums Düsseldorf rekrutiert. Die Einwilligung zur Teilnahme an der Studie erfolgte nach Aufklärung im Sinne des „*Informed consent*“. Die Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf erteilte für die „Longitudinale Analyse hirnstruktureller Veränderungen mittels deformationsbasierter Morphometrie bei Patienten mit M. Parkinson, atypischem Parkinson-Syndrom und amyotropher Lateralsklerose“ ein positives Ethikvotum (Studiennummer: 2849).

Insgesamt wurden 24 Patienten in die Studie eingeschlossen, davon 20 mit definitiver und vier mit wahrscheinlicher ALS. Die Diagnosestellung erfolgte anhand der Awaji-Kriterien durch zwei klinisch erfahrene Neurologen. Bei allen Teilnehmern wurde im Vorfeld der OCT-Messungen eine umfangreiche ophthalmologische Untersuchung durchgeführt, anhand derer bestimmte Ausschlusskriterien definiert wurden:

- Hochgradige Myopie oder Hyperopie (≥ 5 Dioptrien)
- Glaukom
- Jede Form der Retinopathie

Ferner wurden Patienten mit möglicher ALS, sowie entzündlichen oder anderweitigen degenerativen neurologischen Erkrankungen von der Studie ausgeschlossen.

Als gesunde Kontrollen dienten Mitarbeiter der Klinik für Neurologie des Universitätsklinikums Düsseldorf, Angehörige der Patienten und andere Freiwillige, die ebenfalls nach erfolgter Aufklärung der Teilnahme an der Studie zustimmten. Der Ausschluss neurologischer oder ophthalmologischer Erkrankungen erfolgte anamnestisch. Insgesamt wurden 24 hinsichtlich Alter und Geschlecht passende gesunde Kontrollen in die Studie aufgenommen.

2.2 Optische Kohärenztomografie

Die Optische Kohärenztomografie (*engl. optical coherence tomography*, OCT) ist ein nicht-invasives Untersuchungsverfahren, das die Erhebung von Querschnittsbildern verschiedener Gewebe ermöglicht [69]. Sie wurde Anfang der 1990er Jahre entwickelt und erhielt zuerst Einzug in die Augenheilkunde, die immer noch Haupteinsatzgebiet ist. Die Darstellung des Augenhintergrundes und der Retinaschichten wird in der Diagnostik und Verlaufsbeurteilung von Netzhauterkrankungen und bei Glaukom verwendet [70]. Sie findet aber auch in der dermatologischen und kardiovaskulären Bildgebung Verwendung [71, 72]. Die Darstellung der Gewebe erfolgt *in-vivo* und in Echtzeit [73].

Das Prinzip der OCT (s. Abbildung 6) beruht auf der Detektion der Interferenz von reflektiertem Licht. Nahinfrarotlicht (~ 830 nm Wellenlänge) geringer Kohärenzlänge beleuchtet ein Interferometer, das den Lichtstrahl in einen Mess- und einen Referenzarm leitet. In Ersterem wird das untersuchte Objekt axial beleuchtet, in Letzterem ein Referenzspiegel. Verschiedene Gewebeanteile reflektieren das Licht mit unterschiedlicher zeitlicher Latenz. Die reflektierten Lichtanteile laufen im Interferometer wieder zusammen, wobei es zu einer Interferenz der Lichtwellen kommt. Bei der *Time-Domain-OCT* (TD-OCT) erfasst ein Detektor die Interferenzen, wenn die Laufzeiten von Mess- und Referenzarm nahezu übereinstimmen. Durch einen beweglichen Referenzspiegels kann so ein Tiefenprofil der untersuchten Struktur ermittelt werden (A-Scan). Um zwei- (B-Scan) und dreidimensionale (C-Scan) Bilder des Messobjekts zu erhalten, werden mehrere seitliche Längsscans durchgeführt [69]. Die neue Generation von OCT-Geräten bedient sich der *Fourier-/Spectral-Domain*-Technik, bei der das interferierende Licht zunächst in seine spektralen Komponenten zerlegt wird, um dann das Interferenzspektrum zu messen. Mithilfe der Fourier-Transformation wird daraus ein Tiefenprofil der Probe bestimmt. Dadurch, dass alle reflektierten Strahlen gleichzeitig erfasst werden, ermöglicht diese Methode eine beschleunigte Bilderzeugung (bis zu 40000 Scans/Sekunde, vgl. 400 Scans/Sekunde bei TD-OCT) und reduziert gleichzeitig Artefakte durch Augenbewegungen [74, 75]. OCT-Geräte älterer Generation bieten eine axiale Auflösung von 10-15 μm . Dank technischer Entwicklungen verfügen neueste OCT-Geräte über ein axiales Auflösungsvermögen von ca. 3 μm , was in etwa einem mikroskopischen Bild gleichkommt. D.h. der histologische Aufbau untersuchter Gewebe kann *in vivo* dargestellt und beurteilt werden, weshalb man in diesem Zusammenhang auch von der „optischen Biopsie“ spricht [73].

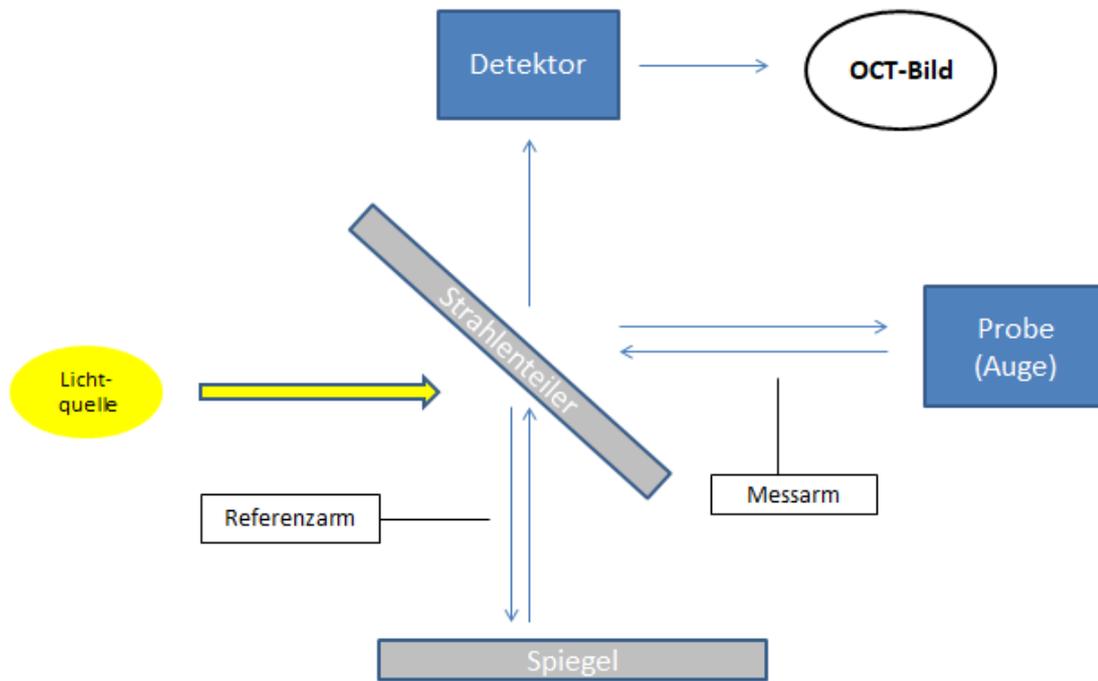


Abb. 6: Funktionsprinzip der Optischen Kohärenztomografie (modifiziert nach: Greenberg, B.J. et al. [76]).

2.3 OCT-Aufnahmen und Segmentation

Die Probanden dieser Studie wurden mit einem *Spectral-Domain*-OCT-Gerät der Firma Heidelberg Engineering (SPECTRALIS® OCT, Heidelberg Engineering GmbH) untersucht. Von beiden Augen wurden jeweils drei verschiedene Scans erhoben:

- 1) Paramakulär-volumetrische Scans zur Bestimmung der gesamtmakulären Netzhautdicke (*engl. total macular thickness, TMT*)
- 2) Peripapillär-zirkuläre Scans zur Beurteilung der RNFL
- 3) Transfoveal-horizontale Scans zur Evaluation der übrigen Retinaschichten

Scan 1) ist aufgeteilt in zentrale und periphere Quadranten (superior, inferior, temporal, nasal), sowie den zentralen Makulabereich. Der zirkuläre Messbereich wurde durch die Untersucher manuell auf die Fovea zentriert. Er wird aus insgesamt 25 horizontalen Scans ermittelt (s. Abbildung 7A).

Scan 2) wurde nach manueller Zentrierung auf die Mitte der Sehnervpapille durchgeführt und besteht aus 1024 A-Scans. Der Scandurchmesser beträgt 3,4 mm (s. Abbildung 7B).

Scan 3) verläuft durch die Mitte der Fovea centralis (s. Abbildung 7C).

Alle Aufnahmen wurden mithilfe des *Eye-Tracking-Systems TruTrack*® von Heidelberg Engineering bezüglich Augenbewegungen korrigiert. Die jeweiligen Scans wurden aus mehreren Einzelbildern gemittelt (*Automatic Real Time, ART*), was ebenfalls zu weniger Artefakten führt. Die volumetrischen Scans wurden aus 10 Aufnahmen gemittelt. Die peripapillären und transfovealen Scans haben eine *high-resolution* Bildqualität und wurden aus 100 Aufnahmen ermittelt. Alle Scans wurden nachträglich auf ausreichende Bildqualität (>20 dB), korrekte Zentrierung und Segmentation begutachtet. Nur diejenigen Scans mit ausreichender Qualität wurden in die Analysen aufgenommen. Die Messungen der Makula- und RNFL-Dicke wurden automatisch durch die *Heidelberg Eye Explorer*® Software des OCT-Gerätes durchgeführt. Durch o.g. manuelle (Nach)Zentrierung wurden die Ergebnisse optimiert. Die Bestimmung der Dicke der übrigen Retinaschichten erfolgte auf zwei verschiedene Arten:

1. automatische Bestimmung der jeweiligen durchschnittlichen Gesamtschichtdicke durch die Hersteller-Software *Eye Explorer*®,
2. manuell (s. Abbildung 7D), indem die Messlinien zwischen die jeweiligen Schichtgrenzen verschoben wurden. In jeder Schicht wurde die breiteste Stelle nasal und temporal der *Fovea centralis* bestimmt (*point estimate*). Die ONL stellte eine

Ausnahme dar, da sie in den meisten Fällen nur ein zentral gelegenes Maximum besaß, das in die nachfolgenden Analysen eingegangen ist. Da sich die GCL optisch nicht von der inneren plexiformen Schicht (IPL) abgrenzen ließ, wurden sie zu einer Schicht (GCIP) zusammengefasst.

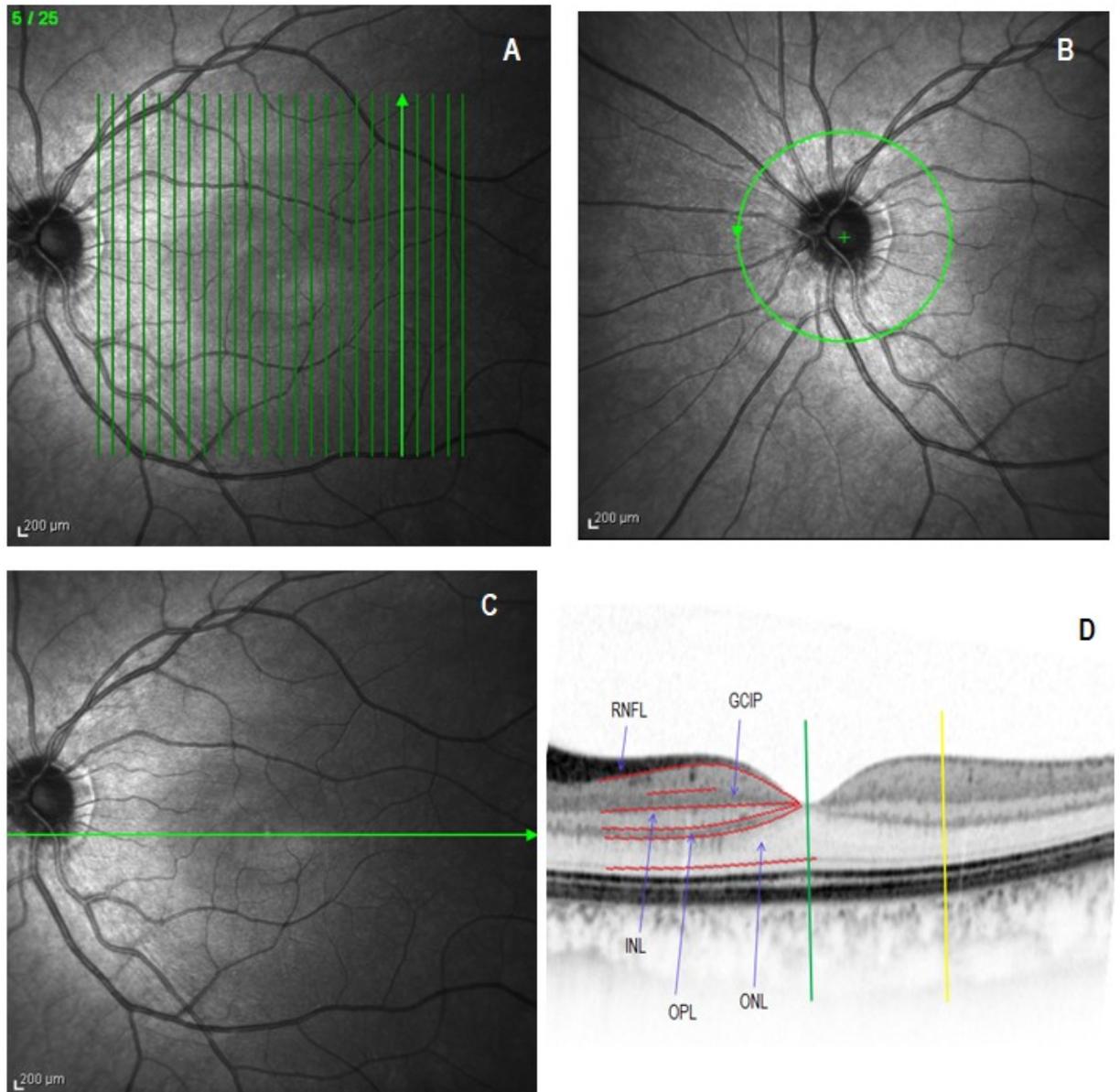


Abb. 7: Durchgeführte OCT-Aufnahmen am Augenhintergrund und Prinzip der manuellen Segmentation (*point estimate*-Methode): **A)** Der volumetrische Scan umgibt die Makula sowie angrenzende Areale und ermittelt TMT und TMV, **B)** Der zirkuläre Scan um die Papille herum erlaubt die Beurteilung der RNFL, **C)** Der horizontale Scan zur Analyse der übrigen Netzhautschichten läuft durch die Mitte der *Fovea centralis*, **D)** Manuelle Segmentation der Netzhautschichten: Die Messpunkte wurden manuell entlang der Schichtgrenzen (rote Linien) verschoben. Anschließend wurde das nasale und temporale Maximum der jeweiligen Schicht durch Verschieben des Messbalkens (gelbe Linie) bestimmt. Nur im Falle der ONL wurde das zentral gelegene Maximum bestimmt (grüne Linie; modifiziert nach Ringelstein et al. [77])

2.4 Statistische Analyse

Die Datenaufbereitung erfolgte mittels Microsoft Excel (*Microsoft Corporation*, Redmond, Washington). Die statistische Bewertung und graphische Darstellung der Ergebnisse wurde mit SPSS Statistics Version 20 (*IBM*, Armonk, New York) und Prism 5.0 (*GraphPad*, San Diego, Kalifornien) durchgeführt. Unterschiede zwischen Patienten und Kontrollen wurden, korrigiert hinsichtlich Alter und Geschlecht, im Rahmen von GEE-Modellen (*Generalized Estimation Equation*) getestet, wobei Messvariablen aus beiden Augen eines Patienten in die Analyse aufgenommen wurden bei gleichzeitiger Korrektur für Korrelationen zwischen den beiden statistisch abhängigen Augen der Einzelpersonen. Aufgrund des explorativen Charakters der Arbeit wurde auf eine statistische Korrektur für multiples Testen verzichtet.

Anhand des *Kolmogorov-Smirnov*-Tests ermittelten wird die Verteilung der erhobenen Daten und wendeten entsprechend dem Skalenniveau *Pearson*- oder *Spearman*-Korrelationsanalysen an. Mittels partiell-bivariater Korrelationsanalyse, korrigiert für Alter und Geschlecht, untersuchten wir den Zusammenhang zwischen OCT-Parametern und klinischen Parametern (modifizierte Rankin-Skala), sowie der Krankheitsdauer, exemplarisch durchgeführt für die linken Augen eines jeden Probanden.

Von den erhobenen Daten sind die Mittelwerte und jeweiligen Standardabweichungen dargestellt. Bei den statistischen Tests wurden p-Werte unterhalb 0,05 als signifikant bewertet.

3 Ergebnisse

3.1 Deskriptive Statistik

Demographie der untersuchten Probanden

Unter den ALS-Patienten waren von 24 Probanden 19 männlich (79%), in der Kontrollgruppe waren von 17 von 24 Teilnehmern (71%) männlichen Geschlechts, somit ist das Geschlechterverhältnis gut vergleichbar. Das durchschnittliche Alter war in beiden Gruppen mit 61,5 bzw. 61,6 Jahren nahezu identisch. Die Mehrheit der Patienten hatte eine definitive ALS (83%), der Rest eine wahrscheinliche. Die mittlere Dauer zwischen Krankheitsmanifestation und OCT-Messung betrug 22,3 Monate. Der Anteil an ALS-Patienten, die zum Zeitpunkt der OCT-Untersuchung mit Riluzol behandelt wurden, betrug 29%. Die Dauer der Riluzol-Behandlung vor OCT-Messung betrug im Mittel 17 Monate (s. Tabelle 2) [77].

Tabelle 2: Deskriptive Statistik der demographischen und klinischen Daten der Studienteilnehmer (modifiziert nach Ringelstein et al. [77])

		ALS-Patienten	Gesunde Kontrollen
Probanden	Anzahl	24	24
Diagnose einer ALS	- definitiv (%)	20 (83)	/
	- wahrscheinlich (%)	4 (17)	/
Geschlecht	- männlich (%)	19 (79%)	17 (71%)
	- weiblich (%)	5 (21%)	7 (29%)
Alter in Jahren	MW	61,5	61,6
	SD	13,0	15
	R	34-82	33-84
Dauer zw. Krankheitsmanifestation und OCT-Messung in Monaten	MW	22,3	/
	SD	22,57	/
	R	3-120	/
Patienten mit Riluzol-Behandlung während OCT-Messung	Anzahl (%)	7 (29)	/
Dauer der Riluzol-Behandlung vor OCT-Messung in Monaten	MW	17	/
	R	1-55	/

MW: Mittelwert, **SD:** Standardabweichung (*engl. standard deviation*), **R:** Spannweite (*engl. range*)

3.2 Vergleich der Ergebnisse für die Makula- und RNFL-Dicke

Sowohl die TMT, als auch die RNFL waren bei ALS-Patienten signifikant verringert im Vergleich zu gesunden Kontrollen. Die RNFL zeigte mit einer durchschnittlichen Dicke von 93,23 μm (gesunde Kontrollen: 99,98 μm ; $p = 0,031$, GEE) jedoch eine ausgeprägtere Ausdünnung von 6,7% (s. Abbildung 8 und Tabelle 3). Die mittlere Makuladicke betrug 309,83 μm und war verglichen mit der Kontrollgruppe (318,24 μm ; $p = 0,037$, GEE) um 2,6% reduziert. (s. Abbildung 8 und Tabelle 3) [77].

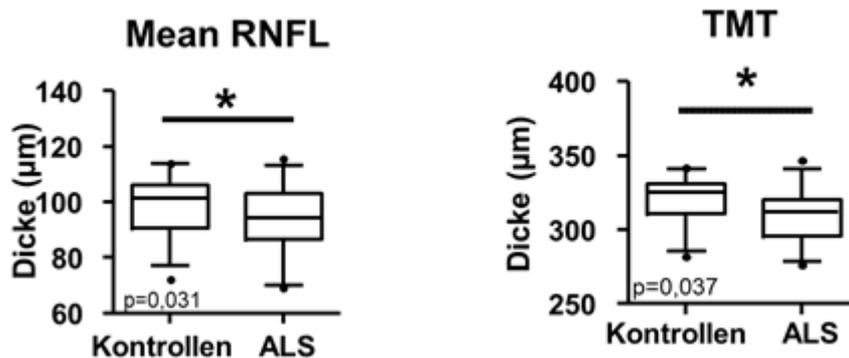


Abb. 8: Kastengrafiken (Box-Plots) zur Darstellung von RNFL-Dicke und TMT von ALS-Patienten im Vergleich zu gesunden Kontrollen: Die mittlere Dicke von RNFL (*Mean RNFL*) und die TMT wurden automatisch durch die OCT-Hersteller-Software ermittelt. Die Boxen enthalten 50% der ermittelten Werte. Die obere Antenne (*Whisker*) zeigt das 95%-Perzentil, die untere Antenne das 5%-Perzentil an. Der Median ist durch eine horizontale Linie innerhalb der Boxen gekennzeichnet. Ausreißer sind als Punkt über bzw. unter den Antennen dargestellt. Signifikante Unterschiede sind mit einem Stern (*) gekennzeichnet ($p < 0,05$, *Generalized Estimation Equation* (GEE); modifiziert nach Ringelstein et al. [77])

Tabelle 3: Mittelwerte der einzelnen OCT-Parameter, ermittelt durch automatische bzw. manuelle Segmentation (modifiziert nach Ringelstein et al. [77])

OCT-Parameter	Mittelwerte der jeweiligen Schichtdicken in μm (SD)	
	ALS-Patienten	Gesunde Kontrollen
TMT	309,83 (17,29)	318,24 (15,65)
Mean RNFL	93,23 (10,67)	99,98 (10,89)
Mean GCIP	66,15 (6,57)	66,47 (6,62)
Mean INL	24,72 (3,22)	27,87 (4,34)
Mean OPL	29,50 (3,58)	30,89 (4,47)
Mean ONL	61,57 (7,53)	60,50 (7,82)
P.E. GCIP	97,13 (8,83)	99,98 (9,21)
P.E. INL	37,42 (4,64)	43,29 (4,22)
P.E. OPL	41,25 (5,98)	35,52 (7,00)
P.E. ONL	107,67 (10,61)	105,91 (12,68)

SD: Standardabweichung (*engl. standard deviation*), **Mean:** steht für die automatisch durch die Herstellersoftware ermittelte mittlere Schichtdicke, **P.E.:** *point estimate*-Methode

3.3 Vergleich der Ergebnisse der inneren Netzhautschichten

Unter den weiter innen gelegenen Netzhautschichten zeigte bei ALS-Patienten die INL eine signifikante Reduktion im Vergleich zu gesunden Kontrollen, und zwar bei beiden Segmentationsverfahren (s. Abbildung 9): Bei der automatischen Bestimmung der mittleren Schichtdicke (durch die Hersteller-Software) ergab sich eine Verringerung um 11,3% (24,72 μm , gesunde Kontrollen: 27,87 μm ; $p = 0,001$, GEE), bei der manuellen *point estimate*-Methode eine Reduktion um 13,6% (37,42 μm , gesunde Kontrollen: 43,29; $p < 0,001$, GEE; s. Tabelle 3).

Interessanterweise ergab sich bei ALS-Patienten eine signifikant dickere OPL, wenn diese mittels *point estimate*-Methode bestimmt wurde (41,25 μm , gesunde Kontrollen: 35,52 μm ; $p = 0,001$, GEE). Der Vergleich der übrigen retinalen Schichtdicken ergab keine signifikanten Unterschiede zwischen ALS-Patienten und gesunder Vergleichskohorte (s. Abbildung 9 und Tabelle 3) [77].

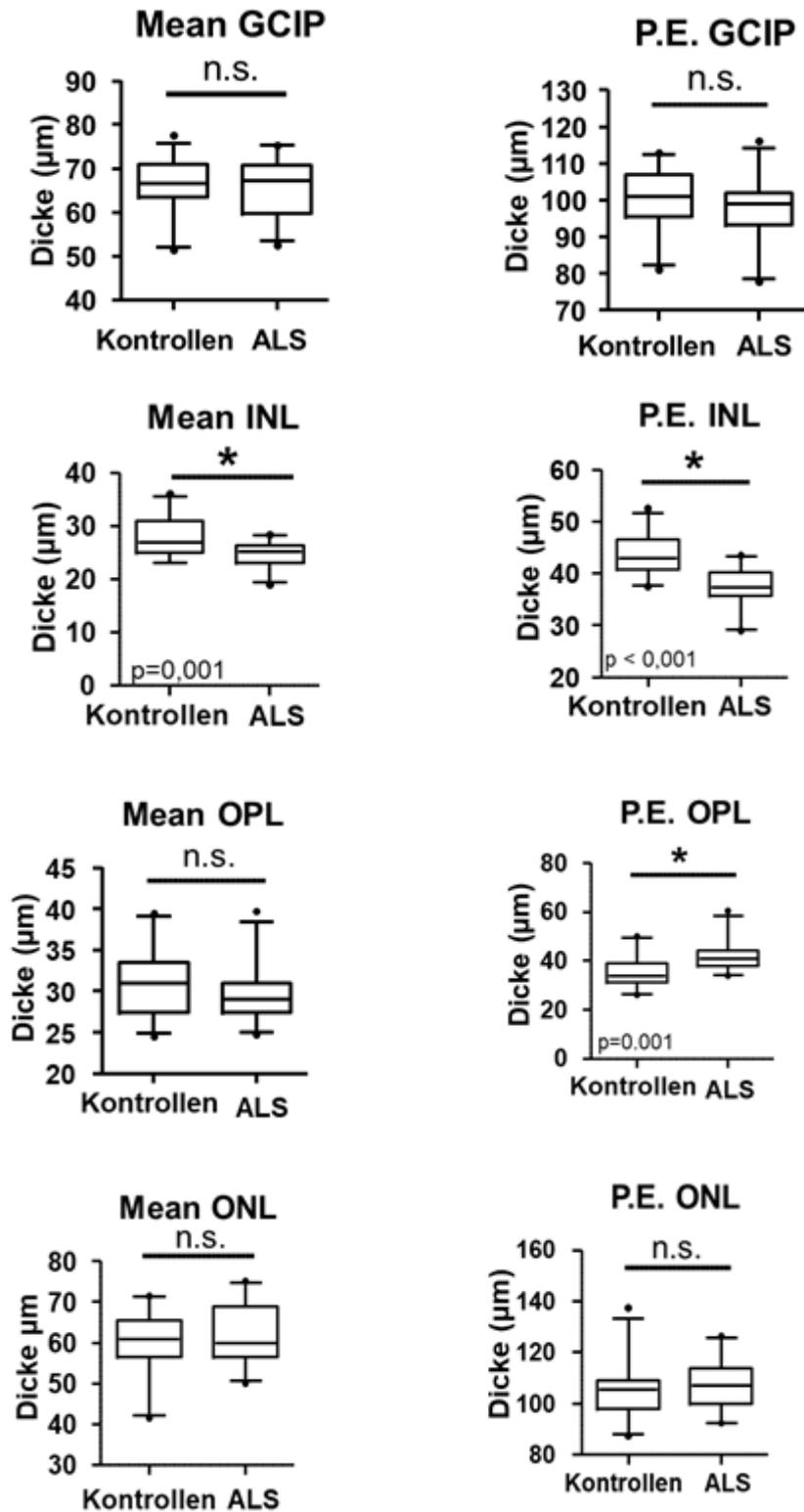


Abb. 9: Kastengrafiken (Box-Plots) zur Darstellung der Dicke der inneren Netzhautschichtdicken, ermittelt durch zwei verschiedene Methoden, von ALS-Patienten im Vergleich zu gesunden Kontrollen: Linksseitig sind die durch die OCT-Software ermittelten mittleren Schichtdicken (Mean), rechtsseitig die durch manuelle Segmentierung (point estimate-Methode; P.E.) erhobenen Schichtdicken dargestellt. Die Boxen enthalten 50% der ermittelten Werte. Die obere Antenne (Whisker) zeigt das 95%-Perzentil, die untere Antenne das 5%-Perzentil an. Der Median ist durch eine horizontale Linie innerhalb der Boxen gekennzeichnet. Ausreißer sind als Punkt über bzw. unter den Antennen dargestellt. Signifikante Unterschiede sind mit einem Stern (*) gekennzeichnet ($p < 0,05$, Generalized Estimation Equation (GEE); modifiziert nach Ringelstein et al. [77])

3.4 Korrelation mit klinischen Parametern

Um einen möglichen Zusammenhang zwischen retinalen Veränderungen und klinischem Bild zu untersuchen, führten wir eine Korrelationsanalyse zwischen Krankheitsschwere (quantifiziert mittels modifizierter Rankin-Skala) bzw. -dauer und OCT-Parametern durch, exemplarisch durchgeführt für das linke Auge eines jeden Probanden. Eine partiell-bivariate Korrelationsanalyse, korrigiert für Alter und Geschlecht, ergab keinen Zusammenhang zwischen modifizierter Rankin-Skala bzw. Krankheitsdauer und Dicke von Makula, RNFL und INL (bei Letzterer unabhängig von der Segmentationsmethode) [77].

3.5 Korrelation zwischen den beiden Segmentationsmethoden

Die automatische Bestimmung der jeweiligen durchschnittlichen Dicke von Makula und Retinaschichten korrelierte gut mit der manuellen *point estimate*-Methode (Pearson-Korrelation, $p < 0,01$). Sehr gute Korrelationswerte ergaben sich dabei für die GCIP (Pearson $r = 0,83$, $p < 0,0001$), die INL (Pearson $r = 0,87$, $p < 0,0001$) und die OPL (Pearson $r = 0,89$, $p < 0,0001$). Für die ONL, die bei der *point estimate*-Methode nur ein Maximum hatte, wurde eine ausreichende Korrelation (Pearson $r = 0,67$, $p < 0,0017$) ermittelt [77].

3.6 Inter-Rater Reliabilität für die manuelle Segmentationsmethode

Um die Reliabilität des manuellen Segmentationsverfahrens (*point estimate*-Methode) zu überprüfen, wurden die entsprechenden OCT-Scans durch zwei verschiedene Untersucher ausgewertet und die Ergebnisse mittels *interclass correlation coefficient* (ICC) verglichen. Hierbei ergab sich für INL, OPL und ONL eine gute ($ICC \geq 0,5$) und für die GCIP eine sehr gute ($ICC \geq 0,9$) Inter-Rater-Reliabilität [77].

4 Diskussion

In der vorliegenden Arbeit konnte eine retinale Beteiligung bei der ALS nachgewiesen werden, die sich in einer Reduktion der gesamtmakulären Netzhautdicke sowie einer Ausdünnung der retinalen Nervenfasern (RNFL) und der INL zeigt. Unsere Erkenntnisse basieren auf der Untersuchung der Retina-Mikrostruktur von ALS-Patienten und gesunden Kontrollen mittels hochauflösender SD-OCT-Technik. Somit konnten wir einen weiteren strukturellen Hinweis für die Beteiligung des visuellen Systems im Rahmen offensichtlich weitergehender neurodegenerativer Prozesse bei der ALS präsentieren.

Hinsichtlich vergleichbarer Studien ist an aller erster Stelle die Arbeit von Roth et al. aufzuführen: 2013, d.h. zu einem Zeitpunkt, als die hier vorgestellte Studie durchgeführt wurde, publizierten sie die Ergebnisse ihrer Studie, in der sie die Netzhaut von ALS-Patienten nach OCT-Messung mittels manueller Segmentation der einzelnen Schichten quantitativ analysierten. Bemerkenswerterweise – und damit im Gegensatz zu unseren Ergebnissen – fanden sie keine signifikanten Veränderungen der RNFL und der innen gelegenen Netzhautschichten von ALS-Patienten im Vergleich zu gesunden Kontrollen. Die OCT-Parameter korrelierten auch nicht mit der Schwere der Erkrankung, quantifiziert mittels *Amyotrophic Lateral Sclerosis Functional Rating Scale–Revised* (ALSFRRS-R). Sie folgerten, dass die bei neurologischen Erkrankungen wie z.B. der Multiplen Sklerose erwiesene Aussagekraft der OCT hinsichtlich der Erfassung der Neurodegeneration nicht auf die Beurteilung der ALS ausgeweitet werden kann, obwohl auch sie auf die Hinweise aus der Literatur für eine visuelle Beteiligung bei der ALS verwiesen [78]. Dagegen konnten wir in unserer eigenen Studie – durchgeführt mit einer vergleichbaren Methodik – bei Patienten mit definitiver oder wahrscheinlicher ALS retinale Veränderungen in verschiedenen Aspekten detektieren. Hinsichtlich der möglichen Ursachen der diskrepanten Ergebnisse zu Roth und Kollegen ist vor allem die Patientenauswahl zu erörtern. In der Arbeit von Roth et al. wurden neben Patienten mit definitiver und wahrscheinlicher ALS, auch solche mit möglicher bzw. laborunterstützter, möglicher ALS eingeschlossen [78], d.h. Patienten mit früheren Stadien dieser Erkrankung. Damit steht im Raum, dass bei früheren Stadien der ALS noch keine Beteiligung des visuellen Systems vorliegt. Zudem erfolgte die OCT-Messung durch Roth und Kollegen mit einem unterschiedlichen OCT-Gerät der älteren Generation (Gerätetyp CIRRUS® der Firma Carl Zeiss Meditec AG bei Roth et al. [78] vs. Gerätetyp SPECTRALIS® der Firma Heidelberg Engineering GmbH in unserer Studie), so dass auch ein rein technischer Aspekt die Vergleichbarkeit

erschwert. Dabei ist noch erwähnenswert, dass bei der OCT-Messung durch Roth und Kollegen jeweils ein peripapillärer und ein paramakulärer Scan aufgenommen wurden. Aus Letzterem wurden die Werte der einzelnen Netzhaut-Schichtdicken mithilfe einer Segmentations-Software ermittelt [78]. Ein separater transfoveal-horizontaler Scan (wie in unserer Arbeit) wurde dafür nicht durchgeführt. Hinsichtlich der Segmentation der einzelnen retinalen Schichten erfolgte der Darstellung in der Publikation von Roth et al. nach der Bestimmung der jeweiligen Schichtdicken ausschließlich durch die Software des verwendeten OCT-Gerätes [78], ohne eine gesonderte manuelle Nachkorrektur (wie in unserer Studie). Ferner wurden nicht nur GCL und IPL zu einer Schicht zusammengefasst, sondern auch INL und OPL, sowie ONL und die Schicht der Innen- und Außensegmente der Fotorezeptoren [78]. Es ist anzunehmen, dass dies aufgrund der Bildauflösung bzw. schwieriger optischer Unterscheidbarkeit der jeweiligen Schichten erfolgte. Hingegen zeigte die Korrelation der Segmentationsergebnisse beider Untersucher in dieser Arbeit eine sehr gute bis gute Inter-Rater Reliabilität für die jeweiligen Schichten. Insbesondere die gute Inter-Rater Reliabilität für die INL macht eine Beteiligung im Rahmen der ALS wahrscheinlicher.

Schließlich konnten mehrere kürzlich erschienene Arbeiten die in unserer Studie beschriebenen retinalen Veränderungen bei der ALS bestätigen: 2016 fanden Hübers et al. eine Verringerung der gesamten retinalen Dicke, sowie der einzelnen Netzhaut-Schichten bei ALS im Vergleich zu gesunden Kontrollen, wobei die Ausdünnung der RNFL und INL signifikant war. In einem weiteren Schritt konnten sie eine Korrelation zwischen reduzierter RNFL-Dicke und reduzierter Intaktheit des kortikospinalen Traktes (gemessen mittels MRT) feststellen. In diese Arbeit wurden, vergleichbar mit unserer o.g. Studie – lediglich Patienten mit definitiver und wahrscheinlicher ALS eingeschlossen [79]. Das legt die Mutmaßung nahe, dass auch Roth et al. bei Erhöhung der Diagnosesicherheit ihres Probandenkollektivs auch signifikante Alterationen der OCT-Parameter hätten detektieren können.

In einer weiteren aktuellen Studie aus dem Jahr 2017 mit methodologischen Gemeinsamkeiten zu unserer Studie (Verwendung eines hochauflösenden SD-OCT-Gerätes desselben Herstellers, sorgfältiger Ausschluss ophthalmologischer Krankheiten bei den ALS-Patienten) wurde eine RNFL-Ausdünnung bei den ALS-Patienten im Vergleich zu repräsentativen, ophthalmologischen Normwerten, die in die Herstellersoftware des verwendeten OCT-Gerätes integriert waren, festgestellt [80].

Die Reduktion der RNFL-Dicke bei ALS-Patienten in unserer Studie zeigt die axonale Schädigung an, die im Rahmen der ALS-Pathologie bereits bekannt ist. Hingegen scheint die GCL, in der sich die Perikarya der Ganglienzellen befinden und deren Nervenfasern die RNFL bilden, nicht verringert. Da wir aufgrund unsicherer optischer

Differenzierbarkeit GCL und IPL als GCIP zusammengefasst und segmentiert haben, könnte es aber auch sein, dass eine etwaige Ausdünnung der GCL durch diese Fusionierung mit der IPL kaschiert wurde. In der IPL liegen die Synapsen zwischen Ganglien-, Bipolar- und amakrinen Zellen. Wenn nun die Ganglienzellen durch Degeneration verringert bzw. funktionell beeinträchtigt wären, dann wären kompensatorische neuronale Prozesse wie beispielsweise vermehrte Synapsenbildung denkbar, was zu einer Verdickung der IPL bzw. der GCIP führen würde.

Die angrenzende INL, in der sich die Perikarya von Bipolar-, Horizontal- und amakrinen Zellen befinden, hingegen ist signifikant ausgedünnt. Wenn dabei auch gleichzeitig die GCL ausgedünnt und dies optisch zu differenzieren wäre, dann könnte dies für eine sog. retrograde, transsynaptische Degeneration, ausgehend vom visuellen Kortex, sprechen, d.h. einen sekundären Degenerationsprozess der Netzhautschichten. Hinweise für eine Affektion des visuellen Kortex bei ALS sind vorhanden [14]. Bei Patienten mit langjähriger Hemianopsie sowohl infolge eines ischämischen Ereignisses im Bereich der posterioren Sehbahnanteile, als auch kongenitaler Art, sind signifikante atrophische Veränderungen der RNFL bzw. der retinalen Ganglienzellen beschrieben worden [81]. Hier bleibt die technische Entwicklung der OCT abzuwarten, um bei gegebener Möglichkeit der besseren optischen Unterscheidung von GCL und IPL diese Hypothese zu überprüfen.

Die Ausdünnung der INL könnte aber auch auf einen für die ALS spezifischen, primären retinalen Degenerationsmechanismus hinweisen. Dass die INL bei progressiven Krankheitsverläufen und langer Krankheitsdauer betroffen ist, haben mehrere Studien bei der MS gezeigt. In einer eigenen Studie mit MS-Patienten zeigte sich bei einem vergleichbaren methodologischen Studiendesign (SD-OCT-Technik, manuelle Segmentation der inneren Retinaschichten) eine Ausdünnung der INL nur bei MS-Patienten mit primär progressivem Verlauf, wohingegen RNFL-Dicke und TMT bei allen MS-Subtypen reduziert waren [60]. Dies wurde in einer repräsentativen Studie von Green et al. (2010) bestätigt: die histopathologische Beurteilung der Netzhaut und des Gehirns von 82 MS-Patienten zeigte beträchtliche qualitative Defekte auch in der INL von 48% der MS-Patienten. Diese INL-Atrophie betraf v.a. Patienten mit langjährigem und/oder progressivem Krankheitsverlauf [82].

Ein erwähnenswertes Detail in hiesiger Arbeit waren erhöhte OPL-Werte bei ALS-Patienten, wenn die Segmentation mittels *point-estimate*-Methode erfolgte. In der OPL werden - analog zur IPL- die Synapsen zwischen Photorezeptor-, Bipolar- und Horizontalzellen ausgebildet. In o.g. eigener Studie zur MS (2012) war bei Korrelation der OCT-Parameter mit dem klinischen MS-Parameter *Expanded Disability Status Scale* (EDSS) eine dickere OPL mit einem höherem EDSS assoziiert [60]. D.h. man

könnte auch hier – analog zur IPL- hinter der Zunahme der Schichtdicke einen kompensatorischen Pathomechanismus vermuten.

Zusammenfassend konnten wir in dieser Arbeit nicht nur die bereits durch vorangegangene Studien dargelegte Beteiligung des visuellen Systems bei ALS bestätigen, sondern Hinweise für ein Muster der retinalen Degeneration detektieren.

Es lässt sich festhalten, dass die OCT wegweisende Informationen zum besseren Verständnis des bisher in Gänze noch nicht verstandenen Krankheitsbildes der ALS liefert. Entscheidend für die bessere Beurteilung der Rolle der OCT bei ALS sind die Detektion der Veränderungen der OCT-Parameter im Laufe der Zeit bzw. mit Krankheitsprogression. Dies ist bei der infausten Prognose der ALS oft nicht über einen mehrjährigen Zeitraum hinweg möglich. Es ist jedoch zu erwarten, dass durch Forschung auf dem Gebiet der Genetik und Anpassung der Diagnosekriterien, eine frühere Diagnosestellung besser möglich sein wird. Jedoch ist nicht nur der zeitliche Verlaufsaspekt, sondern auch der quantitative Einsatz der OCT bei ALS von Bedeutung: Es sind also weitere – vornehmlich prospektive – Studien auf diesem Gebiet notwendig, um daraus allgemeingültige Aussagen oder Parameter für die klinische Praxis abzuleiten.

5 Fazit

Die OCT hat sich in der Neurologie zu einem vielversprechenden Instrument entwickelt, welches bei vielen neurodegenerativen Erkrankungen von der Diagnosestellung bis zur Überwachung des Nutzens neuroprotektiver/-regenerativer Therapieansätze Einsatzpotential zeigt. Der Einsatz und die Darstellung des Nutzens für die Verlaufsbeurteilung erfolgte bisher primär für die MS. Der neuronale bzw. axonale Schaden im Rahmen der ALS, der in der Elektromyografie funktionell, jedoch nicht strukturell dargestellt werden kann, könnte möglicherweise durch entsprechende OCT-Surrogatparameter erfasst werden.

Aus methodisch-praktischer Sicht überzeugen das hohe Ausmaß an Reproduzierbarkeit, Kosteneffektivität und vergleichsweise schnelle Durchführbarkeit. Die fehlende Invasivität ist besonders aus Patientensicht zu begrüßen. Nichtsdestoweniger ist es – im neurologischen Kontext – auch eine neue Methode. Deshalb sind neben den augenscheinlichen Vorteilen auch mögliche Fehlerquellen zu erkennen und bei der Verwendung zu beachten, um zu qualitativ möglichst belastbaren Aussagen zu kommen. So kann beispielsweise die fehlende Vergleichbarkeit von Scans der älteren TD-OCT-Geräte mit den neueren SD-OCT-Geräten zu Fehlinterpretationen führen. Hinsichtlich der Anwendung bei der ALS zeigen aktuelle Studien eine multisystemische Pathologie der ALS und legen den Einsatz von weiteren Werkzeugen für die Diagnose und Verlaufsbeurteilung dieser Erkrankung, über die primär klinischen und etablierten neurophysiologischen Methoden hinaus, nahe. Hier könnte auch die OCT einen Platz im klinischen Alltag finden und helfen, den Verlauf der Neurodegeneration ergänzend zu evaluieren.

Literaturverzeichnis

1. Hacke, W., Poeck, K., und Wick, W., *Neurologie*. 14. Auflage, 2016: © Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, p. 819-824.
2. Schünke, M., Schulte, E., und Schumacher, U., *Prometheus - LernAtlas der Anatomie: Kopf und Neuroanatomie*. 1. Auflage, 2006: © Thieme-Verlag, Stuttgart, p.338.
3. Masuhr, K.F., Masuhr, F., und Neumann, M., *Duale Reihe Neurologie*. 7. Auflage, 2013: © Thieme-Verlag, Stuttgart, p. 223-226.
4. Witzel, S. and Ludolph, A., *Amyotrophe Lateralsklerose früh erkennen und behandeln*. DNP-Der Neurologe & Psychiater, 2019. **20**(2): p. 56-68.
5. Kiernan, M.C., Vucic, S., Cheah, B.C., et al., *Amyotrophic lateral sclerosis*. The Lancet, 2011. **377**(9769): p. 942-955.
6. Brettschneider, J., Del Tredici, K., Toledo, J.B., et al., *Stages of pTDP-43 pathology in amyotrophic lateral sclerosis*. Annals of neurology, 2013. **74**(1): p. 20-38.
7. Byrne, S., Elamin, M., Bede, P., et al., *Cognitive and clinical characteristics of patients with amyotrophic lateral sclerosis carrying a C9orf72 repeat expansion: a population-based cohort study*. The Lancet Neurology, 2012. **11**(3): p. 232-240.
8. Hübers, A., Ludolph, A.C., Rosenbohm, A., et al., *Amyotrophe Lateralsklerose*. Der Nervenarzt, 2016. **87**(2): p. 179-188.
9. Weis, J., Katona, I., Müller-Newen, G., et al., *Small-fiber neuropathy in patients with ALS*. Neurology, 2011. **76**(23): p. 2024-2029.
10. Münte, T.F., Tröger, M.C., Nusser, I., et al., *Alteration of early components of the visual evoked potential in amyotrophic lateral sclerosis*. Journal of Neurology, 1998. **245**(4): p. 206-210.
11. Heinze, H.J., Mangun, G.R., Burchert, W., et al., *Combined spatial and temporal imaging of brain activity during visual selective attention in humans*. Nature, 1994. **372**(6506): p. 543-546.
12. Kushner, P., Stephenson, D., and Wright, S., *Reactive astrogliosis is widespread in the subcortical white matter of amyotrophic lateral sclerosis brain*. Journal of Neuropathology & Experimental Neurology, 1991. **50**(3): p. 263-277.
13. Nagy, D., Kato, T., and Kushner, P., *Reactive astrocytes are widespread in the cortical gray matter of amyotrophic lateral sclerosis*. Journal of neuroscience research, 1994. **38**(3): p. 336-347.
14. Bede, P., Bokde, A., Elamin, M., et al., *Grey matter correlates of clinical variables in amyotrophic lateral sclerosis (ALS): a neuroimaging study of ALS motor phenotype heterogeneity and cortical focality*. J Neurol Neurosurg Psychiatry, 2013. **84**(7): p. 766-773.
15. Sharma, R., Hicks, S., Berna, C.M., et al., *Oculomotor dysfunction in amyotrophic lateral sclerosis: a comprehensive review*. Arch Neurol, 2011. **68**(7): p. 857-861.
16. Okamoto, K., Hirai, S., Amari, M., et al., *Oculomotor nuclear pathology in amyotrophic lateral sclerosis*. Acta Neuropathol, 1993. **85**(5): p. 458-462.
17. Haenggeli, C. and Kato, A.C., *Differential vulnerability of cranial motoneurons in mouse models with motor neuron degeneration*. Neurosci Lett, 2002. **335**(1): p. 39-43.
18. Whitehouse, P.J., Wamsley, J.K., Zarbin, M.A., et al., *Neurotransmitter receptors in amyotrophic lateral sclerosis: possible relationship to sparing of eye movements*. Ann Neurol, 1985. **17**(5): p. 518.
19. Moss, H.E., McCluskey, L., Elman, L., et al., *Cross-sectional evaluation of clinical neuro-ophthalmic abnormalities in an amyotrophic lateral sclerosis population*. Journal of the neurological sciences, 2012. **314**(1-2): p. 97-101.
20. Liu, Z., Wang, H., Fan, D., et al., *Comparison of optical coherence tomography findings and visual field changes in patients with primary open-angle glaucoma and amyotrophic lateral sclerosis*. J Clin Neurosci, 2018. **48**: p. 233-237.
21. Keenan, T.D., Goldacre, R., and Goldacre, M.J., *Associations between primary open angle glaucoma, Alzheimer's disease and vascular dementia: record linkage study*. British Journal of Ophthalmology, 2015. **99**(4): p. 524-527.
22. Eraslan, M., Balci, S.Y., Cerman, E., et al., *Comparison of optical coherence tomography findings in patients with primary open-angle glaucoma and Parkinson disease*. Journal of glaucoma, 2016. **25**(7): p. e639-e646.

23. Maruyama, H., Morino, H., Ito, H., et al., *Mutations of optineurin in amyotrophic lateral sclerosis*. Nature, 2010. **465**(7295): p. 223.
24. Cirulli, E.T., Lasseigne, B.N., Petrovski, S., et al., *Exome sequencing in amyotrophic lateral sclerosis identifies risk genes and pathways*. Science, 2015. **347**(6229): p. 1436-1441.
25. Rezaie, T., Child, A., Hitchings, R., et al., *Adult-onset primary open-angle glaucoma caused by mutations in optineurin*. Science, 2002. **295**(5557): p. 1077-1079.
26. Morton, S., Hesson, L., Pegg, M., et al., *Enhanced binding of TBK1 by an optineurin mutant that causes a familial form of primary open angle glaucoma*. FEBS letters, 2008. **582**(6): p. 997-1002.
27. Brooks, B.R., Miller, R.G., Swash, M., et al., *El Escorial revisited: revised criteria for the diagnosis of amyotrophic lateral sclerosis*. Amyotrophic lateral sclerosis and other motor neuron disorders, 2000. **1**(5): p. 293-299.
28. Costa, J., Swash, M., and de Carvalho, M., *Awaji Criteria for the Diagnosis of Amyotrophic Lateral Sclerosis: A Systematic Review*. *Awaji Criteria for Amyotrophic Lateral Sclerosis*. JAMA Neurology, 2012. **69**(11): p. 1410-1416.
29. Bensimon, G., Lacomblez, L., and Meininger, V., *A Controlled Trial of Riluzole in Amyotrophic Lateral Sclerosis*. New England Journal of Medicine, 1994. **330**(9): p. 585-591.
30. Wills, A.-M., Hubbard, J., Macklin, E.A., et al., *Hypercaloric enteral nutrition in patients with amyotrophic lateral sclerosis: a randomised, double-blind, placebo-controlled phase 2 trial*. The Lancet, 2014. **383**(9934): p. 2065-2072.
31. Dupuis, L., Pradat, P.-F., Ludolph, A.C., et al., *Energy metabolism in amyotrophic lateral sclerosis*. The Lancet Neurology, 2011. **10**(1): p. 75-82.
32. Ludolph, A.C., Brettschneider, J., and Weishaupt, J.H., *Amyotrophic lateral sclerosis*. Current opinion in neurology, 2012. **25**(5): p. 530-535.
33. Braak, H., Brettschneider, J., Ludolph, A.C., et al., *Amyotrophic lateral sclerosis—a model of corticofugal axonal spread*. Nature Reviews Neurology, 2013. **9**(12): p. 708.
34. Moore, K.L., Persaud, T.V.N., and Torchia, M.G., *Embryologie: Entwicklungsstadien - Frühentwicklung - Organogenese - Klinik*. 6. Auflage, 2013: © Elsevier GmbH, Urban & Fischer, München, p. 511-515.
35. Zilles, K. und Rehkämper, G., *Funktionelle Neuroanatomie : Lehrbuch und Atlas*. 3. Auflage, 1998: Springer-Verlag, p. 139-145.
36. Welsch, U., *Lehrbuch Histologie*. 3. Auflage, 2010: © Elsevier GmbH, Urban & Fischer, München, p. 506-513.
37. Moore, K.L., Persaud, T.V.N., and Torchia, M.G., *The Developing Human: Clinically Orientated Embryology*. 9th ed., 2013: © Saunders, imprint of Elsevier Inc., p. 430.
38. Lang, G., *Augenheilkunde*. 5. Auflage, 2014: © Thieme-Verlag, Stuttgart, p. 277-279.
39. Parisi, V., Manni, G., Spadaro, M., et al., *Correlation between morphological and functional retinal impairment in multiple sclerosis patients*. Invest Ophthalmol Vis Sci, 1999. **40**(11): p. 2520-2527.
40. Trip, S.A., Schlottmann, P.G., Jones, S.J., et al., *Retinal nerve fiber layer axonal loss and visual dysfunction in optic neuritis*. Ann Neurol, 2005. **58**(3): p. 383-391.
41. Petzold, A., de Boer, J.F., Schippling, S., et al., *Optical coherence tomography in multiple sclerosis: a systematic review and meta-analysis*. The Lancet Neurology, 2010. **9**(9): p. 921-932.
42. Gordon-Lipkin, E., Chodkowski, B., Reich, D.S., et al., *Retinal nerve fiber layer is associated with brain atrophy in multiple sclerosis*. Neurology, 2007. **69**(16): p. 1603-1609.
43. Siger, M., Dziegielewska, K., Jasek, L., et al., *Optical coherence tomography in multiple sclerosis: thickness of the retinal nerve fiber layer as a potential measure of axonal loss and brain atrophy*. J Neurol, 2008. **255**(10): p. 1555-1560.
44. Grazioli, E., Zivadinov, R., Weinstock-Guttman, B., et al., *Retinal nerve fiber layer thickness is associated with brain MRI outcomes in multiple sclerosis*. J Neurol Sci, 2008. **268**(1-2): p. 12-17.
45. Frohman, E.M., Dwyer, M.G., Frohman, T., et al., *Relationship of optic nerve and brain conventional and non-conventional MRI measures and retinal nerve fiber layer thickness, as assessed by OCT and GDx: a pilot study*. J Neurol Sci, 2009. **282**(1-2): p. 96-105.

46. Klistorner, A., Arvind, H., Nguyen, T., et al., *Multifocal VEP and OCT in optic neuritis: a topographical study of the structure-function relationship*. Doc Ophthalmol, 2009. **118**(2): p. 129-137.
47. Fisher, J.B., Jacobs, D.A., Markowitz, C.E., et al., *Relation of visual function to retinal nerve fiber layer thickness in multiple sclerosis*. Ophthalmology, 2006. **113**(2): p. 324-332.
48. Talman, L.S., Bisker, E.R., Sackel, D.J., et al., *Longitudinal study of vision and retinal nerve fiber layer thickness in multiple sclerosis*. Ann Neurol, 2010. **67**(6): p. 749-760.
49. Costello, F., Coupland, S., Hodge, W., et al., *Quantifying axonal loss after optic neuritis with optical coherence tomography*. Ann Neurol, 2006. **59**(6): p. 963-969.
50. Kurtzke, J.F., *Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: an expanded disability status scale (EDSS)*. Neurology, 1983. **33**(11): p. 1444-1452.
51. Albrecht, P., Frohlich, R., Hartung, H.P., et al., *Optical coherence tomography measures axonal loss in multiple sclerosis independently of optic neuritis*. J Neurol, 2007. **254**(11): p. 1595-1596.
52. Toledo, J., Sepulcre, J., Salinas-Alaman, A., et al., *Retinal nerve fiber layer atrophy is associated with physical and cognitive disability in multiple sclerosis*. Mult Scler, 2008. **14**(7): p. 906-912.
53. Pulicken, M., Gordon-Lipkin, E., Balcer, L.J., et al., *Optical coherence tomography and disease subtype in multiple sclerosis*. Neurology, 2007. **69**(22): p. 2085-2092.
54. Henderson, A.P., Trip, S.A., Schlottmann, P.G., et al., *An investigation of the retinal nerve fibre layer in progressive multiple sclerosis using optical coherence tomography*. Brain, 2008. **131**(Pt 1): p. 277-287.
55. Nassif, N., Cense, B., Park, B.H., et al., *In vivo human retinal imaging by ultrahigh-speed spectral domain optical coherence tomography*. Opt Lett, 2004. **29**(5): p. 480-482.
56. Davies, E.C., Galetta, K.M., Sackel, D.J., et al., *Retinal ganglion cell layer volumetric assessment by spectral-domain optical coherence tomography in multiple sclerosis: application of a high-precision manual estimation technique*. J Neuroophthalmol, 2011. **31**(3): p. 260-264.
57. Saidha, S., Syc, S.B., Durbin, M.K., et al., *Visual dysfunction in multiple sclerosis correlates better with optical coherence tomography derived estimates of macular ganglion cell layer thickness than peripapillary retinal nerve fiber layer thickness*. Mult Scler, 2011. **17**(12): p. 1449-1463.
58. Seigo, M.A., Sotirchos, E.S., Newsome, S., et al., *In vivo assessment of retinal neuronal layers in multiple sclerosis with manual and automated optical coherence tomography segmentation techniques*. J Neurol, 2012. **259**(10): p. 2119-2130.
59. Oberwahrenbrock, T., Schippling, S., Ringelstein, M., et al., *Retinal damage in multiple sclerosis disease subtypes measured by high-resolution optical coherence tomography*. Mult Scler Int, 2012. **2012**: 530305.
60. Albrecht, P., Ringelstein, M., Muller, A.K., et al., *Degeneration of retinal layers in multiple sclerosis subtypes quantified by optical coherence tomography*. Mult Scler, 2012. **18**(10): p. 1422-1429.
61. Albrecht, P., Muller, A.K., Sudmeyer, M., et al., *Optical coherence tomography in parkinsonian syndromes*. PLoS One, 2012. **7**(4): p. e34891.
62. Iseri, P.K., Altinas, O., Tokay, T., et al., *Relationship between cognitive impairment and retinal morphological and visual functional abnormalities in Alzheimer disease*. J Neuroophthalmol, 2006. **26**(1): p. 18-24.
63. Moreno-Ramos, T., Benito-Leon, J., Villarejo, A., et al., *Retinal nerve fiber layer thinning in dementia associated with Parkinson's disease, dementia with Lewy bodies, and Alzheimer's disease*. J Alzheimers Dis, 2013. **34**(3): p. 659-664.
64. Ratchford, J.N., Quigg, M.E., Conger, A., et al., *Optical coherence tomography helps differentiate neuromyelitis optica and MS optic neuropathies*. Neurology, 2009. **73**(4): p. 302-308.
65. Naismith, R.T., Tutlam, N.T., Xu, J., et al., *Optical coherence tomography differs in neuromyelitis optica compared with multiple sclerosis*. Neurology, 2009. **72**(12): p. 1077-1082.
66. Bennett, J.L., de Seze, J., Lana-Peixoto, M., et al., *Neuromyelitis optica and multiple sclerosis: Seeing differences through optical coherence tomography*. Multiple Sclerosis Journal, 2015. **21**(6): p. 678-688.

67. Brandt, A.U., Zimmermann, H., Kaufhold, F., et al., *Patterns of retinal damage facilitate differential diagnosis between Susac syndrome and MS*. PLoS One, 2012. **7**(6): p. e38741.
68. Ringelstein, M., Albrecht, P., Kleffner, I., et al., *Retinal pathology in Susac syndrome detected by spectral-domain optical coherence tomography*. Neurology, 2015. **85**(7): p. 610-618.
69. Huang, D., Swanson, E., Lin, C., et al., *Optical coherence tomography*. Science, 1991. **254**(5035): p. 1178-1181.
70. van Velthoven, M.E., Faber, D.J., Verbraak, F.D., et al., *Recent developments in optical coherence tomography for imaging the retina*. Prog Retin Eye Res, 2007. **26**(1): p. 57-77.
71. Sattler, E., Kastle, R., and Welzel, J., *Optical coherence tomography in dermatology*. J Biomed Opt, 2013. **18**(6): p. 061224.
72. Yonetsu, T., Bouma, B.E., Kato, K., et al., *Optical coherence tomography- 15 years in cardiology*. Circ J, 2013. **77**(8): p. 1933-1940.
73. Drexler, W. and Fujimoto, J.G., *State-of-the-art retinal optical coherence tomography*. Prog Retin Eye Res, 2008. **27**(1): p. 45-88.
74. Frohman, E.M., Fujimoto, J.G., Frohman, T.C., et al., *Optical coherence tomography: a window into the mechanisms of multiple sclerosis*. Nat Clin Pract Neurol, 2008. **4**(12): p. 664-675.
75. Ziemssen, T. and Ziemssen, F., *Perspectives of an innovative ophthalmological technology: optical coherence tomography (OCT)--what should be of interest to the neurologist?* Clin Neurol Neurosurg, 2013. **115**: p. S55-S59.
76. Greenberg, B.M. and Frohman, E., *Optical coherence tomography as a potential readout in clinical trials*. Ther Adv Neurol Disord, 2010. **3**(3): p. 153-160.
77. Ringelstein, M., Albrecht, P., Südmeyer, M., et al., *Subtle retinal pathology in amyotrophic lateral sclerosis*. Annals of Clinical and Translational Neurology, 2014. **1**(4): p. 290-297.
78. Roth, N.M., Saidha, S., Zimmermann, H., et al., *Optical coherence tomography does not support optic nerve involvement in amyotrophic lateral sclerosis*. European Journal of Neurology, 2013. **20**(8): p. 1170-1176.
79. Hübers, A., Müller, H.P., Dreyhaupt, J., et al., *Retinal involvement in amyotrophic lateral sclerosis: a study with optical coherence tomography and diffusion tensor imaging*. Journal of Neural Transmission, 2016. **123**(3): p. 281-287.
80. Mukherjee, N., McBurney-Lin, S., Kuo, A., et al., *Retinal thinning in amyotrophic lateral sclerosis patients without ophthalmic disease*. PloS one, 2017. **12**(9): p. e0185242-e0185242.
81. Jindahra, P., Petrie, A., and Plant, G.T., *Retrograde trans-synaptic retinal ganglion cell loss identified by optical coherence tomography*. Brain, 2009. **132**(Pt 3): p. 628-634.
82. Green, A.J., McQuaid, S., Hauser, S.L., et al., *Ocular pathology in multiple sclerosis: retinal atrophy and inflammation irrespective of disease duration*. Brain, 2010. **133**(Pt 6): p. 1591-1601.

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Schematische Darstellung eines Rückenmark-Querschnitts	1
Abbildung 2: Vorderhirnanlage eines 28 Tage alten Embryos (schematisch).	11
Abbildung 3: Weiterentwicklung von Augen- und Linsenanlage (schematisch).	12
Abbildung 4: Histologischer Aufbau der Netzhaut:.....	12
Abbildung 5: Schematische Darstellung der Netzhautarchitektur und der neuronalen Verschaltung.	13
Abbildung 6: Funktionsprinzip der Optischen Kohärenztomografie.....	27
Abbildung 7: Durchgeführte OCT-Aufnahmen am Augenhintergrund und Prinzip der manuellen Segmentation (<i>point estimate</i> -Methode).....	29
Abbildung 8: Kastengrafiken (<i>Box-Plots</i>) zur Darstellung von RNFL-Dicke und TMT von ALS-Patienten im Vergleich zu gesunden Kontrollen.....	33
Abbildung 9: Kastengrafiken (<i>Box-Plots</i>) zur Darstellung der Dicke der inneren Netzhautschichtdicken, ermittelt durch zwei verschiedene Methoden, von ALS-Patienten im Vergleich zu gesunden Kontrollen	35

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Klinische Symptome und Zeichen der ALS	3
Tabelle 2: Deskriptive Statistik der demographischen und klinischen Daten der Studienteilnehmer	32
Tabelle 3: Mittelwerte der einzelnen OCT-Parameter, ermittelt durch automatische bzw. manuelle Segmentation.....	34

Danksagung

Ich danke meinem Doktorvater Herrn Univ.-Prof. Orhan Aktas für das Ermöglichen dieser Arbeit, für die vielen Informationen und Ratschläge auf diesem - für mich völlig neuen - Gebiet des wissenschaftlichen Arbeitens, sowie für sein unermüdliches Motivieren.

Ich danke Herrn PD Dr. med. Marius Ringelstein als meinem Co-Betreuer für die fortwährende Unterstützung, die geduldigen Erklärungen, sowie für die unkomplizierte Kontaktaufnahme und raschen Rückmeldungen.

Ich danke ebenso Herrn PD Dr. med. Philipp Albrecht für seine Ratschläge und Erklärungen.

Ich bedanke mich von ganzem Herzen bei meiner Familie für die unerschöpfliche Unterstützung, Motivation u. Bestärkung, die mir - gerade in schwierigen Zeiten - geholfen hat, weiter an das Gelingen dieser Arbeit zu glauben und unbeirrt weiterzumachen.