

Aus der Klinik für Neurologie
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. Sven G. Meuth

**Longitudinale Untersuchung
der neurodegenerativen Veränderungen der Retina
bei Amyotropher Lateralsklerose**

Dissertation

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

vorgelegt von
Stefanie Teufel
2023

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

gez.:

Dekan: Prof. Dr. med. Nikolaj Klöcker

Erstgutachter: Prof. Dr. med. Philipp Albrecht

Zweitgutachter: Prof. Dr. med. Rainer Guthoff

Widmung

Diese Arbeit widme ich meinen Eltern Michael und Frauke Teufel, ohne die meine universitäre Laufbahn nicht möglich gewesen wäre. Durch sie habe ich gelernt, meine Ziele stets im Auge zu behalten und diese durch den Glauben an mich selbst zu erreichen.

Das in dieser Arbeit gewählte generische Maskulinum bezieht sich zugleich auf die männliche, die weibliche und andere Geschlechtsidentitäten. Zur besseren Lesbarkeit wird auf die Verwendung männlicher und weiblicher Sprachformen verzichtet. Alle Geschlechtsidentitäten werden ausdrücklich mitgemeint, soweit die Aussagen dies erfordern.

Publikationsstrategie:

Eine Veröffentlichung von Teilen dieser Arbeit in *Frontiers* ist in Vorbereitung.
Ich werde dabei die geteilte Erstautorenschaft innehaben.

Zusammenfassung

Bei der Amyotrophen Lateralsklerose (ALS) handelt es sich um eine Erkrankung des motorischen Nervensystems, die durch die rasche, progrediente Degeneration des ersten und zweiten Motoneurons gekennzeichnet ist. Entwicklungstechnisch stellt die Netzhaut (*lat. Retina*) den periphersten Anteil des Zentralen Nervensystems dar, sodass die Untersuchung retinaler Strukturen eine Beurteilung der Krankheitsaktivität und des Verlaufes neurodegenerativer Erkrankungen ermöglicht.

Mit Hilfe der optischen Kohärenztomographie (OCT) können hochaufgelöste Querschnittsbilder der Retina erstellt werden, aus denen sich die Dicke und das Volumen der gesamten Netzhaut sowie der einzelnen Schichten ermitteln lassen. Nach Ausschluss ophthalmologischer und neurologischer Komorbiditäten untersuchten wir in einer retrospektiven, longitudinalen Studie bei 22 ALS-Patienten die Dicke der Netzhautschichten in makulären Volumen-Scans sowie einem peripapillären Ringscan mithilfe eines hochauflösenden *Spectral-Domain-OCT*-Gerätes in einem Beobachtungszeitraum von bis zu 16 Monaten im Vergleich zu 21 gesunden Kontrollprobanden. Zusätzlich analysierten wir für die ALS-Patienten, ob Korrelationen der retinalen Schichtdicken im Querschnitt und/oder Zusammenhänge zwischen deren Veränderungen im longitudinalen Verlauf mit klinischen Scores (modifizierte Rankin-Skala (mRankin), Barthel-Index, *ALS-Functional Rating Scale* (ALS-FRS)) bestehen.

Der Gruppenvergleich der retinalen Schichtdicken zum Zeitpunkt der *Baseline*-Untersuchung ergab für die ALS-Patienten signifikant reduzierte Schichtdickenwerte für die peripapilläre retinale Nervenfaserschicht (pRNFL, *engl. peripapillary retinal nerve fibre layer*), die Gesamtdicke im Bereich der *Macula lutea* (TMT, *engl. total macular thickness*), die Ganglienzellschicht (GCL, *engl. ganglion cell layer*) - mit der inneren plexiformen Schicht (IPL, *engl. inner plexiform layer*) zur GCIPL zusammengefasst - und die innere Körnerschicht (INL, *engl. inner nuclear layer*). Zum Zeitpunkt der *Follow-up*-Untersuchung konnten bei den Patienten für die pRNFL und die GCIPL ebenfalls signifikant dünnere Schichtdickenwerte festgestellt werden. Die longitudinale Analyse der durchschnittlichen Veränderungen der einzelnen Schichten zeigte für die ALS-Patienten für keine der Netzhautschichten eine signifikante Abnahme der Dicke über den Beobachtungszeitraum. Im Gegensatz dazu konnten bei den gesunden Kontrollen signifikante Schichtdickenreduktionen für die GCIPL und die INL im Verlauf detektiert werden. Der Vergleich der durchschnittlichen Schichtdickenveränderungen in μm pro Jahr zwischen den untersuchten Gruppen brachte keine signifikanten Ergebnisse hervor. Hinsichtlich der Abhängigkeiten der retinalen Schichtdicken mit den klinischen Scores zeigten sich in der Querschnittsanalyse zum Zeitpunkt der *Baseline*-Untersuchung jeweils signifikant negative Korrelationen der GCIPL und der INL mit der modifizierten Rankin-Skala. In einer longitudinalen Analyse korrelierte die annualisierte Änderungsrate der mRNFL signifikant positiv mit der ALS-FRS. Dies unterstützt die Hypothese, dass eine zunehmende Krankheits- und Behinderungsprogression mit einer Abnahme einzelner Schichtdicken einhergeht. Aufgrund der geringen Inzidenz und der raschen Progredienz der Erkrankung war es dennoch eine Herausforderung, eine repräsentative Anzahl an Patienten über einen längeren Zeitraum zu untersuchen. Zukünftige größere, longitudinale Studien mit einer höheren Fallzahl und/oder einem längeren Beobachtungszeitraum könnten möglicherweise Korrelationen zwischen retinalen Veränderungen und dem klinischen Verlauf bei ALS-Patienten ermöglichen.

Summary

Amyotrophic lateral sclerosis (ALS) is a disease of the motor nervous system that is characterized by rapid, progressive degeneration of the first and second motor neuron. Developmentally, the retina represents the most peripheral part of the central nervous system, so that the examination of retinal structures allows an assessment of disease activity and progression of neurodegenerative diseases.

Optical coherence tomography (OCT) can be used to obtain high-resolution cross-sectional images of the retina, from which the thickness and volume of the entire retina and its individual layers can be determined. After exclusion of ophthalmologic and neurologic comorbidities, we investigated the thickness of retinal layers in macular volume scans as well as a peripapillary ring scan using a high-resolution spectral-domain OCT device in 22 ALS patients during an observation period of up to 16 months compared with 21 healthy controls in a retrospective, longitudinal study. In addition, we analyzed the correlations between retinal layer thicknesses in cross-section and/or their changes in the longitudinal course and clinical scores (modified Rankin Scale (mRankin), Barthel-Index, ALS-Functional Rating Scale (ALS-FRS)) for the ALS patients.

Group comparison of retinal layer thicknesses at baseline revealed significantly reduced values for the ALS patients for the peripapillary retinal nerve fibre layer (pRNFL), the total macular thickness (TMT), the ganglion cell layer (GCL) - combined with the inner plexiform layer (IPL) to form GCIPL - and the inner nuclear layer (INL). At the time of follow-up, significantly thinner layer thicknesses for the pRNFL and GCIPL were also observed in the ALS patients. Longitudinal analysis of the changes in each layer showed no significant decrease in thickness over the observation period for any of the retinal layers for the ALS patients. In contrast, significant reductions for the GCIPL and INL were detected longitudinally in the healthy controls. Comparison of the thickness changes in μm per year between the studied groups did not yield significant results. Regarding the correlations between retinal layer thicknesses and clinical scores, a cross-sectional analysis at baseline showed significant negative correlations between the GCIPL and INL and the modified Rankin Scale. In a longitudinal analysis, a significant positive correlation between the annualized change rate of the mRNFL and the ALS-FRS was found. This supports the hypothesis that disease and disability progression is associated with a decrease in individual layer thicknesses. Nevertheless, due to the low incidence and rapid progression of the disease, it was challenging to study a representative number of patients over a longer period of time. Future larger, longitudinal studies with a higher number of cases and/or a longer observation period might allow correlations between retinal changes and clinical progression in ALS patients.

Abkürzungsverzeichnis

Abb.:	Abbildung
ADL:	<i>engl. Activities of Daily Living</i> , Aktivitäten des alltäglichen Lebens
ALS:	Amyotrophe Lateralsklerose
ALS-FRS:	<i>engl. ALS-Functional Rating Scale</i>
BI:	Barthel-Index
BMI:	<i>engl. Body-Mass-Index</i>
C9ORF72:	<i>engl. chromosome 9 open reading frame 72</i>
DGN:	Deutsche Gesellschaft für Neurologie
ETDRS:	<i>engl. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study</i> , Studie zur frühzeitigen Behandlung der diabetischen Retinopathie
FUS/TLS:	<i>engl. fused in sarcoma/translocated in liposarcoma gene</i>
GABA:	<i>engl. gamma-Aminobutyric acid</i> , γ -Aminobuttersäure
GCIPL:	GCL und IPL zusammengefasst
GCL:	<i>engl. ganglion cell layer</i> , Ganglienzellschicht
GEE:	<i>engl. Generalized Estimation Equation</i> , Verallgemeinerte Schätzungs- gleichungen
INL:	<i>engl. inner nuclear layer</i> , innere Körnerschicht
IPL:	<i>engl. inner plexiform layer</i> , innere plexiforme Schicht
KIF5A:	<i>engl. kinesin family member 5A gene</i>
LMN:	<i>engl. lower motor neuron</i> , zweites Motoneuron
MN:	Motoneuron
mRankin:	modifizierte Rankin-Skala
mRNFL:	<i>engl. macular retinal nerve fibre layer</i> , makuläre retinale Nervenfaserschicht
MS:	Multiple Sklerose
OCT:	<i>engl. optical coherence tomography</i> , optische Kohärenztomographie
ONL:	<i>engl. outer nuclear layer</i> , äußere Körnerschicht
OPL:	<i>engl. outer plexiform layer</i> , äußere plexiforme Schicht

OSCAR-IB:	(O) <i>engl. obvious problems</i> , offensichtliche Probleme
	(S) <i>engl. poor signal strength</i> , schlechte Signalstärke
	(C) <i>engl. centration of scan</i> , Zentrierung des Scans
	(A) <i>engl. algorithm failure</i> , Algorithmusfehler
	(R) <i>engl. retinal pathology other than MS related</i> , Netzhautpathologie, die nicht auf MS zurückzuführen ist
	(I) <i>engl. illumination</i> , Beleuchtung
	(B) <i>engl. beam placement</i> , Strahlenplatzierung
pRNFL:	<i>engl. peripapillary retinal nerve fibre layer</i> , peripapilläre retinale Nervenfaserschicht
RPE:	<i>engl. retinal pigment epithelium</i> , retinales Pigmentepithel
SD-OCT:	<i>engl. Spectral-Domain-OCT</i>
SOD1:	Kupfer-Zink-Superoxiddismutase-Gen
TBK1:	<i>engl. TANK-binding kinase 1</i>
TD-OCT:	<i>engl. Time-Domain-OCT</i>
TDP-43:	<i>engl. transactive response DNA binding protein 43</i>
TMT:	<i>engl. total macular thickness</i> , Gesamtdicke im Bereich der <i>Macula lutea</i>
UMN:	<i>engl. upper motor neuron</i> , erstes Motoneuron
ZNS:	Zentrales Nervensystem

Inhaltsverzeichnis

Zusammenfassung	I
Summary	II
Abkürzungsverzeichnis	III
1. Einleitung	1
1.1 Amyotrophe Lateralsklerose	1
1.1.1 Definition und Klassifikation	1
1.1.2 Epidemiologie.....	3
1.1.3 Ätiologie	4
1.1.4 Diagnostik	5
1.1.5 Klinische <i>Scores</i>	6
1.1.6 Therapie	7
1.1.7 Prognose.....	8
1.2 Die Netzhaut.....	9
1.3 Die optische Kohärenztomographie.....	11
1.3.1 Funktionsprinzip	11
1.3.2 OCT in der Neurologie – aktueller Stand.....	13
1.4 Fragestellung und Ziele der Arbeit.....	14
2. Material und Methoden	15
2.1 Probanden	15
2.2 OCT-Aufnahmen und Segmentation.....	16
2.3 Statistische Analyse.....	18
3. Ergebnisse	20
3.1 Demographie der untersuchten Probanden.....	20
3.2 Vergleich der Ergebnisse der einzelnen Netzhautschichten	22
3.3 Deskriptive Statistik der klinischen <i>Scores</i>	30
3.4 Korrelation der OCT-Parameter mit den klinischen <i>Scores</i>	30

4. Diskussion	38
4.1 Beantwortung der Fragestellung	38
4.2 Interpretation der Ergebnisse	39
4.2.1 Vergleich der retinalen Schichtdicken im Querschnitt	39
4.2.2 Vergleich der retinalen Schichtdicken im longitudinalen Verlauf	41
4.2.3 Zusammenhang der Schichtdickenwerte und der klinischen Scores	44
5. Fazit	47
6. Literaturverzeichnis	48

1. Einleitung

1.1 Amyotrophe Lateralsklerose

1.1.1 Definition und Klassifikation

Bei der Amyotrophen Lateralsklerose (ALS) handelt es sich um eine rasch progrediente, degenerative Erkrankung des motorischen Nervensystems, welche durch einen fortschreitenden Untergang des ersten und zweiten Motoneurons gekennzeichnet ist [1]. Dabei ist das erste Motoneuron, welches im Englischen auch als *upper motor neuron* (UMN) bezeichnet wird, im Motorcortex lokalisiert. Als Bestandteil des motorischen Zentrums der Großhirnrinde sind die oberen Motoneurone somit an der Steuerung der Willkürmotorik beteiligt, indem sie ihre Axone in der sog. Pyramidenbahn (*Tractus pyramidalis*) zu den Vorderhornzellen des Rückenmarks oder den Hirnnervenkernen entsenden. Unterschieden werden die drei Anteile „[...] *Fibrae corticonucleares bulbi* für die Hirnnervkerne, *Fibrae corticospinales* für das Rückenmark und *Fibrae corticoreticulares* [für die] *Formatio reticularis*“ [2]. Aus dem *Telencephalon* stammend ziehen alle drei Bahnen durch die *Capsula interna* „[...] weiter in den Hirnstamm bzw. das Rückenmark“ [2]. Die *Fibrae corticospinales* kreuzen in der sog. Pyramidenbahnkreuzung (*Decussatio pyramidum*) in der unteren *Medulla oblongata* zu 80 % auf die Gegenseite. „Die Fasern ziehen weiter ins Rückenmark und bilden dort den *Tractus corticospinalis lateralis* [...]“. Die restlichen 20 % der Fasern [verlaufen] ungekreuzt nach kaudal weiter [...]“ und bilden den *Tractus corticospinalis anterior* [2]. Innerhalb der grauen Substanz erfolgt die synaptische Verschaltung mit der nächsten Nervenzelle der motorischen Bahn. Die zweiten Motoneurone, im englischen Sprachgebrauch *lower motor neuron* (LMN) genannt, liegen im Vorderhorn des Rückenmarks und bilden dort in ihrer Gesamtheit die motorische Kernsäule. Der Austritt aus dem Rückenmark erfolgt durch den Zusammenschluss ihrer Axone zur vorderen Nervenwurzel. Als Teil der Spinalnerven verlassen sie den Spinalkanal und innervieren direkt den Skelettmuskel (s. Abb. 1). Sämtliche Informationen sind den folgenden Quellen entnommen [1, 2].

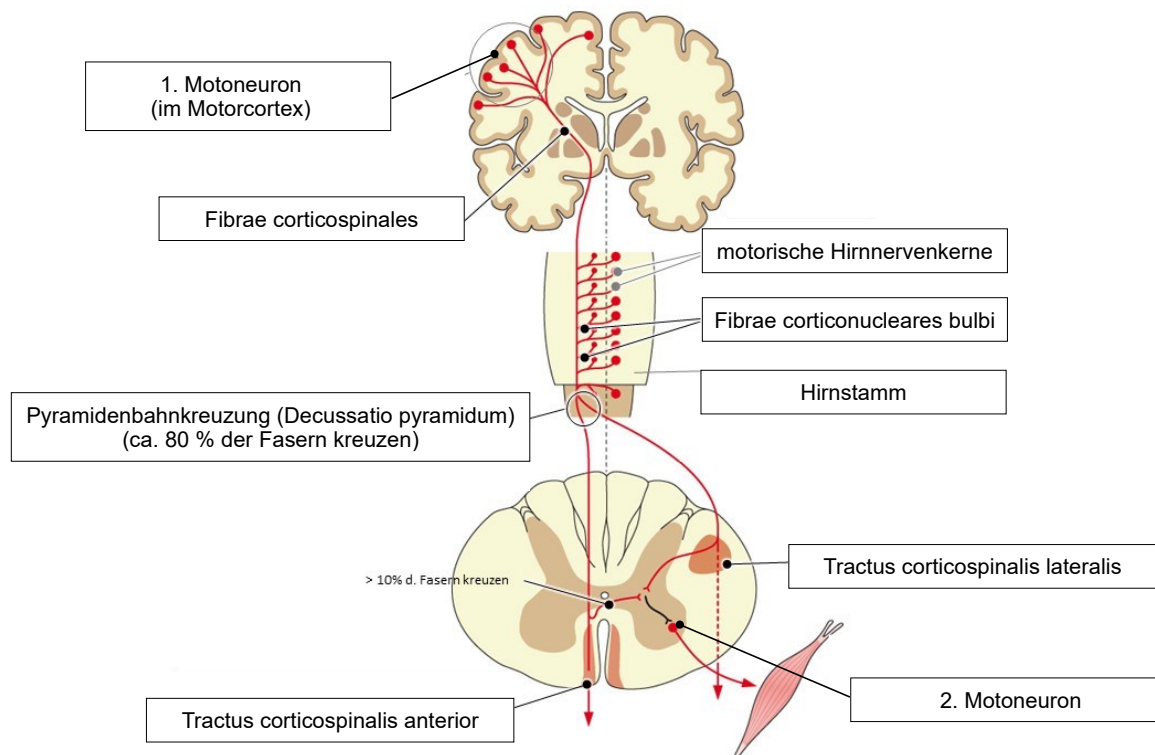


Abb. 1: Schematische Darstellung des Verlaufs der Pyramidenbahn: Topografie von erstem und zweitem Motoneuron, die bei der ALS betroffen sind (modifiziert nach Martin, A. [3]).

Schaut man sich die wörtliche Bedeutung des Krankheitsbegriffes an, ergeben sich erste Hinweise auf das klinische Erscheinungsbild. „Amyotroph“ bedeutet dabei so viel wie „Verlust von Muskelmasse“. Dieser resultiert aus der Degeneration des zweiten Motoneurons und führt klinisch zu einer schlaffen Lähmung der Muskulatur, einhergehend mit einer Muskelhypotonie, Muskelatrophie, einer Schwächung oder Aufhebung der Muskeleigenreflexe sowie Zeichen einer muskulären Denervierung, welche sich in Form von Faszikulationen oder Fibrillationen äußern kann [1]. Gleichzeitig ist die ALS durch den Untergang des ersten Motoneurons gekennzeichnet. Spastische Paresen, ein gesteigerter Muskeltonus, gesteigerte Muskeleigenreflexe und pathologische Fremdreflexe, wie zum Beispiel Pyramidenbahnzeichen, sind die Folge [1]. Der durch die Degeneration der Motoneurone bedingte Zerfall der dazugehörigen Axone resultiert in einer entsprechenden Vernarbung des Rückenmarks und komplementiert den Begriff „Lateralsklerose“.

Es werden hauptsächlich zwei verschiedene Formen der ALS unterschieden, je nachdem, welche Muskelgruppe primär betroffen ist. Bei der 1) spinalen Verlaufsform (ca. 60 %) ist insbesondere die Muskulatur der Extremitäten und des Rumpfes betroffen. Dabei kann zusätzlich zwischen einem Beginn an der oberen (ca. 27 %) oder unteren (ca. 30 %) Extremität, sowie im thorakalen Bereich (ca. 3 %) differenziert werden. Die 2) bulbäre Verlaufsform (ca. 35 %) hat vor allem Auswirkungen auf die Atem-, Schlund- und Kehlkopfmuskulatur [4].

Die Krankheit beginnt bei der spinalen Form häufig fokal und einseitig und breitet sich dann auf weitere Muskelgruppen aus. Initial zeigt sich durch die Degeneration des zweiten Motoneurons das Bild atrophischer Paresen, welches sich im Verlauf mit der Erscheinung spastischer Paresen - hervorgerufen durch den Untergang des ersten Motoneurons - mischt. Bei Befall der oberen Extremität kommt es insbesondere zu einer Atrophie der kleinen Handmuskeln. Dies wird in der klinischen Untersuchung vor allem am Daumenballen sowie im interossären Spalt zwischen Daumen und Zeigefinger deutlich (sog. *Split-Hand*-Phänomen). Ist primär die untere Extremität betroffen, zeigt sich meist eine Fußheberparese. Bei Befall der kaudalen Hirnnerven kommt es zu einer bulbären Symptomatik mit Schluck- und Sprechstörungen und einer sichtbaren Zungenatrophie sowie Faszikulationen dieser [4]. Darüber hinaus kann bei der ALS zwischen einer sporadischen und einer familiären Form unterschieden werden. „Inzwischen sind mehr als 30 Gene mit der familiären Form assoziiert, sodass die Erkrankung auch als klinisch und genetisch heterogenes, neurodegeneratives Syndrom [...] beschrieben wird, welches multiplen pathophysiologischen Mechanismen unterliegt und sich in verschiedenen klinischen Subtypen präsentieren kann“ (Übersetzung des Autors) [5-7].

1.1.2 Epidemiologie

Die Inzidenz der Amyotrophen Lateralsklerose in Deutschland liegt bei zwei bis drei Fällen pro 100.000 Einwohnern pro Jahr. Dabei liegt das Lebenszeitrisko für Männer mit 1:350 etwas höher als das der Frauen mit 1:400. Der häufigste Erkrankungsbeginn liegt zwischen dem sechsten und achten Lebensjahrzehnt, jedoch manifestiert sich die Erkrankung bei der familiären Form im Durchschnitt zehn Jahre früher [7].

1.1.3 Ätiologie

In 90 - 95 % der Fälle von ALS tritt diese sporadisch auf [1]. Eine Ursache ist bisher nicht bekannt, sodass eine multifaktorielle Genese vermutet wird. Diskutiert werden oxidativer Stress, eine glutamaterge Exzitotoxizität, Autoimmunmechanismen, metabolische Veränderungen und eine mitochondriale Dysfunktion [8-12]. Als weiterer wichtiger Risikofaktor wurden *Intermediate-length-polyglutamine*-Expansionen im Ataxin-2-Gen identifiziert [13].

Die anderen 5 - 10 % der Fälle manifestieren sich in Form der familiären ALS, welche durch charakteristische genetische Veränderungen gekennzeichnet ist [1]. Die größte Bedeutung kommt dabei Mutationen im C9ORF72-Gen (*engl. chromosome 9 open reading frame 72*) zu, die in Europa für 25 % der familiären Fälle und für bis zu 10 % der sporadischen Form der ALS verantwortlich sind [14]. Zusätzlich ließen sich bei dieser Form der Erkrankung Mutationen des Kupfer-Zink-Superoxiddismutase-Gens (SOD1) detektieren [15]. In weniger als 5 % der Fälle ist das TDP-43-Gen (*engl. transactive response DNA binding protein 43*) betroffen [16]. Darüber hinaus konnten auch Ansammlungen des Proteins Ubiquilin 2 nachgewiesen werden [17]. Weitere Mutationen betreffen die *TANK-binding kinase 1* (TBK1), das *Fused in sarcoma/translocated in liposarcoma*-Gen (FUS/TLS) und das *Kinesin family member 5A*-Gen (KIF5A) [18-20]. In der Folge dieser Mutationen kommt es zu einer Konformationsänderung und Aggregation von Proteinen im Zytoplasma der Motoneuronen, die aufgrund der Überladung mit diesen Eiweißablagerungen (sog. *Proteinopathie*) ihre Funktion nicht mehr ausüben können [21]. Daraus resultiert ein Zerfall der dazugehörigen Axone, was mit einer Verschmälerung und Vernarbung (= Sklerose) des Rückenmarks einhergeht, in dessen Vorderhorn die Axone die motorische Kernsäule bilden. Die sich folglich ergebende, fehlende Möglichkeit der Innervation der Skelettmuskulatur erklärt die auftretenden schlaffen Lähmungen. Dabei sind vorwiegend die Muskeln der Zunge, des Oropharynx und der Extremitäten betroffen [1]. Zusätzlich zu den neurodegenerativen Veränderungen konnten inflammatorische Prozesse nachgewiesen werden, welche insbesondere die Astroglia, Mikroglia und Oligodendrozyten betreffen [22, 23].

1.1.4 Diagnostik

Die Zeit zwischen den ersten Symptomen der ALS und der endgültigen Diagnosestellung beträgt häufig bis zu zwölf Monate. Ursächlich dafür ist das variable klinische Erscheinungsbild der Erkrankung. Dies stellt ein Problem hinsichtlich einer erfolgreichen Therapie dar, welche eine möglichst frühe Intervention vorsieht [1]. Die Diagnostik umfasst den klinischen Nachweis der Schädigung des ersten und zweiten Motoneurons innerhalb verschiedener Körperregionen, einhergehend mit einer Progredienz der Symptomatik. Das diagnostische Vorgehen erfolgt zunächst in Form einer klinisch-neurologischen Untersuchung, sowie einer neuropsychologischen Befunderhebung. Dafür hat sich die Benutzung der im Jahre 2000 revidierten El-Escorial-Kriterien als brauchbar erwiesen [24]. Für die Diagnosestellung müssen zunächst folgende Bedingungen erfüllt sein:

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

Nach differentialdiagnostischem Ausschluss anderer Ursachen für die klinische Symptomatik mithilfe der Neurografie sowie Elektromyografie und einer kranialen-/spinalen Magnetresonanztomographie, kann die ALS anhand der Anzahl der motorischen Symptome weiter in vier Regionen eingeteilt werden. Dabei wird unterschieden zwischen:

1. Definitive/Sichere ALS: erstes und zweites Motoneuron sind in drei von vier Regionen betroffen, Regionen sind: Hirnstamm, Arme, Thorax und Rumpf, Beine.
2. Wahrscheinliche ALS: erstes und zweites Motoneuron sind in zwei von vier Regionen betroffen.
3. Wahrscheinliche, laborgestützte ALS: erstes und zweites Motoneuron sind in einer von vier Regionen betroffen oder das erste Motoneuron ist in einer Region betroffen und es zeigen sich zusätzlich typische elektromyografische Befunde in mindestens zwei Extremitäten.
4. Mögliche ALS: erstes und zweites Motoneuron sind in einer von vier Regionen betroffen oder das erste Motoneuron ist in zwei oder mehr Regionen betroffen.

Es stellte sich heraus, dass sowohl Patienten als auch zuweisende Ärzte durch diese Einteilung eher verwirrt waren, als dass diagnostische Klarheit herrschte, sodass die Verwendung der Kriterien in der Praxis vermieden werden sollte [25]. Aus diesem Grund regte die *World Federation of Neurology* eine Revision der El-Escorial-Kriterien an, um neuere Erkenntnisse und die spezifischen Phänotypen der ALS besser zu berücksichtigen [26]. 2020 wurde daher von einer internationalen Expertengruppe die Definition einer ALS in den *Gold-Coast*-Kriterien neu vereinbart, die nach der aktuellen DGN-Leitlinie empfohlen werden, jedoch noch einer Überprüfung durch Studien und der klinischen Anwendung bedürfen [27, 28]. Folgende Kriterien für die frühe Diagnose der Erkrankung sind darin enthalten:

1. Die Funktion des ersten und zweiten Motoneurons ist an einer Extremität betroffen (vergleichbar mit der „Möglichen ALS“ der alten El-Escorial-Kriterien) oder
2. die Funktion des zweiten Motoneurons ist an zwei Extremitäten betroffen oder
3. es müssen eine pathogene Mutation und Defizite an einer Extremität nachgewiesen werden.

1.1.5 Klinische Scores

Zur Erfassung und Bewertung des klinischen Zustandes der Patienten kommen verschiedene klinische Parameter zur Anwendung, die teilweise in Form von definierten *Scores* und Skalen zusammengefasst werden.

Die modifizierte Rankin-Skala (mRankin) ist eine weit verbreitete und einfach zu benutzende, siebenstufige Skala, die 1957 erstmalig von J. Rankin beschrieben und im Jahre 1988 von van Swieten et al. überarbeitet wurde [29, 30]. Sie findet insbesondere zur Bewertung des Outcomes bei Schlaganfall-Patienten Verwendung [31, 32]. Bei ALS-Patienten wird die Skala ebenfalls angewandt und hat dabei nicht zum Ziel, die Durchführung von bestimmten Tätigkeiten zu messen, sondern die Unabhängigkeit der Patienten zu beurteilen. Sowohl die körperliche als auch die geistige Anpassung an die neurologische Beeinträchtigung können mit der Skala erfasst werden. Je niedriger der Punktwert ist, desto weniger symptomatisch und somit weniger beeinträchtigt sind die Patienten [30].

Der Barthel-Index wird insbesondere zur systematischen Erfassung grundlegender Alltagsfunktionen verwendet [33]. Er resultiert aus dem sogenannten ADL-Score (*engl. Activities of Daily Living*), welcher die Alltagskompetenz von Personen beurteilt, die an neurodegenerativen Krankheiten leiden. Dabei umfasst der Barthel-Index zehn Parameter (Essen, Baden, Körperpflege, An-/Auskleiden, Stuhl- und Urinkontrolle, Toilettenbenutzung, Bett- bzw. Stuhltransfer, Mobilität, Treppensteigen), die in Abhängigkeit der Selbstständigkeit der Patienten mit Punkten bewertet werden. Die Summe der Punkte reicht von 0 (= vollständige Abhängigkeit) bis hin zu 100 (= völlige Selbstständigkeit) [33].

Die *ALS-Functional Rating Scale* (ALS-FRS) dient der Erfassung des Voranschreitens des funktionellen Defizits im Rahmen der ALS und schließt die Bewertung zehn verschiedener Funktionen ein, die unter Umständen beeinträchtigt sein können [34]. Dazu zählen die Sprache, der Speichelfluss, das Schlucken, die Handschrift, das Essen, das An- und Auskleiden, das Umdrehen im Bett sowie das Richten der Bettdecke, das Gehen, das Treppensteigen und die Atmung. Jedem Parameter wird ein Punktwert von 0 (= nicht möglich) bis 4 (= normal) zugeordnet, sodass sich insgesamt eine Summe von 0 bis maximal 40 Punkten ergibt. Je niedriger die Gesamtpunktzahl ist, desto ausgeprägter ist die Symptomatik des Betroffenen und als desto schwerwiegender kann die Erkrankung eingestuft werden [34].

1.1.6 Therapie

Zum aktuellen Zeitpunkt stehen keine kausalen Therapiemöglichkeiten für die Amyotrophe Lateralsklerose zur Verfügung. Folglich sind supportive Maßnahmen vordergründig, um die Symptome der Patienten so gut es geht zu lindern und ihre Lebensqualität zu erhalten. Selbstverständlich sollten die Patienten über die Erkrankung, ihren Verlauf und ihre Prognose aufgeklärt werden. Durch engmaschige Kontrolluntersuchungen können die unterschiedlichen Behandlungsoptionen frühzeitig besprochen und jederzeit individuell angepasst werden. Voraussetzung für eine bestmögliche Behandlung der Patienten ist die Zusammenarbeit eines interdisziplinären Teams bestehend aus physiotherapeutischer, ergotherapeutischer, logopädischer, psychosozialer und psychologischer sowie palliativmedizinischer Betreuung [35, 36]. Grundsätzlich kann zwischen einer verlaufsmodifizierenden Therapie und einer rein symptomatischen Therapie unterschieden werden.

In der Pathogenese der ALS scheint der exzitatorische Neurotransmitter Glutamat eine wichtige Rolle in Bezug auf die Apoptose der Nervenzellen zu spielen [9]. Die verlaufsmodifizierende Therapie umfasst deshalb den Einsatz von Riluzol [37]. Dabei handelt es sich um ein Benzothiazol, dessen genauer Wirkmechanismus noch nicht gänzlich geklärt ist. Es wird vermutet, dass durch das Riluzol präsynaptische, spannungsabhängige Natriumkanäle blockiert und somit der Calciueinstrom und die daraufhin folgende Glutamatfreisetzung gehemmt werden [37]. Durch die Gabe von 100 mg/Tag (2 x 50 mg) kann die Krankheitsprogression geringfügig verlangsamt werden, sodass sich in Abhängigkeit von der Dosis die Wahrscheinlichkeit, das erste Therapiejahr zu überleben, um 6,4 % bis 12,1 % (je nach Studie) erhöht [38]. Die symptomatische Behandlung hat vor allem zum Ziel, die Lebensqualität der Patienten trotz der rasch voranschreitenden Erkrankung und den damit einhergehenden Einschränkungen bestmöglich zu wahren. Einer besonderen Bedeutung kommt dabei der Physio- und Ergotherapie zu, um die motorischen Funktionen so lange wie möglich erhalten zu können. Auch eine logopädische Therapie und die Durchführung von Atemgymnastik sowie Klopfmassagen können geringfügig zur Besserung einer möglichen Dysphagie und Dysarthrie der Patienten beitragen. Die Botulinumtoxintherapie mit Injektionen der Speicheldrüsen in dreimonatigen Abständen reduziert die häufig vorhandene Pseudohypersalivation, welche durch eine verringerte Schluckfrequenz bedingt ist. Zuletzt sind infolge der respiratorischen Insuffizienz die nicht-invasive Heimbeatmung oder eine Tracheotomie mit Heimbeatmung zu den symptomatischen Therapieoptionen zu zählen, wobei Letztere eine Ultima Ratio darstellt und einer strengen Indikationsstellung unterliegt [4].

1.1.7 Prognose

Der Krankheitsverlauf ist bei allen Betroffenen unaufhaltsam progredient und die Prognose individuell sehr unterschiedlich. Die mittlere Überlebenszeit der Patienten mit ALS beträgt zwei bis fünf Jahre. Meist führen die zunehmende Ateminsuffizienz oder Aspirationspneumonien zum Tode [4]. Entscheidend sind eine frühzeitige Diagnosestellung und der Beginn einer interdisziplinären Therapie, um den Krankheitsverlauf möglichst günstig beeinflussen zu können und die Lebensqualität der Patienten so lange wie möglich zu erhalten [1].

Die optische Kohärenztomographie (OCT) stellt ein mögliches nicht-invasives und reproduzierbares Verfahren dar, mit dessen Hilfe der Prozess der Neurodegeneration bei Erkrankungen des zentralen Nervensystems quantitativ erfasst werden kann. Da für die ALS bisher vor allem negative prognostische Parameter wie ein bulbärer Beginn, ein niedriger *Body-Mass-Index* (BMI), ein fortgeschrittenes Alter und eine niedrige Vitalkapazität bekannt sind und weitere prognostische Marker hilfreich wären, stellt sich die Frage, ob sich diese durch die optische Kohärenztomographie ermitteln ließen, um mit ihrer Hilfe den Krankheitsverlauf besser beurteilen zu können [39, 40].

1.2 Die Netzhaut

Die Netzhaut stellt die dritte Schicht des Augapfels (*Bulbus oculi*) dar und kleidet diesen von innen aus. Unterschieden werden ein kleinerer, lichtunempfindlicher (= „blinder“) Teil (*Pars caeca retinae*) und ein größerer, lichtempfindlicher (= „sehender“) Teil (*Pars optica retinae*). Die *Pars caeca retinae* wiederum setzt sich zusammen aus einer *Pars iridica retinae*, welche als zweischichtiges Epithel Pigmente enthält und sich der Rückfläche der Iris anschließt und einer *Pars ciliaris retinae*, „[...] die ebenfalls von einem zweischichtigen Epithel gebildet wird [...] und die Rückfläche des *Corpus ciliare* bedeckt“ [41]. Die Stelle des schärfsten Sehens ist die *Fovea centralis retinae* (Netzhautgrube), die als kleine Vertiefung in der Mitte des gelben Flecks (*Macula lutea*) liegt. „[Dort] ist die *Pars optica retinae* besonders dünn [...]“, wohingegen sie im Bereich des Sehnervenaustritts (*Papilla nervi optici*) besonders dick ist [41]. Im Bereich der sog. *Ora serrata*, bei der es sich um eine kreisrunde, gezackte Grenzlinie handelt, geht die *Pars caeca* in die *Pars optica* über. Bei dieser werden - resultierend aus der „[...] Entwicklung aus dem embryonalen Augenbecher [...]“ - zwei Blätter unterschieden [41]: 1) *Stratum pigmentosum*: ein nach außen, zur Sclera hin liegendes, einschichtiges Pigmentepithel, 2) *Stratum nervosum*: ein nach innen, zum Glaskörper liegendes System bestehend „[...] aus Rezeptorzellen, Interneuronen und Ganglienzellen“ [41]. Insgesamt lässt sich die Retina somit in zehn Schichten unterteilen. „Das [einfallende] Licht muss, bevor es auf die lichtempfindlichen Teile der Fotorezeptoren trifft, zunächst alle [...] innen liegenden Schichten durchdringen [...]“ [41]. Das *Stratum pigmentosum* (RPE, engl. *retinal pigment epithelium*, retinales Pigmentepithel) stellt die äußerste Schicht dar und sitzt mit seiner Basalmembran der Bruch-Membran fest auf. Es handelt sich um ein

einschichtig-kubisches Epithel mit apikalen Fortsätzen, welches „[...] den Stoffaustausch zwischen der angrenzenden Choroidea und den Fotorezeptorzellen [im Sinne der Blut-Retina-Schranke] vermittelt“ [41]. Darüber hinaus ist es am Vitamin-A-Metabolismus beteiligt und sorgt für die Regeneration der Fotorezeptoren durch die Phagozytose der Außensegmente. Auf das retinale Pigmentepithel folgen die Innen- und Außensegmente der Fotorezeptoren, welche als „[...] lichtempfindliche Sinneszellen [das 1. Neuron der Sehbahn darstellen und] die Lichtreize in elektrochemische Signale umsetzen [können]“ [41]. Unterschieden werden 100 – 125 Millionen Stäbchen, die für das Hell-Dunkel-Sehen verantwortlich sind von den in ihrer Anzahl deutlich unterliegenden Zapfen (6 – 7 Millionen), die das Farbsehen ermöglichen. Die angrenzende äußere Grenzmembran (*Stratum limitans externum*) trennt die Innen- und Außensegmente der Fotorezeptoren von der in der äußeren Körnerschicht (ONL, *engl. outer nuclear layer*) liegenden Zellkörpern der Stäbchen und Zapfen. Die sich daraufhin anschließende äußere plexiforme Schicht (OPL, *engl. outer plexiform layer*) umfasst synaptische Verbindungen zwischen den Fortsätzen der Fotorezeptoren und den Bipolar- und Horizontalzellen. Dabei stellen die bipolaren Zellen das 2. Neuron der Sehbahn dar und leiten die Signale der Fotorezeptoren an die Ganglienzellen weiter. „Zusätzlich zu [den] vertikalen Verbindungen [werden durch die] Horizontalzellen und sog. amakrine Zellen [...] laterale Verknüpfungen [geschaffen]“ [41]. Dadurch gelingt eine Signalkonvergenz, indem „[...] die von den [Fotorezeptoren] gelieferten Informationen [bereits in der Retina] verarbeitet und gebündelt [werden]“ [41]. In der Folge wird die Kontrastempfindlichkeit des Auges erhöht und die Retina kann sich an verschiedene Helligkeitssituationen anpassen. Die Zellkerne der Bipolar-, Horizontal- und amakrinen Zellen liegen in der inneren Körnerschicht (INL, *engl. inner nuclear layer*). In der sich anschließenden inneren plexiformen Schicht (IPL, *engl. inner plexiform layer*) kommt es zu einer Synapsenbildung zwischen Bipolar-, amakrinen und Ganglienzellen, die das 3. Neuron der Sehbahn bilden. Ihre Zellkörper befinden sich in der Ganglienzellschicht (GCL, *engl. ganglion cell layer*). Die Axone verlaufen in der retinalen Nervenfaserschicht (RNFL, *engl. retinal nerve fibre layer*), die sich „[...] an der *Papilla nervi optici* zum *N. opticus* [zusammenschließen] und in Richtung [des] *Corpus geniculatum laterale* (zum 4. Neuron) ziehen“ [41]. Die innere Grenzmembran (*Stratum limitans internum*) stellt als letzte Schicht die Grenze zum Glaskörper (*Corpus vitreum*) dar. Sämtliche Informationen sind den folgenden Quellen entnommen [41, 42].

1.3 Die optische Kohärenztomographie

1.3.1 Funktionsprinzip

Bei der optischen Kohärenztomografie (OCT) handelt es sich um ein auf Interferometrie beruhendes, nicht-invasives Verfahren, mit dessen Hilfe hochaufgelöste Querschnittsbilder verschiedener transparenter und semi-transparenter Gewebe *in vivo* erstellt werden können [43]. Sie liefert tiefenaufgelöste Schnittbilder und volumetrische Darstellungen mit einer mehrere Millimeter umfassenden Eindringtiefe (ca. 1 - 3 mm) und einem im einstelligen Mikrometerbereich liegenden Auflösungsvermögen (0,5 - 15 μm). Bisher wird die OCT vor allem in der Ophthalmologie zur Diagnostik von Netzhauterkrankungen sowie bei Glaukom eingesetzt, aber auch in der Dermatologie und Kardiologie findet sie bereits Verwendung [44-46].

Das Prinzip der OCT ähnelt dem der Ultraschallbildgebung, denn beide Verfahren beruhen auf Reflexion. Im Unterschied zum Ultraschall wird bei der OCT jedoch Licht anstatt Schall verwendet. Nahinfrarotlicht mit einer Wellenlänge von 830 nm wird von einer Lichtquelle entsendet und trifft zunächst auf ein Strahlteiler (Interferometer), der das Licht in einem Messarm weiter auf die zu untersuchende Probe und in einem Referenzarm auf einen Spiegel lenkt. Das Licht wird von verschiedenen Gewebeanteilen unterschiedlich stark und mit einer gewissen zeitlichen Verzögerung reflektiert. Probenstrahl und Referenzstrahl treffen dann im Interferometer wieder aufeinander und werden dort zur Interferenz gebracht. Anhand des erfassten Signals gelingt anschließend die Differenzierung verschiedener Strukturen (s. Abb. 2).

Grundsätzlich lässt sich zwischen der *Time-Domain*-OCT (TD-OCT) und der *Spectral-Domain*-OCT (SD-OCT) unterscheiden. Erfasst der Detektor Interferenzen, bei denen keine Laufzeitdifferenz von Mess- und Referenzarm besteht, handelt es sich um die TD-OCT. Ein axiales Scannen der Probe gelingt durch ein Verfahren des Spiegels im Referenzarm, wodurch Interferenzsignale aus unterschiedlichen Tiefen der Probe detektiert werden (A-Scan). Auch die Erstellung zwei- (B-Scan) oder dreidimensionaler Bilder (C-Scan) ist möglich, indem der Probenstrahl lateral über die Probe gefahren wird und folglich mehrere Längsscans durchgeführt werden [43].

Alternativ erfolgt bei der *Spectral-Domain-OCT* zunächst eine spektrale Zerlegung des interferierenden Lichtes und anschließend die Messung des Interferenzspektrums. Durch die gleichzeitige Erfassung der reflektierten Strahlen ermöglicht diese Technik eine deutlich schnellere Bilderstellung und minimiert Artefakte, die durch die Augenbewegungen der Patienten entstehen [47, 48].

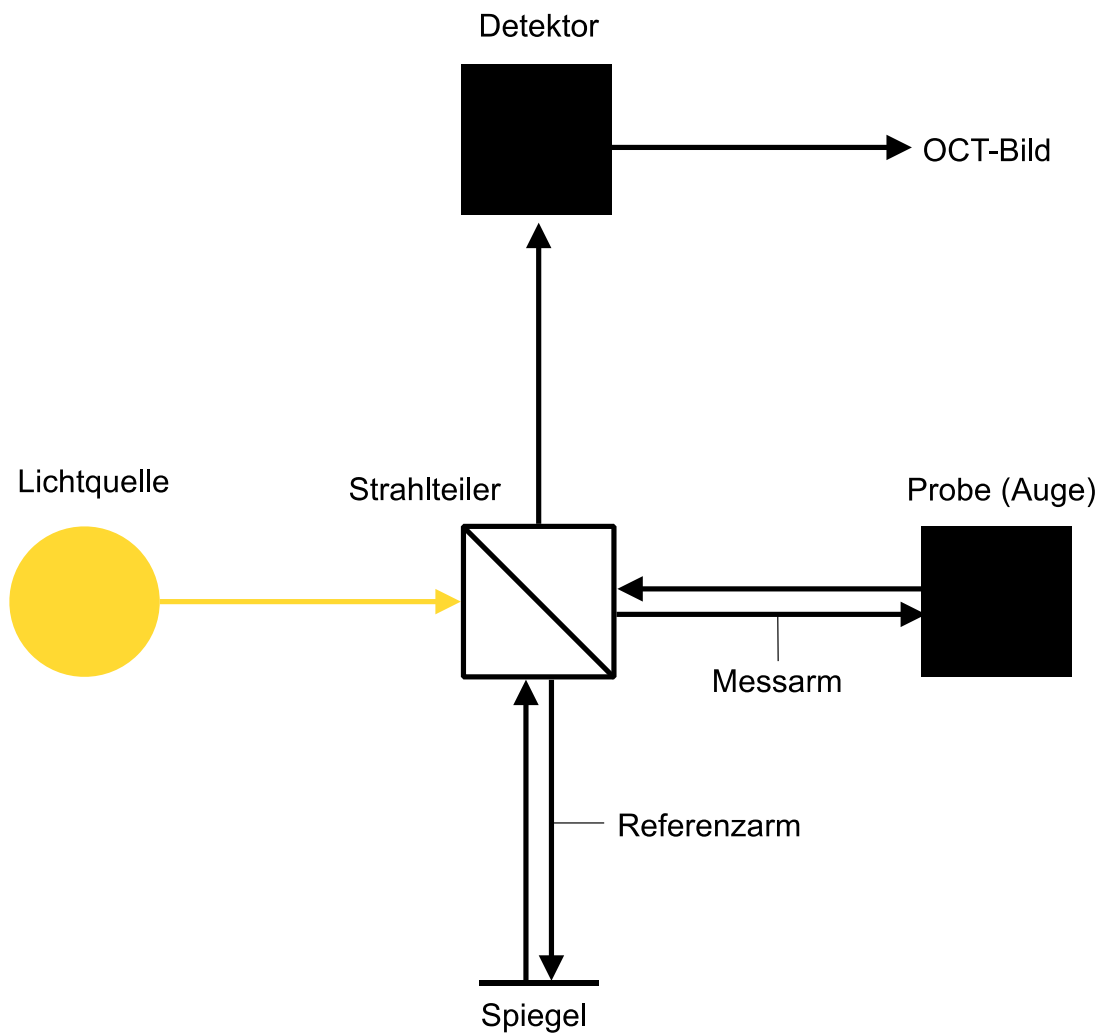


Abb. 2: Funktionsprinzip der optischen Kohärenztomographie (modifiziert nach Greenberg, B. M. und E. Frohman [49]): Das einfallende Licht wird vom Strahlteiler auf die zu untersuchende Probe (Auge) und einen Spiegel gelenkt. Die reflektierten Strahlen (Probenstrahl und Referenzstrahl) werden im Interferometer überlagert, das erzeugte Signal vom Detektor erfasst und daraus ein OCT-Bild erstellt.

1.3.2 OCT in der Neurologie – aktueller Stand

Obgleich die OCT bisher vor allem in der Ophthalmologie, Dermatologie und Kardiologie Verwendung findet, gewinnt sie nun auch in der Neurologie zunehmend an Bedeutung, indem auch bei neurodegenerativen Krankheiten mithilfe dieses Untersuchungsverfahrens strukturelle Veränderungen am Augenhintergrund quantitativ erfasst und charakterisiert werden konnten. Bisher sind retinale Veränderungen im Sinne einer Verdünnung der einzelnen Schichten insbesondere für die Multiple Sklerose (MS) als neuroinflammatorische Erkrankung beschrieben, auch unabhängig des Vorliegens einer Optikusneuritis [50-53].

Einige Studien haben zudem Korrelationen zwischen den OCT-Parametern und dem klinischen Zustand der Patienten im Sinne einer Behinderungsprogression zeigen können [54-56]. Auch bei neurodegenerativen Erkrankungen, wie der Amyotrophen Lateralsklerose, Morbus Parkinson oder Morbus Alzheimer, konnten bereits Veränderungen der einzelnen Schichtdicken der Netzhaut festgestellt werden [57-59]. Daraus ergibt sich die Frage, inwiefern die OCT bei neurodegenerativen Erkrankungen zur Verlaufsbeurteilung eingesetzt werden kann und inwiefern sich mithilfe dieser Untersuchungsmethode möglicherweise Aussagen über die Krankheitsprogression treffen lassen. Bisher wird sie noch nicht routinemäßig in der Diagnostik der ALS eingesetzt, stellt jedoch einen möglichen Ansatz zur Beurteilung des Krankheitsverlaufs der Patienten dar.

1.4 Fragestellung und Ziele der Arbeit

Die Diagnostik der ALS konzentriert sich bisher insbesondere auf klinische Aspekte. Spezifische Biomarker oder Surrogatparameter zur Detektion der Neurodegeneration im Rahmen dieser Erkrankung fehlen und stellen Gegenstände der aktuellen Forschung dar. Durch die optische Kohärenztomographie konnte bei Patienten mit Amyotropher Lateralsklerose eine Reduktion der Dicke der Nervenfaserschicht (RNFL, *engl. retinal nerve fibre layer*), der inneren Körnerschicht (INL, *engl. inner nuclear layer*) sowie der Gesamtdicke im Bereich der *Macula lutea* festgestellt werden [57]. Diese Arbeit soll sich mit dem Zusammenhang zwischen einer möglichen Progression der retinalen Veränderungen und dem klinischen Zustand der Patienten beschäftigen, wozu es bislang nur sehr wenige Daten gibt. Es stellen sich folgende Fragen:

1. Ergeben sich im longitudinalen Verlauf signifikante Abnahmen der retinalen Schichtdicken bei Patienten mit ALS untersucht mithilfe der optischen Kohärenztomographie?
2. Besteht eine Abhängigkeit der retinalen Schichtdicken(veränderungen) mit den klinischen Scores 'modifizierte Rankin-Skala, Barthel-Index und *ALS-Functional Rating Scale*' im Querschnitt und/oder im longitudinalen Verlauf und lassen sich dadurch Aussagen über den klinischen Zustand der ALS-Patienten und/oder die Krankheitsprogression treffen?

2. Material und Methoden

2.1 Probanden

Zu Beginn der Studie lag ein positives Ethikvotum durch die Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf für die Studien „Longitudinale Analyse hirnstruktureller Veränderungen mittels deformationsbasierter Morphometrie bei Patienten mit M. Parkinson, atypischem Parkinson-Syndrom und Amyotropher Lateralsklerose“ (Studiennummer 2849) sowie „Untersuchung von axonalem und neuronalem Zelluntergang der Retina bei neuroinflammatorischen und neurodegenerativen Erkrankungen mit Hilfe der optischen Kohärenztomographie“ (Studiennummer 4389R, Registrierungs-ID 2013091403) vor.

In die Studie wurden 22 ALS-Patienten der Klinik für Neurologie des Universitätsklinikums Düsseldorf eingeschlossen. Diese waren einwilligungsfähig und bereits über ihre Diagnose in Kenntnis gesetzt worden. Nach ausführlicher Aufklärung und Information über den Studienablauf haben alle Studienteilnehmer oder ihre gesetzliche Vertretung zur Teilnahme an der Studie eine schriftliche Einwilligungserklärung unterschrieben sowie der Nutzung ihrer Daten zu wissenschaftlichen Zwecken und zur anonymen Veröffentlichung der Ergebnisse zugestimmt. Die Teilnahme an der klinischen Studie erfolgte freiwillig und ohne finanzielle Entlohnung. Zudem war es jederzeit möglich, die Teilnahme ohne der Angabe von Gründen abzuberechnen.

Anhand einer ophthalmologischen Anamnese und der retinalen Bildgebung mittels OCT wurden okuläre Auffälligkeiten (z. B. eine Retinopathie) ausgeschlossen und entsprechende Patienten nicht in die Studie inkludiert. Darüber hinaus schieden Patienten mit zusätzlichen neurologischen Erkrankungen aus dem entzündlichen und/oder neurodegenerativen Formenkreis aus der Studie aus. Als Kontrollgruppe dienten 21 gesunde Kontrollprobanden ohne ophthalmologische oder neurologische Erkrankungen, die nach entsprechender Aufklärung in die Studienteilnahme einwilligten.

2.2 OCT-Aufnahmen und Segmentation

Als Untersuchungstechnik wurde die *Spectral-Domain-OCT* (SD-OCT) angewendet. Hierbei handelt es sich um ein Infrarot-Laser-Kamerasystem (hergestellt 01/2010, Laserklasse 1, Model S2000) der Firma Heidelberg Engineering GmbH. Die Untersuchung fand unter abgedunkelter Raumbeleuchtung (= Dämmerung) statt und wurde von maximal zwei Untersuchern durchgeführt. Die Patienten saßen parallel zum Kameraobjektiv ausgerichtet. Kinn und Kopf waren durch eine Stütze stabilisiert. Es erfolgte keine Dilatation der Pupillen. Artefakte durch Augenbewegungen der Patienten wurden durch die *Eye-Tracking-Technologie* (*TruTrack Aktives Eye Tracking*, Heidelberg Engineering GmbH) unterdrückt. Von beiden Augen wurden jeweils zwei verschiedene Scans (makulär, papillär) anhand des SPECTRALIS®-*Nsite-Analytics*-Moduls erhoben:

1. Es wurden 25 einzelne, vertikale Scans in einem Bereich von 6 x 6 mm detektiert und zu einem makulären Volumenscan der Retina zusammengefasst, um die zentrale Netzhautdicke (TMT, *engl. total macular thickness*) in mm³ beurteilen zu können.
2. Die Bestimmung der tieferen Retinaschichten (RPE, ONL, OPL, INL, IPL, GCL, RNFL) erfolgte in einzelnen, hoch aufgelösten, transfovealen, horizontalen Scans. Die Schichten wurden zunächst automatisiert vorsegmentiert und im Anschluss manuell nachbearbeitet, indem sie durch Linien voneinander getrennt wurden.
3. Das Volumen der peripapillären Nervenfaserschicht (pRNFL) in µm wurde zusätzlich am Sehnervenkopf (= Papille) mithilfe eines zirkulären Scans mit einem Durchmesser von 12° (3,5 mm) erfasst. Es erfolgte eine Mittelung des Scans aus 100 Einzelbildern, um die bestmögliche Scanqualität zu erhalten.

Nach manueller Korrektur der Schichtdickengrenzen wurden die jeweiligen durchschnittlichen Schichtdicken in mm³ automatisch durch die firmeneigene Software des Heidelberg Eye Explorer (*Heyex Version*) generiert.

Aufgrund des geringen Kontrasts zwischen der GCL und der IPL wurden beide Schichten zur GCIPL zusammengefasst. Die Scans, die keine ausreichende Bildqualität aufwiesen und nicht die *OSCAR-IB* Kriterien erfüllten, wurden zur weiteren Analyse der Daten ausgeschlossen [60]. Abbildung 3 zeigt die mithilfe der OCT detektierten Schichten und ihre Grenzen.

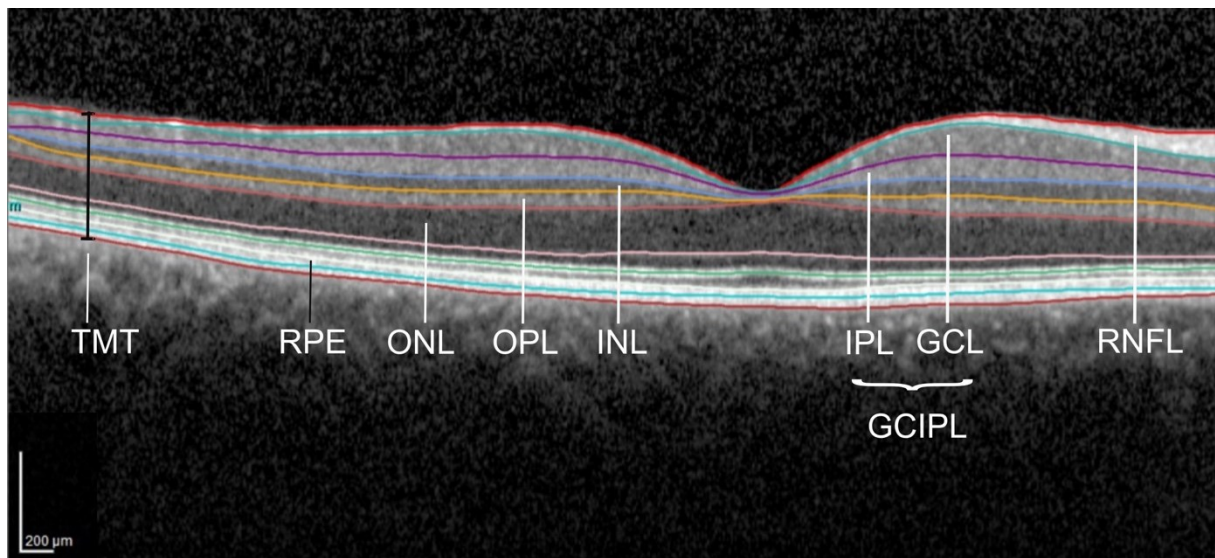


Abb. 3: Modifizierte Bildschirmaufnahme der durch die *Spectral-Domain-OCT* (SD-OCT) der Firma Heidelberg Engineering GmbH detektierten retinalen Schichten (und ihrer Grenzen) gemäß den APOSTEL-Kriterien [61]. Die Aufnahme erfolgte als horizontaler Scan durch die Mitte der Fovea centralis. Nach manueller Korrektur der Schichtdickengrenzen wurden die jeweiligen durchschnittlichen Schichtdicken in μm^3 automatisch durch die firmeneigene Software des Heidelberg Eye Explorer (*Heyex Version*) generiert. Von unten nach oben (= von außen nach innen innerhalb der Retina): RPE = *engl. retinal pigment epithelium* (= retinales Pigmentepithel), ONL = *engl. outer nuclear layer* (= äußere Körnerschicht), OPL = *engl. outer plexiform layer* (= äußere plexiforme Schicht), INL = *engl. inner nuclear layer* (= innere Körnerschicht), IPL = *engl. inner plexiform layer* (= innere plexiforme Schicht), GCL = *engl. ganglion cell layer* (= Ganglienzellschicht), GCIPL = GCL und IPL zusammengefasst, RNFL = *engl. retinal nerve fibre layer* (= retinale Nervenfaserschicht), TMT = *engl. total macular thickness* (= Gesamtdicke im Bereich der *Macula lutea*).

2.3 Statistische Analyse

Die Datenerfassung erfolgte mittels Microsoft Excel (*Microsoft Corporation*, Redmond, Washington) in der Version 16.68. Für die statistische Auswertung der Ergebnisse wurde SPSS Statistics (*IBM*, Armonk, New York) in der Version 29 genutzt. Die Erstellung der Graphen erfolgte mit Prism (*GraphPad*, San Diego, Kalifornien) in der Version 7.00. Die OCT-Daten wurden für beide Gruppen sowohl zum Zeitpunkt der *Baseline*-Untersuchung als auch bei der *Follow-up*-Untersuchung erhoben. Die demografischen Ausgangsdaten wurden zwischen den ALS-Patienten und den gesunden Kontrollprobanden verglichen. Das Alter wurde dabei mit einem Zweistichproben-t-Test und das Geschlecht mit einem Chi-Quadrat-Test getestet. Es erfolgte zunächst eine Umrechnung der oben beschriebenen Schichtdicken von Kubikmillimeter (mm³) in Mikrometer (µm) mithilfe der Kreisformel $h = v / (\pi \times r^2)$, wobei r in diesem Fall bei Nutzung des 1, 3, 6 mm *ETDRS Grids* 3 mm entsprach [62]. Im Anschluss wurde für jede Schicht sowohl die Schichtdickendifferenz als auch die Monatsdifferenz zwischen beiden Untersuchungszeitpunkten (*Baseline* und *Follow-up*) ermittelt. Anschließend wurde die Änderungsrate auf 12 Monate annualisiert. Danach wurden GEE-Modelle (*Generalized Estimation Equation*) angewandt, um folgende Unterschiede, korrigiert für das Geschlecht, zu testen:

- a. Patienten vs. Kontrollen zum Zeitpunkt der *Baseline*-Untersuchung.
- b. Patienten und Kontrollen im longitudinalen Verlauf: *Baseline*- vs. *Follow-up*-Untersuchung.
- c. Patienten vs. Kontrollen zum Zeitpunkt der *Follow-up*-Untersuchung.
- d. Vergleich der durchschnittlichen Schichtdickenveränderungen in µm pro Jahr: Patienten vs. Kontrollen.

Bei gleichzeitiger Korrektur für intra-Subjekt inter-Augen Korrelationen wurden Messvariablen aus beiden Augen eines Patienten in die Analyse aufgenommen. In einem weiteren Schritt untersuchten wir zusätzlich den Einfluss des Alters und der Erkrankungsdauer auf die Schichtdickenveränderungen. Darüber hinaus wurden die klinischen Scores (mRankin, Barthel-Index, ALS-FRS) longitudinal mit dem *Wilcoxon*-Vorzeichen-Rang-Test verglichen. Im Anschluss wendeten wir entsprechend des Skalenniveaus die bivariate *Spearman*-Korrelation an, um die Beziehung zwischen

den Netzhautschichtdicken und den klinischen *Scores* zum Zeitpunkt der *Baseline*-Messung zu untersuchen. Die gleiche Analyse wurde angewandt, um den Zusammenhang zwischen den annualisierten Änderungsraten der Schichtdicken in μm pro Jahr und den klinischen *Scores* im longitudinalen Verlauf zu ermitteln. Es folgt die Darstellung der erhobenen Mittelwerte der Daten mit den jeweiligen Standardabweichungen. Für das Signifikanzniveau wurde ein p-Wert von $\leq 0,05$ festgelegt.

3. Ergebnisse

3.1 Demographie der untersuchten Probanden

In die retrospektive, longitudinale Studie wurden 22 Patienten der Klinik für Neurologie des Universitätsklinikums Düsseldorf eingeschlossen, deren Untersuchungsergebnisse denen von 21 gesunden Kontrollprobanden gegenübergestellt wurden. Die *Follow-up*-Untersuchung erfolgte bei den ALS-Patienten durchschnittlich nach 5,23 (+/-3,4) Monaten (Median 5 Monate), die der gesunden Kontrollprobanden nach 72,48 (+/-36,43) Monaten (Median 84 Monate) ($p < 0,001$, Zweistichproben-t-Test). Die ALS-Patienten waren deutlich älter als die gesunden Kontrollprobanden (63 (+/-14) gegenüber 37 (+/-10) Jahren ($p < 0,001$, Zweistichproben-t-Test). Die Geschlechterverteilung war im Vergleich beider Gruppen gegensätzlich: bei den ALS-Patienten waren 82 % männlich, wohingegen der Anteil der männlichen Probanden bei den gesunden Kontrollen bei 33 % lag ($p < 0,001$, Chi-Quadrat-Test). Die Krankheitsdauer bei Studienbeginn konnte für 20 ALS-Patienten mit einem Mittelwert von 5,15 (+/-21,4) Monaten (Median 0 Monate) bestimmt werden. Die Demographie ist Tabelle 1 zu entnehmen.

Tabelle 1: Demographie der ALS-Patienten und der gesunden Kontrollprobanden sowie Darstellung der Krankheitsdauer zum Zeitpunkt der *Baseline*-Messung (+/-Standardabweichung) in Monaten.

	ALS-Patienten (n = 22)	Gesunde Kontrollen (n = 21)	Statistik
Alter (in Jahren)	MW = 63 (+/-14) Md = 68 R = 20 - 78	MW = 37 (+/-10) Md = 37 R = 23 - 64	t (41) = 6,86 p < 0,001
Geschlecht Männer – Anzahl (Prozent) Frauen – Anzahl (Prozent)	18 (82 %) 4 (18 %)	7 (33 %) 14 (67 %)	X ² (1) = 10,38 p < 0,001
Krankheitsdauer (in Monaten)	MW = 5,15 (+/-21,4) (n = 20) R = 0 - 96	/	

Tabelle 1: Das Alter wurde mit einem Zweistichproben-t-Test und das Geschlecht mit einem Chi-Quadrat-Test getestet. ALS = Amyotrophe Lateralsklerose, n = Anzahl der Probanden, MW = Mittelwert, Md = Median, R = *engl. range* (= Spannweite).

3.2 Vergleich der Ergebnisse der einzelnen Netzhautschichten

Nach der Berechnung der Schichtdickendifferenz sowie der Monatsdifferenz zwischen beiden Untersuchungszeitpunkten (*Baseline* und *Follow-up*) für die einzelnen retinalen Schichten der Patienten und der gesunden Kontrollprobanden, wurde die Änderungsrate auf 12 Monate annualisiert. Anschließend wurden GEE-Modelle (*Generalized Estimation Equation*) angewandt, um zuvor aufgeführte Unterschiede zu testen. Bei gleichzeitiger Korrektur für intra-Subjekt inter-Augen Korrelationen wurden Messvariablen aus beiden Augen eines Patienten in die Analyse aufgenommen. Tabelle 2 und Abbildungen 4 und 5 zeigen folgende Ergebnisse dieser Analyse:

- a. Zum Zeitpunkt der *Baseline*-Untersuchung zeigten sich bei den ALS-Patienten im Vergleich zu den gesunden Kontrollprobanden für vier Schichten signifikante niedrigere Werte. Die pRNFL war bei den ALS-Patienten im Vergleich zu den gesunden Kontrollprobanden 9,9 % dünner (ALS 93,20 (+/-11,74) μm vs. Kontrollen 103,43 (+/-6,58) μm , $p < 0,001$ GEE). Die Gesamtdicke im Bereich der *Macula lutea* (TMT) zeigte sich im Gruppenvergleich für die ALS-Patienten um 3,3 % reduziert (ALS 299,63 (+/-16,92) μm vs. Kontrollen 309,81 (+/-10,97) μm , $p = 0,005$ GEE). Die Reduktion der GCIPL-Dicke lag bei den Erkrankten bei 7,7 % (ALS 65,74 (+/-6,21) μm vs. Kontrollen 71,23 (+/-4,28) μm , $p < 0,001$ GEE). Zuletzt ging aus der Analyse der INL eine um 3,3 % erniedrigte Schichtdicke bei den ALS-Patienten hervor (ALS 33,03 (+/-2,73) μm vs. Kontrollen 34,16 (+/-1,91) μm , $p = 0,010$ GEE).
- b. Im longitudinalen Verlauf (*Baseline* vs. *Follow-up*) ergab sich bei den ALS-Patienten für keine der Netzhautschichten eine signifikante Ausdünnung der Schichtdicke. Der Vollständigkeit halber erfolgte eine longitudinale Analyse der Schichtdickenwerte der gesunden Kontrollprobanden. Diese zeigte für die GCIPL eine signifikante Abnahme um 0,45 % (*Baseline* 71,23 (+/-4,28) μm vs. *Follow-up* 70,91 (+/-4,53) μm , $p < 0,001$ GEE). Für die INL ergab sich eine signifikante Schichtdickenreduktion um 1,1 % (*Baseline* 34,16 (+/-1,91) μm vs. *Follow-up* 33,77 (+/-2,11) μm , $p = 0,012$ GEE).

- c. Aus dem Vergleich der durchschnittlichen retinalen Schichtdicken zum Zeitpunkt der *Follow-up*-Untersuchung zwischen den ALS-Patienten und den gesunden Kontrollprobanden gingen für die ALS-Patienten für die pRNFL und die GCIPL signifikant verminderte Schichtdickenwerte hervor. Die pRNFL war bei den Patienten 10,9 % dünner (ALS 91,56 (+/-11,91) μm vs. Kontrollen 102,74 (+/-6,84) μm , $p = 0,014$ GEE). Die Analyse der GCIPL offenbarte eine Schichtdickendifferenz zwischen Patienten und Kontrollen von 7,9 % (ALS 65,31 (+/-7,30) μm vs. Kontrollen 70,91 (+/-4,53) μm , $p = 0,018$ GEE).
- d. In der Gegenüberstellung der durchschnittlichen Schichtdickenveränderungen in μm pro Jahr zwischen den ALS-Patienten und den gesunden Kontrollen ließ sich wiederum kein signifikantes Resultat ermitteln.

Bezüglich des Gruppenvergleiches zum Zeitpunkt der *Baseline*-Untersuchung ist anzumerken, dass dieser seine Signifikanz verliert, sobald für das Alter korrigiert wird. Der Einfluss der Erkrankungsdauer auf die Schichtdickenveränderungen zeigte ebenfalls für keine der retinalen Schichten ein signifikantes Ergebnis.

Tabelle 2: Darstellung der Mittelwerte (+/-Standardabweichung) der einzelnen OCT-Parameter (in μm), ermittelt durch automatische bzw. manuelle Segmentation, zum ersten- (*Baseline*) und zweiten Untersuchungszeitpunkt (*Follow-up*).

OCT-Parameter in μm (MW +/- SA)	ALS-Patienten (n = 22)	Gesunde Kontrollen (n = 21)	Statistik: GEE ALS vs. Kontrollen
Baseline-Messung^a			
pRNFL	93,20 (+/-11,74)	103,43 (+/-6,58)	p < 0,001
TMT	299,63 (+/-16,92)	309,81 (+/-10,97)	p = 0,005
mRNFL	32,44 (+/-4,15)	34,69 (+/-4,16)	p = 0,053
GCIPL	65,74 (+/-6,21)	71,23 (+/-4,28)	p < 0,001
INL	33,03 (+/-2,73)	34,16 (+/-1,91)	p = 0,010
OPL	28,58 (+/-2,98)	28,00 (+/-2,28)	p = 0,870
ONL	60,46 (+/-8,19)	61,92 (+/-6,73)	p = 0,902
RPE	13,90 (+/-1,1)	13,98 (+/-0,9)	p = 0,407
Follow-up-Messung^{b, c}			
pRNFL	91,56 (+/-11,91) p = 0,928	102,74 (+/-6,84) p = 0,491	p = 0,014
TMT	299,03 (+/-17,36) p = 0,08	309,04 (+/-12,22) p = 0,518	p = 0,058
mRNFL	32,65 (+/-4,82) p = 0,071	35,09 (+/-4,22) p = 0,803	p = 0,096
GCIPL	65,31 (+/-7,30) p = 0,402	70,91 (+/-4,53) p < 0,001	p = 0,018
INL	32,95 (+/-2,80) p = 0,654	33,77 (+/-2,11) p = 0,012	p = 0,085
OPL	28,65 (+/-2,82) p = 0,274	28,11 (+/-2,95) p = 0,214	p = 0,422
ONL	60,42 (+/-7,65) p = 0,867	62,32 (+/-6,19) p = 0,064	p = 0,653

RPE	13,86 (+/-0,97) p = 0,381	13,85 (+/-0,93) p = 0,918	p = 0,656
Durchschnittliche Schichtdickenveränderungen in µm pro Jahr^d			
pRNFL	-1,73 (+/-15,78)	-0,45 (+/-2,05)	p = 0,987
TMT	0,94 (+/-10,47)	-0,20 (+/-1,06)	p = 0,594
mRNFL	0,00 (+/-6,43)	0,12 (+/-0,17)	p = 0,989
GCIPL	0,91 (+/-4,17)	-0,47 (+/-0,44)	p = 0,243
INL	-0,48 (+/-4,04)	-0,65 (+/-0,10)	p = 0,804
OPL	0,56 (+/-5,10)	-0,11 (+/-0,22)	p = 0,511
ONL	0,78 (+/-8,47)	-0,01 (+/-0,25)	p = 0,471
RPE	0,15 (+/-2,53)	-0,02 (+/-0,10)	p = 0,665

Tabelle 2: Die *Follow-up*-Untersuchung erfolgte bei den ALS-Patienten durchschnittlich nach 5,23 (+/-3,4) Monaten (Median 5 Monate), die der gesunden Kontrollprobanden nach 72,48 (+/-36,43) Monaten (Median 84 Monate) ($p < 0,001$, Zweistichproben-t-Test). Es wurden GEE-Modelle (*Generalized Estimation Equation*) angewandt, um folgende Unterschiede, korrigiert für das Geschlecht, zu testen: a. Patienten vs. Kontrollen zum Zeitpunkt der *Baseline*-Untersuchung. b. Patienten und Kontrollen im longitudinalen Verlauf: *Baseline*- vs. *Follow-up*-Untersuchung. Der p-Wert des GEE-Modells findet sich jeweils unter dem Mittelwert und der Standardabweichung. c. Patienten vs. Kontrollen zum Zeitpunkt der *Follow-up*-Untersuchung. d. Vergleich der durchschnittlichen Schichtdickenveränderungen in µm pro Jahr: Patienten vs. Kontrollen. Bei gleichzeitiger Korrektur für intra-Subjekt inter-Augen Korrelationen wurden Messvariablen aus beiden Augen eines Patienten in die Analyse aufgenommen. Die Ergebnisse wurden bei $p \leq 0,05$ als signifikant angesehen. OCT = optische Kohärenztomographie, MW = Mittelwert, SA = Standardabweichung, ALS = Amyotrophe Lateralsklerose, n = Anzahl der Probanden, pRNFL = engl. *peripapillary retinal nerve fibre layer* (= peripapilläre retinale Nervenfaserschicht), TMT = engl. *total macular thickness* (= Gesamtdicke im Bereich der *Macula lutea*), mRNFL = engl. *macular retinal nerve fibre layer* (= makuläre retinale Nervenfaserschicht), GCIPL = GCL = engl. *ganglion cell layer* (= Ganglienzellschicht) + IPL = engl. *inner plexiform layer* (= innere plexiforme Schicht), INL = engl. *inner nuclear layer* (= innere Körnerschicht), OPL = engl. *outer plexiform layer* (= äußere plexiforme Schicht), ONL = engl. *outer nuclear layer* (= äußere Körnerschicht), RPE = engl. *retinal pigment epithelium* (= retinales Pigmentepithel).

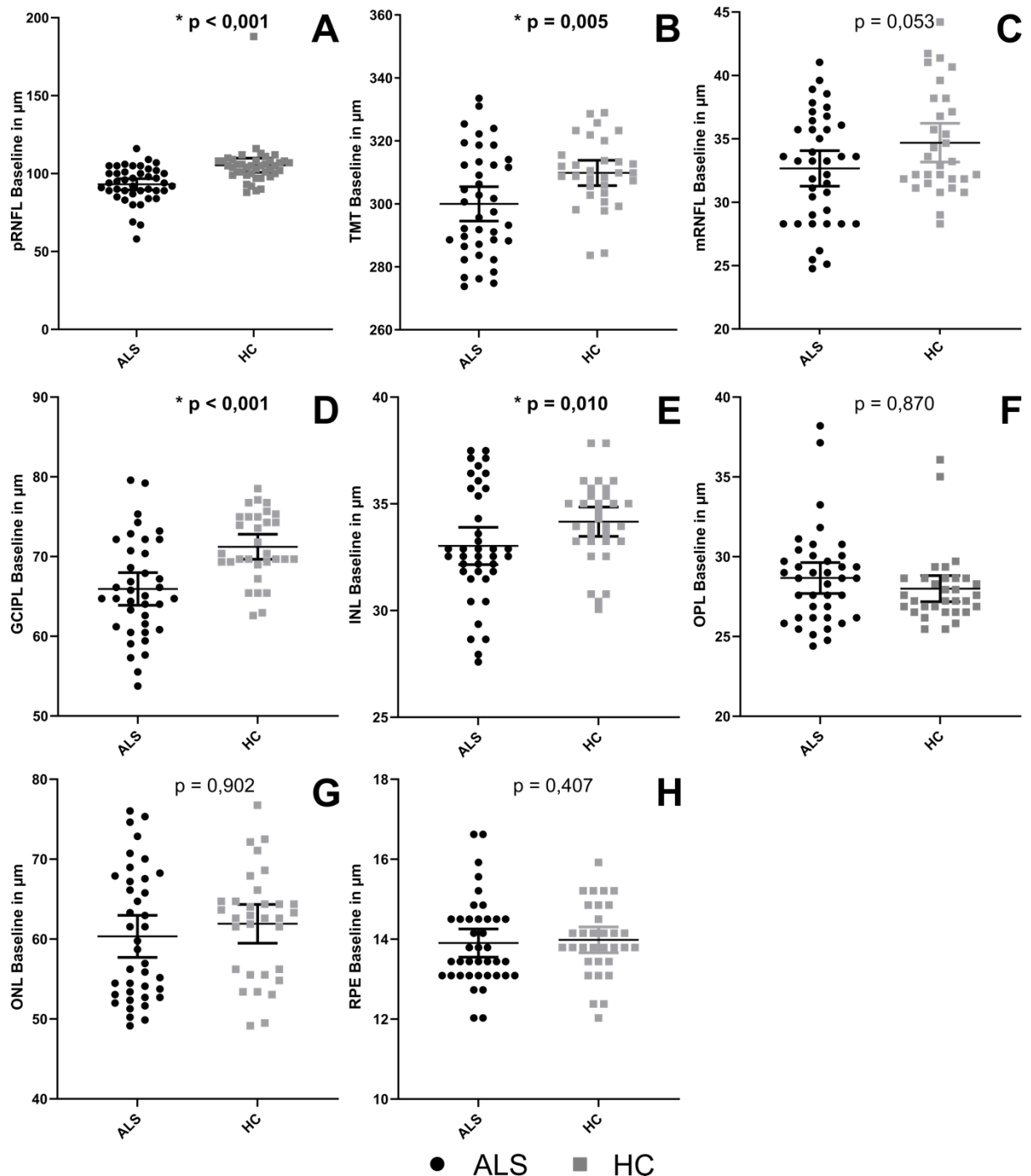


Abb. 4: Graphische Darstellung der durchschnittlichen retinalen Schichtdicken (in μm) von 22 ALS-Patienten im Vergleich zu 21 gesunden Kontrollprobanden (HC, *engl. healthy controls*) zum Zeitpunkt der *Baseline*-Untersuchung in Form von *Box-Plots*. Für den Vergleich zwischen den Gruppen wurden GEE-Modelle (*Generalized Estimation Equation*), korrigiert für das Geschlecht, angewandt. Bei gleichzeitiger Korrektur für intra-Subjekt inter-Augen Korrelationen wurden Messvariablen aus beiden Augen eines Patienten in die Analyse aufgenommen. Ein Punkt repräsentiert ein Auge. Das 95%-Perzentil wird durch die obere Antenne angezeigt, das 5%-Perzentil durch die untere Antenne limitiert. Der Median wird durch die horizontale Linie zwischen den beiden Antennen wiedergegeben. Die Ergebnisse wurden bei $p \leq 0,05$ als signifikant angesehen und sind mit einem Stern

(*) gekennzeichnet. ALS = Amyotrophe Lateralsklerose, A: pRNFL = *engl. peripapillary retinal nerve fibre layer* (= peripapilläre retinale Nervenfaserschicht), B: TMT = *engl. total macular thickness* (= Gesamtdicke im Bereich der *Macula lutea*), C: mRNFL = *engl. macular retinal nerve fibre layer* (= makuläre retinale Nervenfaserschicht), D: GCIPL = GCL = *engl. ganglion cell layer* (= Ganglienzellschicht) + IPL = *engl. inner plexiform layer* (= innere plexiforme Schicht), E: INL = *engl. inner nuclear layer* (= innere Körnerschicht), F: OPL = *engl. outer plexiform layer* (= äußere plexiforme Schicht), G: ONL = *engl. outer nuclear layer* (= äußere Körnerschicht), H: RPE = *engl. retinal pigment epithelium* (= retinales Pigmentepithel).

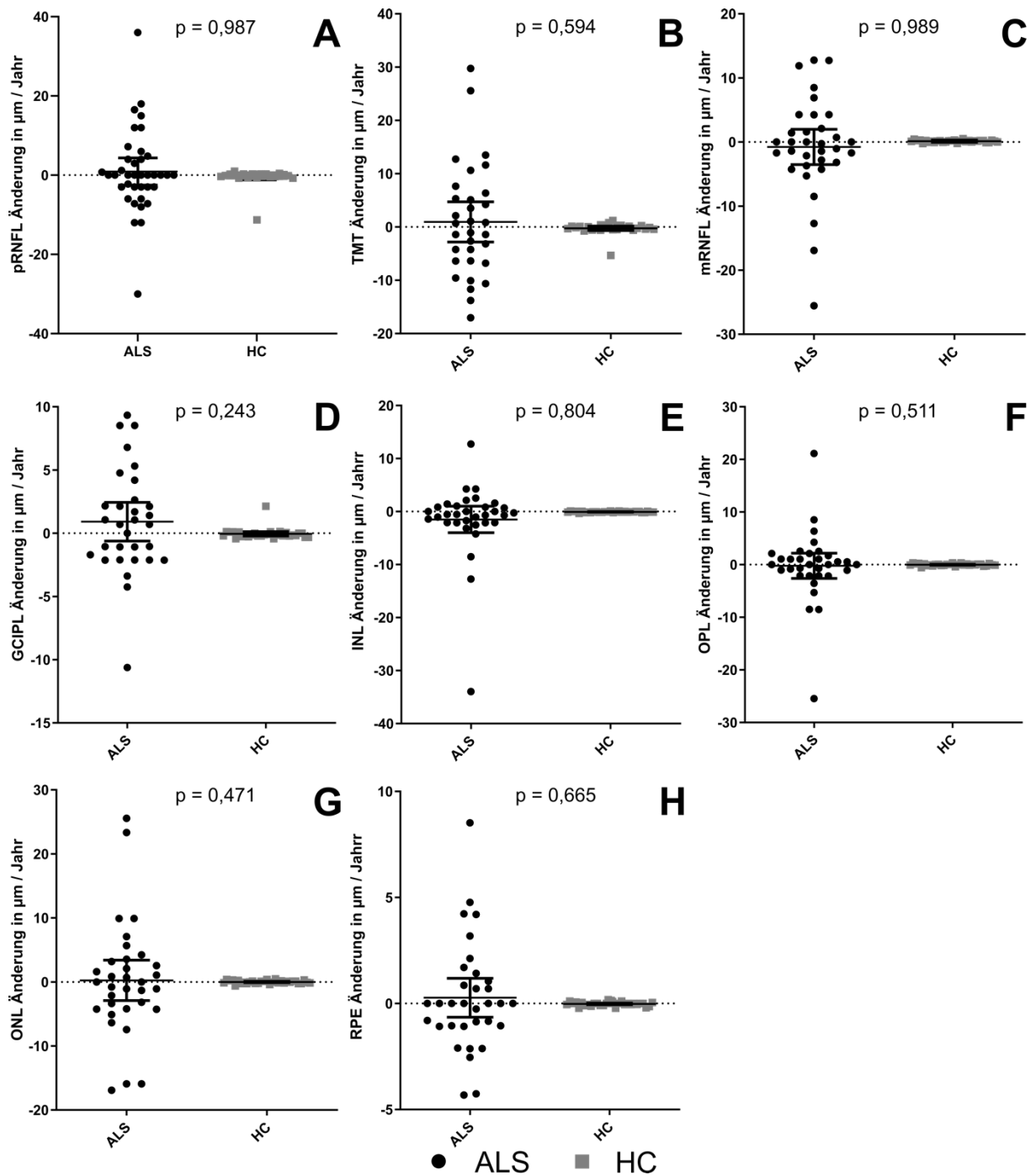


Abb. 5: Graphische Darstellung der annualisierten Änderungsraten (in μm) der retinalen Schichtdicken nach 12 Monaten von 22 ALS-Patienten im Vergleich zu 21 gesunden Kontrollprobanden (HC, *engl. healthy controls*) in Form von **Box-Plots**. Die *Follow-up*-Untersuchung erfolgte bei den ALS-Patienten durchschnittlich nach 5,23 ($\pm 3,4$) Monaten (Median 5 Monate), die der gesunden Kontrollprobanden nach 72,48 ($\pm 36,43$) Monaten (Median 84 Monate) ($p < 0,001$, Zweistichproben-t-Test). Für den Vergleich zwischen den Gruppen wurden GEE-Modelle (*Generalized Estimation Equation*), korrigiert für das Geschlecht, angewandt. Bei gleichzeitiger Korrektur für intra-Subjekt inter-Augen Korrelationen wurden Messvariablen aus beiden Augen eines Patienten in die Analyse aufgenommen. Ein Punkt repräsentiert ein Auge. Das 95%-Perzentil wird durch

die obere Antenne angezeigt, das 5%-Perzentil durch die untere Antenne limitiert. Der Median wird durch die horizontale Linie zwischen den beiden Antennen wiedergegeben. Die Ergebnisse wurden bei $p \leq 0,05$ als signifikant angesehen und sind mit einem Stern (*) gekennzeichnet. ALS = Amyotrophe Lateralsklerose, A: pRNFL = *engl. peripapillary retinal nerve fibre layer* (= peripapilläre retinale Nervenfaserschicht), B: TMT = *engl. total macular thickness* (= Gesamtdicke im Bereich der *Macula lutea*), C: mRNFL = *engl. macular retinal nerve fibre layer* (= makuläre retinale Nervenfaserschicht), D: GC IPL = GCL = *engl. ganglion cell layer* (= Ganglienzellschicht) + IPL = *engl. inner plexiform layer* (= innere plexiforme Schicht), E: INL = *engl. inner nuclear layer* (= innere Körnerschicht), F: OPL = *engl. outer plexiform layer* (= äußere plexiforme Schicht), G: ONL = *engl. outer nuclear layer* (= äußere Körnerschicht), H: RPE = *engl. retinal pigment epithelium* (= retinales Pigmentepithel).

3.3 Deskriptive Statistik der klinischen Scores

Zur Erfassung des klinischen Status der Patienten wurden oben beschriebene Scores und Skalen herangezogen. Es wurde versucht, bei jedem Patienten alle drei Parameter zu erheben, wobei sich eine Differenz zwischen der Anzahl der Patienten, deren klinischer Zustand zum ersten Untersuchungszeitpunkt erfasst werden konnte und der Anzahl derer, bei denen eine Bewertung zum zweiten Untersuchungszeitpunkt möglich war, zeigte.

Die modifizierte Rankin-Skala konnte zu beiden Untersuchungszeitpunkten bei allen 22 Patienten erhoben werden (Median *Baseline* = 2, Median *Follow-up* = 2,5). Es ergab sich ein signifikanter Unterschied zwischen beiden Messungen ($z = -3,051$, $p = 0,002$ Wilcoxon).

Der Barthel-Index wurde bei der ersten Untersuchung bei neun Patienten (Median = 100 Punkte) und bei der Folgeuntersuchung bei 11 Patienten (Median = 95 Punkte) erfasst. Dabei ließ sich kein signifikanter Unterschied zwischen den Untersuchungszeitpunkten feststellen ($z = -1,342$, $p = 0,18$ Wilcoxon).

Die Erhebung der ALS-FRS war bei der *Baseline*-Untersuchung bei sechs Patienten möglich (Median = 29 Punkte) und erfolgte im Anschluss bei acht Patienten (Median = 27 Punkte). Auch hier ließ sich kein signifikanter Unterschied zwischen den Messungen detektieren ($z = -1,633$, $p = 0,102$ Wilcoxon) (s. Tabelle 3).

3.4 Korrelation der OCT-Parameter mit den klinischen Scores

Die Beziehung zwischen den retinalen Schichtdicken und den klinischen Parametern mithilfe der Anwendung der bivariaten *Spearman*-Korrelation ergab zum Zeitpunkt der *Baseline*-Untersuchung als Querschnittsanalyse für die GC IPL ($p = 0,037$) und die INL ($p = 0,027$) einen jeweils signifikant negativen Zusammenhang mit der modifizierten Rankin-Skala. In einer longitudinalen Analyse korrelierte die annualisierte Änderungsrate der mRNFL signifikant positiv mit der ALS-FRS ($p = 0,015$). Weitere signifikante Korrelationen zwischen den Netzhautschichtdicken und/oder deren Veränderungen und den klinischen Scores wurden nicht festgestellt (s. Tabelle 3 und Abb. 6 bis 11).

Tabelle 3: Korrelationskoeffizienten und p-Werte ermittelt durch die bivariate *Spearman*-Korrelation zur Darstellung der Zusammenhänge der einzelnen OCT-Parameter und der klinischen Scores zum ersten- (*Baseline*) und zweiten Untersuchungszeitpunkt (*Follow-up*).

OCT-Parameter	mRankin	Barthel-Index	ALS-FRS
Baseline-Messung	(n = 22)	(n = 9)	(n = 6)
pRNFL	-0,268 (p = 0,227)	0,250 (p = 0,517)	-0,348 (p = 0,499)
TMT	-0,402 (p = 0,079)	-0,079 (p = 0,839)	-0,086 (p = 0,872)
mRNFL	-0,252 (p = 0,284)	0,129 (p = 0,741)	0,600 (p = 0,208)
GCIPL	-0,470 (p = 0,037)	0,099 (p = 0,800)	-0,257 (p = 0,623)
INL	-0,495 (p = 0,027)	0,030 (p = 0,939)	-0,464 (p = 0,354)
OPL	-0,397 (p = 0,083)	0,119 (p = 0,761)	-0,314 (p = 0,544)
ONL	-0,044 (p = 0,853)	-0,099 (p = 0,800)	-0,257 (p = 0,623)
RPE	-0,067 (p = 0,778)	0,592 (p = 0,093)	0,314 (p = 0,544)
Follow-up-Messung	(n = 22)	(n = 11)	(n = 8)
pRNFL	-0,212 (p = 0,384)	0,006 (p = 0,986)	0,347 (p = 0,399)
TMT	-0,349 (p = 0,170)	0,064 (p = 0,881)	0,406 (p = 0,425)
mRNFL	-0,300 (p = 0,243)	0,370 (p = 0,366)	0,899 (p = 0,015)
GCIPL	-0,357 (p = 0,159)	0,540 (p = 0,168)	0,754 (p = 0,084)
INL	-0,195 (p = 0,453)	0,373 (p = 0,363)	0,638 (p = 0,173)
OPL	-0,032 (p = 0,904)	-0,026 (p = 0,952)	-0,232 (p = 0,658)
ONL	-0,156 (p = 0,55)	-0,128 (p = 0,763)	0,174 (p = 0,742)
RPE	0,279 (p = 0,277)	-0,549 (p = 0,159)	-0,464 (p = 0,354)

Tabelle 3: Die *Follow-up*-Untersuchung erfolgte bei den ALS-Patienten durchschnittlich nach 5,23 (+/-3,4) Monaten (Median 5 Monate), die der gesunden Kontrollprobanden nach 72,48 (+/-36,43) Monaten (Median 84 Monate) (p < 0,001, Zweistichproben-t-Test). Bei gleichzeitiger Korrektur für intra-Subjekt inter-Augen Korrelationen wurden Messvariablen aus beiden Augen eines Patienten in die Analyse aufgenommen. Die Ergebnisse wurden bei p ≤ 0,05 als signifikant angesehen. OCT = optische Kohärenztomographie, mRankin = modifizierte Rankin-Skala, ALS-FRS = *engl. ALS-Functional Rating Scale*, n = Anzahl der Probanden, pRNFL = *engl. peripapillary retinal nerve fibre layer* (= peripapilläre retinale Nervenfaserschicht), TMT = *engl. total macular thickness* (= Gesamtdicke im Bereich der *Macula lutea*), mRNFL = *engl. macular retinal nerve fibre layer* (= makuläre retinale Nervenfaserschicht), GCIPL = GCL = *engl. ganglion cell layer* (= Ganglienzellschicht) + IPL = *engl. inner plexiform layer* (= innere plexiforme Schicht), INL = *engl. inner nuclear layer* (= innere Körnerschicht), OPL = *engl. outer plexiform layer* (= äußere plexiforme Schicht), ONL = *engl. outer nuclear layer* (= äußere Körnerschicht), RPE = *engl. retinal pigment epithelium* (= retinales Pigmentepithel).

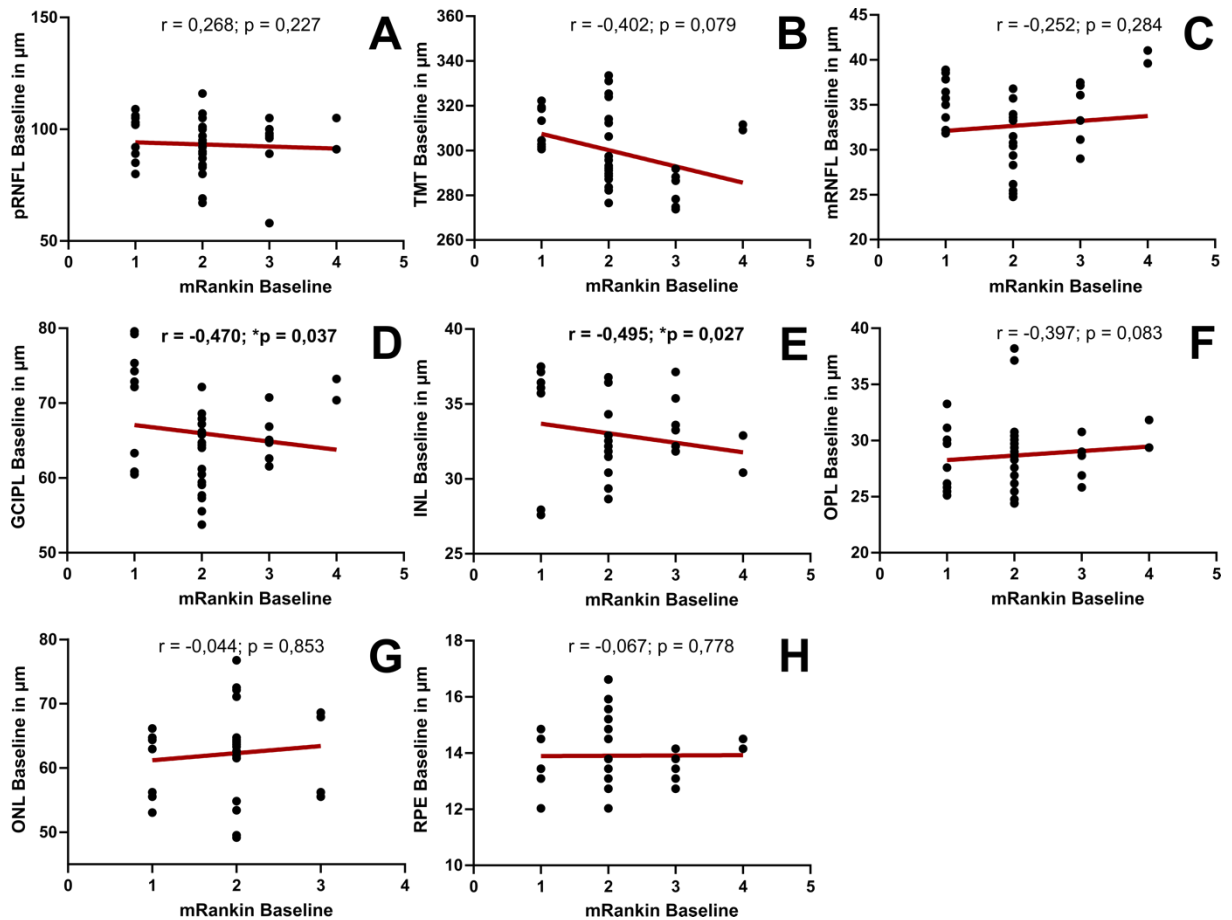


Abb. 6: Zusammenhang zwischen den durchschnittlichen retinalen Schichtdicken (in μm) der 22 ALS-Patienten und der modifizierten Rankin-Skala (mRankin) zum Zeitpunkt der *Baseline*-Untersuchung. Mit Hilfe der bivariaten *Spearman*-Korrelation wurde ein möglicher Zusammenhang zwischen der durchschnittlichen Dicke der jeweiligen Netzhautschicht und der modifizierten Rankin-Skala (mRankin) bei Studienbeginn (*Baseline*) untersucht. Die Ergebnisse wurden bei $p \leq 0,05$ als signifikant angesehen und sind mit einem Stern (*) gekennzeichnet. A: pRNFL = *engl. peripapillary retinal nerve fibre layer* (= peripapilläre retinale Nervenfaserschicht), B: TMT = *engl. total macular thickness* (= Gesamtdicke im Bereich der *Macula lutea*), C: mRNFL = *engl. macular retinal nerve fibre layer* (= makuläre retinale Nervenfaserschicht), D: GCIPL = GCL = *engl. ganglion cell layer* (= Ganglienzellschicht) + IPL = *engl. inner plexiform layer* (= innere plexiforme Schicht), E: INL = *engl. inner nuclear layer* (= innere Körnerschicht), F: OPL = *engl. outer plexiform layer* (= äußere plexiforme Schicht), G: ONL = *engl. outer nuclear layer* (= äußere Körnerschicht), H: RPE = *engl. retinal pigment epithelium* (= retinales Pigmentepithel).

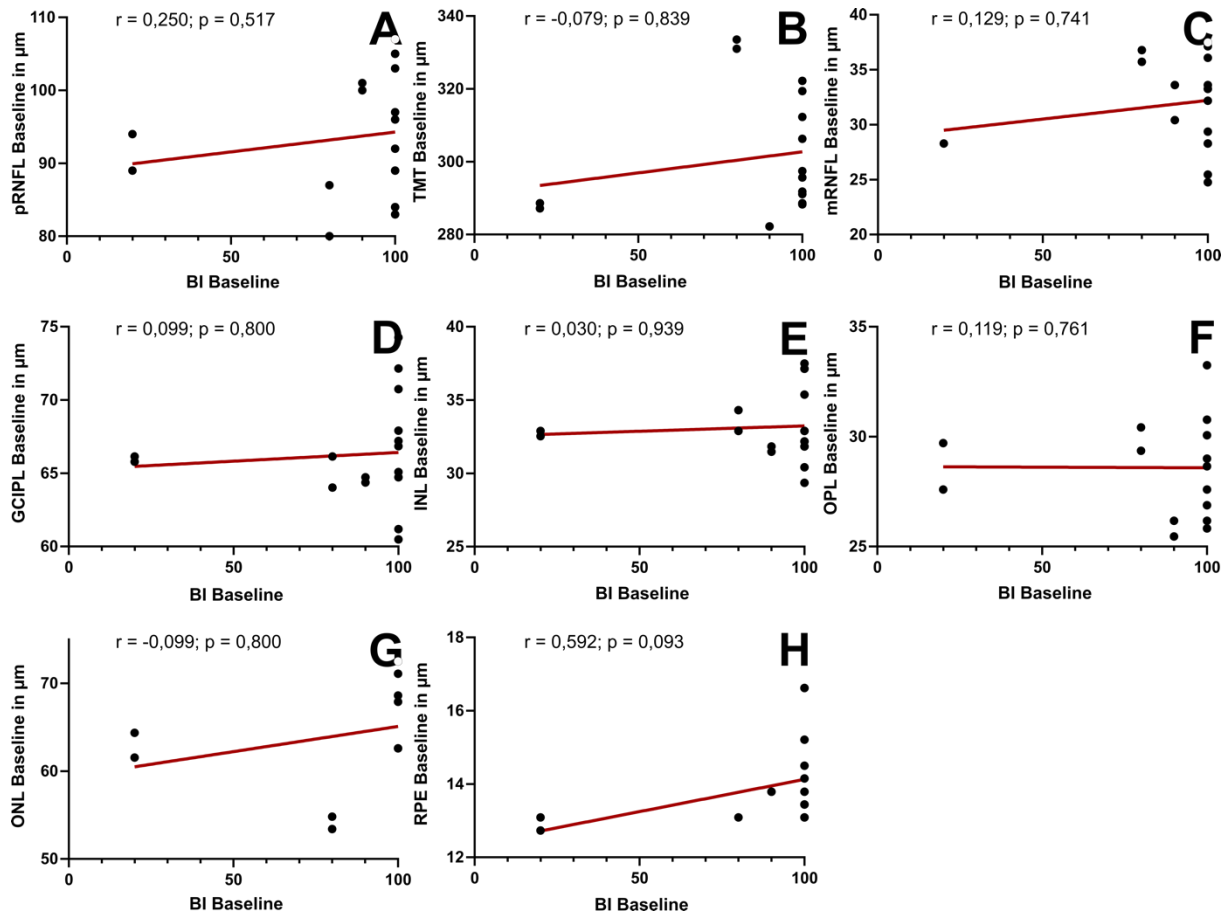


Abb. 7: Zusammenhang zwischen den durchschnittlichen retinalen Schichtdicken (in μm) der 22 ALS-Patienten und dem Barthel-Index (BI) zum Zeitpunkt der *Baseline*-Untersuchung.

Mit Hilfe der bivariaten *Spearman*-Korrelation wurde ein möglicher Zusammenhang zwischen der durchschnittlichen Dicke der jeweiligen Netzhautschicht und dem Barthel-Index (BI) bei Studienbeginn (*Baseline*) untersucht. Die Ergebnisse wurden bei $p \leq 0,05$ als signifikant angesehen und sind mit einem Stern (*) gekennzeichnet. A: pRNFL = *engl. peripapillary retinal nerve fibre layer* (= peripapilläre retinale Nervenfaserschicht), B: TMT = *engl. total macular thickness* (= Gesamtdicke im Bereich der *Macula lutea*), C: mRNFL = *engl. macular retinal nerve fibre layer* (= makuläre retinale Nervenfaserschicht), D: GCIPL = GCL = *engl. ganglion cell layer* (= Ganglienzellschicht) + IPL = *engl. inner plexiform layer* (= innere plexiforme Schicht), E: INL = *engl. inner nuclear layer* (= innere Körnerschicht), F: OPL = *engl. outer plexiform layer* (= äußere plexiforme Schicht), G: ONL = *engl. outer nuclear layer* (= äußere Körnerschicht), H: RPE = *engl. retinal pigment epithelium* (= retinales Pigmentepithel).

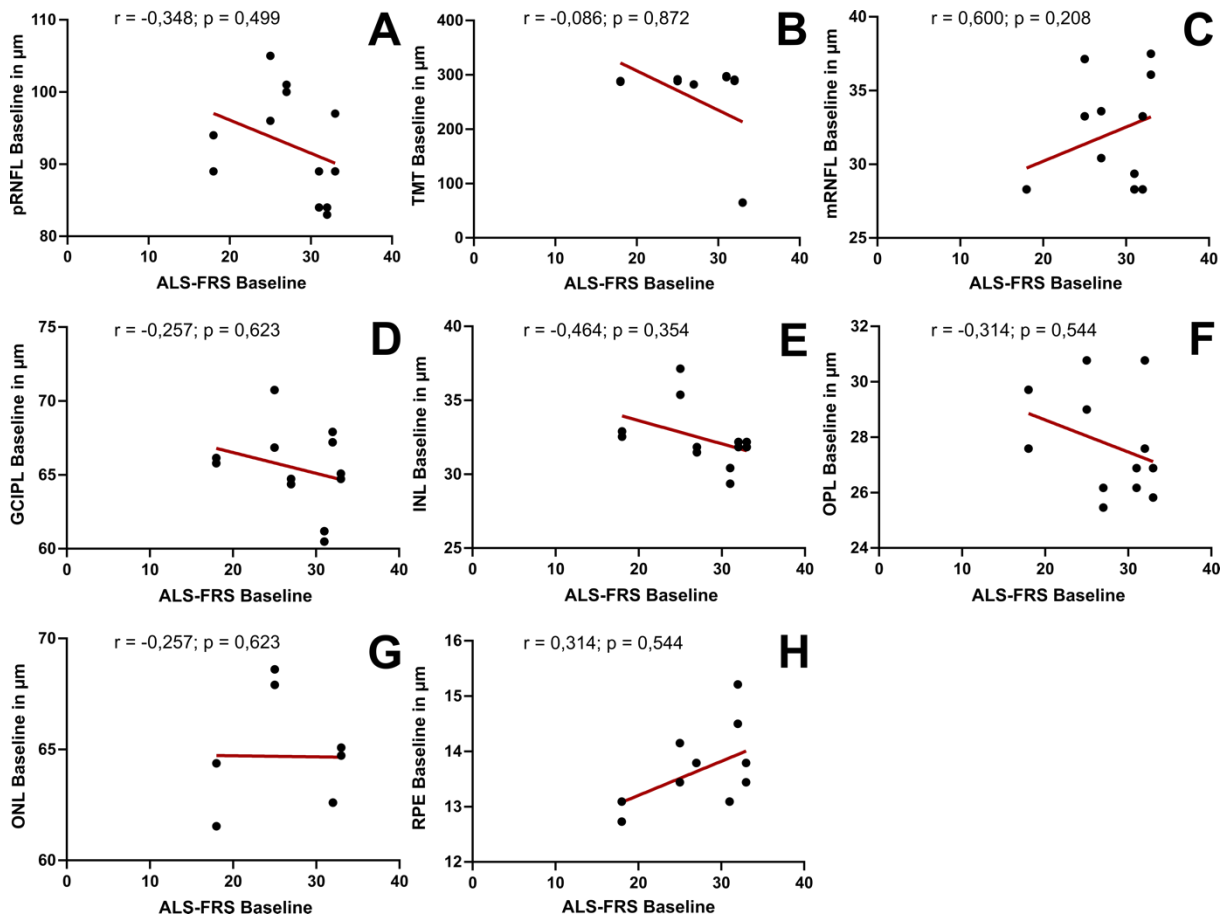


Abb. 8: Zusammenhang zwischen den durchschnittlichen retinalen Schichtdicken (in μm) der 22 ALS-Patienten und der *ALS-Functional Rating Scale* (ALS-FRS) zum Zeitpunkt der *Baseline-Untersuchung*. Mit Hilfe der bivariaten *Spearman*-Korrelation wurde ein möglicher Zusammenhang zwischen der durchschnittlichen Dicke der jeweiligen Netzhautschicht und der *ALS-Functional Rating Scale* (ALS-FRS) bei Studienbeginn (*Baseline*) untersucht. Die Ergebnisse wurden bei $p \leq 0,05$ als signifikant angesehen und sind mit einem Stern (*) gekennzeichnet. A: pRNFL = *engl. peripapillary retinal nerve fibre layer* (= peripapilläre retinale Nervenfaserschicht), B: TMT = *engl. total macular thickness* (= Gesamtdicke im Bereich der *Macula lutea*), C: mRNFL = *engl. macular retinal nerve fibre layer* (= makuläre retinale Nervenfaserschicht), D: GCIPL = GCL = *engl. ganglion cell layer* (= Ganglienzellschicht) + IPL = *engl. inner plexiform layer* (= innere plexiforme Schicht), E: INL = *engl. inner nuclear layer* (= innere Körnerschicht), F: OPL = *engl. outer plexiform layer* (= äußere plexiforme Schicht), G: ONL = *engl. outer nuclear layer* (= äußere Körnerschicht), H: RPE = *engl. retinal pigment epithelium* (= retinales Pigmentepithel).

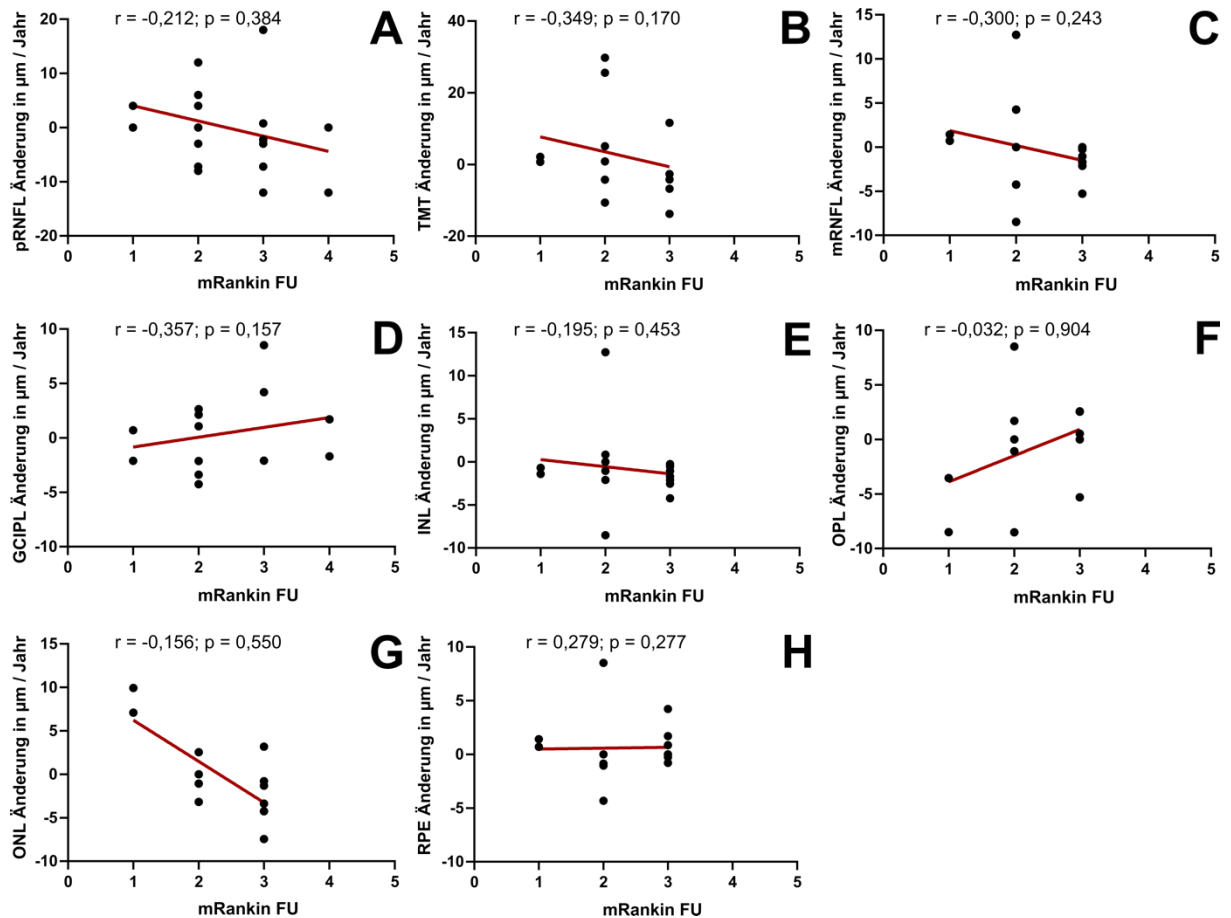


Abb. 9: Zusammenhang zwischen den annualisierten Änderungsrate der retinalen Schichtdicken (in μm) der 22 ALS-Patienten nach 12 Monaten und der modifizierten Rankin-Skala (mRankin) zum Zeitpunkt der *Follow-up*-Untersuchung. Diese erfolgte bei den ALS-Patienten durchschnittlich nach 5,23 ($\pm 3,4$) Monaten (Median 5 Monate) ($p < 0,001$, Zweistichproben-t-Test). Mit Hilfe der bivariaten *Spearman*-Korrelation wurde ein möglicher Zusammenhang zwischen der annualisierten Veränderung der jeweiligen Dicke der Netzhautschicht nach 12 Monaten und der modifizierten Rankin-Skala (mRankin) bei der Nachuntersuchung (*Follow-up*, FU) analysiert. Die Ergebnisse wurden bei $p \leq 0,05$ als signifikant angesehen und sind mit einem Stern (*) gekennzeichnet. A: pRNFL = *engl. peripapillary retinal nerve fibre layer* (= peripapilläre retinale Nervenfaserschicht), B: TMT = *engl. total macular thickness* (= Gesamtdicke im Bereich der *Macula lutea*), C: mRNFL = *engl. macular retinal nerve fibre layer* (= makuläre retinale Nervenfaserschicht), D: GCIPL = GCL = *engl. ganglion cell layer* (= Ganglienzellschicht) + IPL = *engl. inner plexiform layer* (= innere plexiforme Schicht), E: INL = *engl. inner nuclear layer* (= innere Körnerschicht), F: OPL = *engl. outer plexiform layer* (= äußere plexiforme Schicht), G: ONL = *engl. outer nuclear layer* (= äußere Körnerschicht), H: RPE = *engl. retinal pigment epithelium* (= retinales Pigmentepithel).

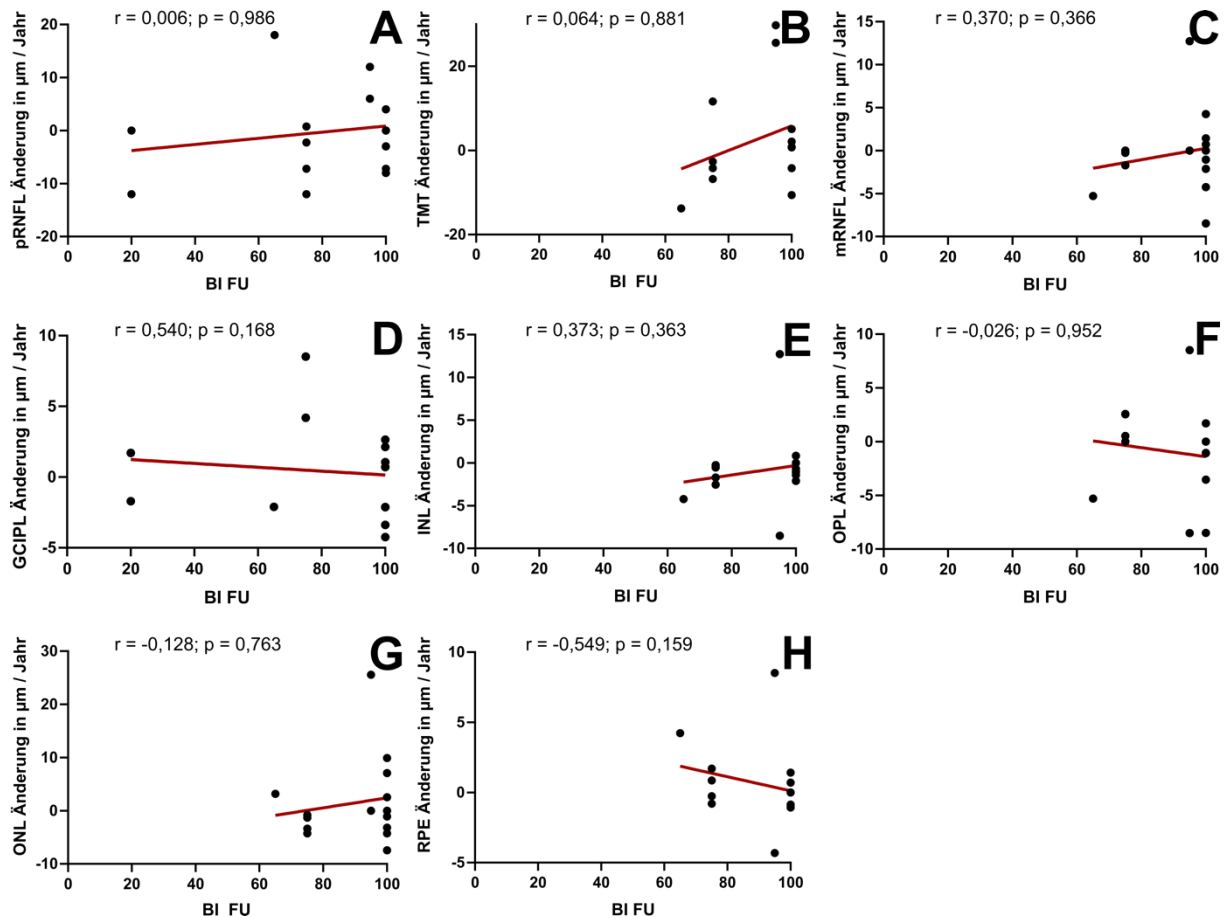


Abb. 10: Zusammenhang zwischen den annualisierten Änderungsraten der retinalen Schichtdicken (in μm) der 22 ALS-Patienten nach 12 Monaten und dem Barthel-Index (BI) zum Zeitpunkt der *Follow-up*-Untersuchung. Diese erfolgte bei den ALS-Patienten durchschnittlich nach 5,23 (+/-3,4) Monaten (Median 5 Monate) ($p < 0,001$, Zweistichproben-t-Test). Mit Hilfe der bivariaten *Spearman*-Korrelation wurde ein möglicher Zusammenhang zwischen der annualisierten Veränderung der jeweiligen Dicke der Netzhautschicht nach 12 Monaten und dem Barthel-Index (BI) bei der Nachuntersuchung (*Follow-up*, FU) analysiert. Die Ergebnisse wurden bei $p \leq 0,05$ als signifikant angesehen und sind mit einem Stern (*) gekennzeichnet. A: pRNFL = engl. *peripapillary retinal nerve fibre layer* (= peripapilläre retinale Nervenfaserschicht), B: TMT = engl. *total macular thickness* (= Gesamtdicke im Bereich der *Macula lutea*), C: mRNFL = engl. *macular retinal nerve fibre layer* (= makuläre retinale Nervenfaserschicht), D: GCIPL = GCL = engl. *ganglion cell layer* (= Ganglienzellschicht) + IPL = engl. *inner plexiform layer* (= innere plexiforme Schicht), E: INL = engl. *inner nuclear layer* (= innere Körnerschicht), F: OPL = engl. *outer plexiform layer* (= äußere plexiforme Schicht), G: ONL = engl. *outer nuclear layer* (= äußere Körnerschicht), H: RPE = engl. *retinal pigment epithelium* (= retinales Pigmentepithel).

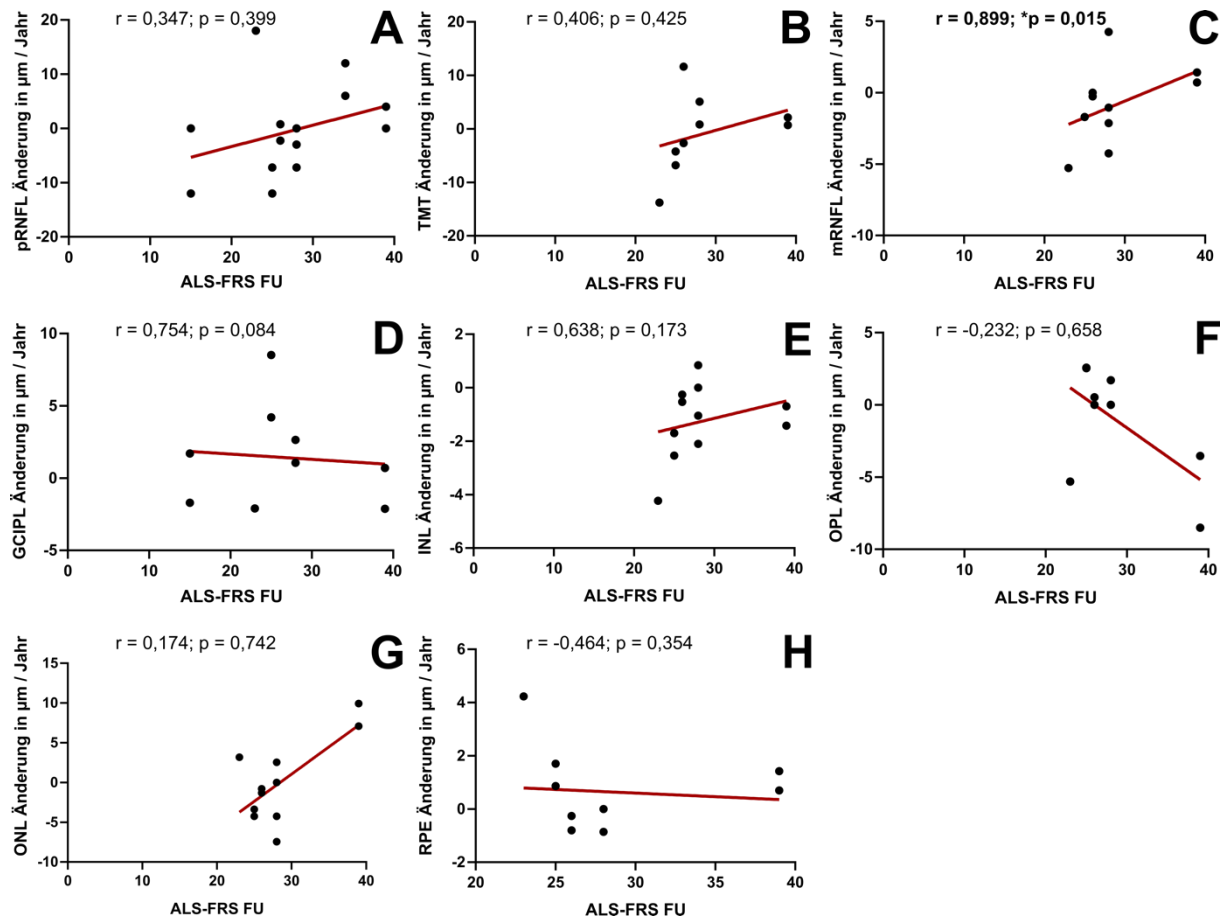


Abb. 11: Zusammenhang zwischen den annualisierten Änderungsraten der retinalen Schichtdicken (in μm) der 22 ALS-Patienten nach 12 Monaten und der ALS-Functional Rating Scale (ALS-FRS) zum Zeitpunkt der Follow-up-Untersuchung. Diese erfolgte bei den ALS-Patienten durchschnittlich nach 5,23 ($\pm 3,4$) Monaten (Median 5 Monate) ($p < 0,001$, Zweistichproben-t-Test). Mit Hilfe der bivariaten *Spearman*-Korrelation wurde ein möglicher Zusammenhang zwischen der annualisierten Veränderung der jeweiligen Dicke der Netzhautschicht nach 12 Monaten und der ALS-Functional Rating Scale (ALS-FRS) bei der Nachuntersuchung (Follow-up, FU) analysiert. Die Ergebnisse wurden bei $p \leq 0,05$ als signifikant angesehen und sind mit einem Stern (*) gekennzeichnet. A: pRNFL = engl. *peripapillary retinal nerve fibre layer* (= peripapilläre retinale Nervenfaserschicht), B: TMT = engl. *total macular thickness* (= Gesamtdicke im Bereich der *Macula lutea*), C: mRNFL = engl. *macular retinal nerve fibre layer* (= makuläre retinale Nervenfaserschicht), D: GCIPL = GCL = engl. *ganglion cell layer* (= Ganglienzellschicht) + IPL = engl. *inner plexiform layer* (= innere plexiforme Schicht), E: INL = engl. *inner nuclear layer* (= innere Körnerschicht), F: OPL = engl. *outer plexiform layer* (= äußere plexiforme Schicht), G: ONL = engl. *outer nuclear layer* (= äußere Körnerschicht), H: RPE = engl. *retinal pigment epithelium* (= retinales Pigmentepithel).

4. Diskussion

4.1 Beantwortung der Fragestellung

Die vorliegende Arbeit untersuchte die Fragestellung, inwiefern die OCT bei der Amyotrophen Lateralsklerose als ein Beispiel einer neurodegenerativen Erkrankung zur Beurteilung des Krankheitsverlaufes eingesetzt werden kann und inwiefern sich mithilfe dieser Untersuchungsmethode möglicherweise Aussagen über die Krankheitsprogression treffen lassen. Die Fragen aus 1.4 sind somit wie folgt zu beantworten:

1. Zum Zeitpunkt der *Baseline*-Untersuchung zeigten sich signifikante reduzierte Netzhautschichtdicken für die ALS-Patienten im Vergleich zu den gesunden Kontrollprobanden für die pRNFL ($p < 0,001$), die TMT ($p = 0,005$), die GCIPL ($p < 0,001$) und die INL ($p = 0,010$). Im longitudinalen Verlauf ergab sich jedoch keine signifikante Abnahme retinaler Schichtdicken bei Patienten mit ALS. Es fällt eine insgesamt große Streuung der Messergebnisse bei den ALS-Patienten im Vergleich zu den gesunden Kontrollen auf (s. Abb. 4 und 5).
2. In der Querschnittsanalyse zum Zeitpunkt der *Baseline*-Untersuchung korrelierten die GCIPL ($p = 0,037$) und die INL ($p = 0,027$) signifikant negativ mit der modifizierten Rankin-Skala. Eine erniedrigte Schichtdicke geht also mit einem erhöhten Punktwert des mRankin - was einer schwerwiegenderen Symptomatik entspricht - einher. Im longitudinalen Verlauf ergab sich eine signifikant positive Abhängigkeit der annualisierten Änderungsrate der mRNFL mit der ALS-FRS ($p = 0,015$). Dies entspricht einer Abnahme der Schichtdicke bei gleichzeitiger Reduktion des ALS-FRS-Wertes und lässt Rückschlüsse auf einen progredienten Krankheits- und Behinderungsverlauf zu. Weitere signifikante Korrelationen zwischen den Netzhautschichtdicken und/oder deren Veränderungen und den klinischen Scores konnten nicht eruiert werden (s. Tabelle 3 und Abb. 6 bis 11).

4.2 Interpretation der Ergebnisse

4.2.1 Vergleich der retinalen Schichtdicken im Querschnitt

Zuvor durchgeführte Querschnittsstudien konnten retinale Veränderungen bei Patienten mit ALS mit Hilfe der OCT nachweisen und strukturelle Hinweise für die Beteiligung des visuellen Systems an den neurodegenerativen Prozessen der Erkrankung herausstellen. Volpe et al. berichteten, dass in einer Querschnittsanalyse bei ALS-Patienten im Vergleich zu gesunden Kontrollprobanden das gesamte Makulavolumen (TMT) signifikant dünner war und bei 37,5 % der Patienten mit ALS die Durchschnittsdicke der pRNFL unterhalb der ersten Perzentile lag [63]. Sie schlussfolgerten, dass die Gesamtdicke der Makula und pRNFL umgekehrt mit der Dauer der Krankheit korrelieren, sodass sich eine vermehrte Reduktion der Schichtdicken mit fortgeschrittener Krankheitsdauer zeigte. Zusätzlich offenbarte die histopathologische Analyse einen Verlust von Axonen der retinalen Ganglienzellen, was mit der in der OCT beobachteten Ausdünnung der Makula vereinbar ist [63]. Des Weiteren stellten Ringelstein et al. und Rohani et al. die Vermutung auf, dass die Ausdünnung der pRNFL mit der Wallerschen Degeneration infolge des Untergangs kortikaler Neurone zusammenhängen könnte [57, 64].

In hiesiger Arbeit ließen sich ebenfalls signifikant reduzierte Schichtdickenwerte bei ALS-Patienten im Vergleich zu gesunden Kontrollprobanden durch die hochauflösende SD-OCT-Technik erfassen. Zum Zeitpunkt der *Baseline*-Untersuchung zeigten sich bei den ALS-Patienten signifikant verminderte Schichtdicken für die peripapilläre retinale Nervenfaserschicht (pRNFL), für die Gesamtdicke im Bereich der *Macula lutea* (TMT), für die Ganglienzellschicht (GCL) - mit der inneren plexiformen Schicht (IPL) zur GCIPL zusammengefasst - sowie für die innere Körnerschicht (INL). Auch zum Zeitpunkt der *Follow-up*-Untersuchung konnten im Gruppenvergleich reduzierte Schichtdickenwerte sowohl für die pRNFL als auch für die GCIPL bei den ALS-Patienten detektiert werden.

In der retinalen Nervenfaserschicht (RNFL) liegen die Axone der Ganglienzellen. Die verminderte pRNFL-Dicke zeigt somit die für die ALS bekannte axonale Schädigung an. Ursächlich hierfür könnten eine Pathologie der Mitochondrien im Sinne einer Veränderung ihrer Morphologie, ihrer Funktion und/oder ihrer Verteilung, ein gestörter axonaler Transport und eine Modifikation von Ionenkonzentrationen

sein [65]. Letztere sind durch genetische Mutationen bedingt, die zu einer Dysfunktion von Ionenkanälen innerhalb der Axone führen und einen erhöhten Natrium- und reduzierten Kaliumstrom zur Folge haben. Die daraus resultierende axonale Übererregbarkeit bedingt eine Degeneration der Neurone. Diese kann auch durch einen Anstieg der Calciumkonzentration hervorgerufen werden, der wiederum durch die Aktivierung calciumabhängiger Enzyme ausgelöst wird [66].

Aufgrund der eingeschränkten optischen Differenzierbarkeit wurden die GCL und die IPL zur GCIPL zusammengefasst. In der IPL bilden die Axone der Bipolarzellen der inneren Körnerschicht (INL) Synapsen mit den multipolaren Ganglienzellen der Ganglienzellschicht (GCL) [41]. Durch die im Rahmen der ALS auftretende Neurodegeneration und der damit einhergehenden Schädigung der Axone in der retinalen Nervenfaserschicht wäre also ein Untergang bzw. eine funktionelle Beeinträchtigung der Ganglienzellen und/oder eine verminderte Synapsenbildung denkbar, die die Schichtdickenreduktion der GCIPL erklären würden.

Die signifikante Ausdünnung der angrenzenden INL könnte entweder ebenfalls durch einen primären Degenerationsmechanismus bedingt sein, der direkt die Retina und somit die Zellkörper (*Perikarya*) von der sich in der INL befindenden Bipolar-, Horizontal- und amakrinen Zellen betreffen würde. Denkbar wäre aber auch ein sekundärer Degenerationsprozess - ausgehend vom visuellen Kortex, für den eine Beteiligung bei der ALS beschrieben ist [67] - indem es bei gleichzeitiger signifikanter Ausdünnung der GCL zu einem möglichen retrograden, über die Synapsen hinausgehenden Untergang der Zellkörper in der INL und einer damit verbundenen Abnahme der Schichtdicke käme. Die Horizontal- und amakrinen Zellen zählen zu den Interneuronen und sind in der Retina für die sog. Signalkonvergenz verantwortlich [41]. Sie erhöhen die Kontrastempfindlichkeit des Auges und ermöglichen es, dass sich die Retina an verschiedene Helligkeitssituationen anpasst. Dies wird vor allem durch die inhibitorischen Einflüsse der Transmitter GABA und Glycin vermittelt [68-70]. Eine Reduktion der GABA-Rezeptor-Untereinheit im Motorcortex und/oder ein Verlust essentieller Proteine in GABAergen Interneuronen führt zu einem Untergang inhibitorischer Nervenzellen [71-73]. Dies resultiert in einer Dysbalance zwischen exzitatorischen und inhibitorischen Neurotransmittern und bedingt die für die ALS bekannte kortikale Übererregbarkeit (*engl. interneuronopathy*). Es kommt zur sog. Exzitotoxizität, die durch die exzessive Stimulation durch den Transmitter Glutamat zu einer Schädigung bzw. einem Untergang von Nervenzellen führt [74, 75].

Bezogen auf die retinalen Veränderungen käme es durch den Verlust oder die Dysfunktion der Horizontal- und amakrinen Zellen zu einem Mangel an inhibitorisch wirkendem GABA und daraus folgend ebenfalls zu einer erhöhten Menge von Glutamat, die potentiell schädlich für die Bipolarzellen wäre. Der damit einhergehende Zelluntergang würde in logischer Konsequenz eine Schichtdickenreduktion der INL erklären.

Erwähnenswert ist, dass die Ergebnisse des Gruppenvergleichs (Patienten vs. Kontrollen) der retinalen Schichtdicken zum Zeitpunkt der *Baseline*-Untersuchung ihre Signifikanz verlieren, sobald für das Alter korrigiert wird. Dies ist mutmaßlich auf den inversen Altersunterschied zwischen der Patientengruppe und der gesunden Kontrollgruppe zurückzuführen (63 (+/-14) gegenüber 37 (+/-10) Jahren ($p < 0,001$, Zweistichproben-t-Test)). Das im Verhältnis zu den Kontrollen fortgeschrittene Alter der ALS-Patienten lässt sich dadurch erklären, dass der häufigste Erkrankungsbeginn für die sporadische ALS zwischen dem sechsten und achten Lebensjahrzehnt liegt. Bei der familiären Form manifestiert sich die Erkrankung im Durchschnitt zehn Jahre früher. Diese tritt jedoch nur in 5 - 10 % der Fälle als Solche auf [1, 7].

4.2.2 Vergleich der retinalen Schichtdicken im longitudinalen Verlauf

Im Gegensatz zu den signifikanten Ergebnissen zum Zeitpunkt der *Baseline*-Untersuchung ließen sich in der vorliegenden Arbeit keine signifikanten longitudinalen Veränderungen der retinalen Strukturen im Sinne einer Schichtdickenreduktion bei Patienten mit ALS nachweisen. Zu einer anderen Erkenntnis kam die Studie von Rojas et al. aus dem Jahr 2019, in der die frühen visuellen Veränderungen von Patienten mit ALS und die von gesunden Kontrollprobanden ebenfalls mittels OCT untersucht wurden [76]. Es erfolgten eine *Baseline*-Untersuchung sowie eine nach sechs Monaten durchgeführte *Follow-up*-Untersuchung. Zusätzlich wurden die visuellen Veränderungen mit der neurologischen Beeinträchtigung der ALS-Patienten anhand der ALS-FRS korreliert. Die mittlere Zeit ab der Diagnosestellung bei den ALS-Patienten betrug 10,80 (+/-5,5) Monate [76].

Als Erstes präsentierten Rojas et al. eine durch die Analyse mithilfe der OCT detektierte signifikant gesteigerte Dicke der Makula (TMT) des temporalen und unteren Bereichs des inneren Makularings bei den ALS-Patienten gegenüber der Gruppe der gesunden Kontrollprobanden zum ersten Untersuchungszeitpunkt (*Baseline*) [76].

Sie mutmaßten, dass dies durch einen Prozess der Proteinaggregation und/oder Neuroinflammation verursacht werden könnte, da Mikroglia eine wichtige Rolle bei der Pathogenese der ALS spielen [22]. Aktivierte Mikroglia zeigen morphologische Veränderungen und könnten daher die Ursache für die in der Studie in einigen Netzhautbereichen beobachtete erhöhte Schichtdicke sein. Im weiteren Verlauf konnten Rojas et al. eine signifikante Ausdünnung der TMT sowie der pRNFL in der *Follow-up*-Untersuchung der ALS-Patienten im Vergleich zur *Baseline*-Untersuchung zeigen [76]. Bemerkenswert ist also die Entwicklung von einer Zunahme der Dicke zu einer darauffolgenden Ausdünnung sowohl für die Makula als auch für die pRNFL. Demgegenüber stehen die Resultate dieser Arbeit, die in den Querschnittsanalysen (Patienten vs. Kontrollen *Baseline*; Patienten vs. Kontrollen *Follow-up*) signifikant reduzierte retinale Schichtdickenwerte für die ALS-Patienten zeigten und keine signifikanten longitudinalen Ergebnisse offenbarten. Würde es sich in dieser Arbeit zum Zeitpunkt der *Baseline*-Messung ebenfalls um signifikant erhöhte Schichtdickenwerte bei den ALS-Patienten handeln, könnten die von Rojas et al. detektierten Veränderungen im Verlauf der Erkrankung erklären, warum es in hiesiger Analyse keine signifikanten Unterschiede zwischen der *Baseline*-Untersuchung und der *Follow-up*-Untersuchung für die ALS-Patienten gibt, da es zu einem Übergang von der Verdickung zur Ausdünnung mit einem Zwischenstadium normaler Schichtdickenwerte gekommen sein könnte und die Patienten mutmaßlich zu diesem Zeitpunkt untersucht worden wären.

Darüber hinaus könnte auch die Zeitdifferenz zwischen den Untersuchungszeitpunkten (*Baseline* vs. *Follow-up*) ein Kriterium sein, dass die Ergebnisse dieser longitudinalen Studie erklärt. Die *Follow-up*-Messung wurde im Durchschnitt nach bereits 5,23 (+/-3,4) Monaten (Median 5 Monate) durchgeführt. Es wäre anzunehmen, dass aufgrund der fehlenden signifikanten retinalen Schichtdickenreduktionen über diesen kurzen Zeitraum der Prozess der Abnahme der Schichtdicken insgesamt länger dauert als die Patienten in der Studie untersucht wurden. Dies steht jedoch im Gegensatz zu den Ergebnissen der Arbeit von Rojas et al., in der der Abstand zwischen den OCT-Messungen ebenfalls nur sechs Monate betrug [76]. Dennoch bleibt fraglich, ob sich in hiesiger Arbeit signifikante Ergebnisse im longitudinalen Verlauf zeigen würden, wenn sich die Patienten der *Follow-up*-Untersuchung zu einem späteren Zeitpunkt unterzogen hätten. In diesem Zusammenhang bleibt auf die in der hier vorliegenden Arbeit signifikanten Schichtdickenreduktionen der GCIPL und der

INL in der Gruppe der gesunden Kontrollprobanden hinzuweisen. Der Beobachtungszeitraum betrug hier durchschnittlich 72,48 ($\pm$ 36,43) Monate (Median 84 Monate) und war dementsprechend deutlich länger als der der ALS-Patienten. Inwiefern diese Ergebnisse jedoch im Gruppenvergleich eine Aussage in Bezug auf die Pathophysiologie der ALS und den damit einhergehenden retinalen Veränderungen erlauben, bleibt aufgrund der geringen Fallzahl von Probanden und der fehlenden Normalwerte aus der Normalbevölkerung offen.

Des Weiteren ist auf die Erkrankungsdauer zum Zeitpunkt der *Baseline*-Untersuchung hinzuweisen, denn diese war sowohl in der hier dargestellten Arbeit mit durchschnittlich 5,15 ($\pm$ 21,4) Monaten (Median 0 Monate) als auch bei den von Rojas et al. rekrutierten Patienten mit 10,80 ($\pm$ 5,5) Monaten deutlich kürzer als in anderen veröffentlichten Studien, einschließlich Ringelstein et al. (22,3 ($\pm$ 22,5) Monate), Rohani et al. (14,5 ($\pm$ 11,3) Monate), Hübers et al. (im Bereich von 2 bis 98 Monaten), und Simonett et al. (43,2 ($\pm$ 43,4) Monate) [57, 64, 76-78]. Die Ergebnisse von Rojas et al. erlauben die Schlussfolgerung, dass es zu Beginn der Erkrankung zu einer Zunahme der Makuladicke kommt und dies die ersten retinalen Veränderungen bei der ALS darstellen [76]. Aus den Querschnittsanalysen (Patienten vs. Kontrollen *Baseline*; Patienten vs. Kontrollen *Follow-up*) dieser Arbeit gehen hingegen signifikant verminderte retinale Schichtdickenwerte für die ALS-Patienten hervor. Dies lässt die Vermutung zu, dass - in welcher Ausprägung auch immer - bereits bei frühen Stadien der ALS eine Beteiligung des visuellen Systems vorliegt. Inwiefern sich die detektierten retinalen Veränderungen jedoch im longitudinalen Verlauf darstellen, kann zum aktuellen Zeitpunkt nicht eindeutig beantwortet werden.

Im Gegensatz zu den bisher beschriebenen Erkenntnissen anderer Studien, zeigte eine Studie von Roth et al. aus dem Jahr 2013 keine signifikanten Veränderungen der retinalen Schichtdicken im Längsschnitt bei ALS-Patienten, untersucht mithilfe der OCT [79]. Sie mutmaßten, dass die bei anderen neurologischen Erkrankungen durch die OCT detektierte Erfassung der Neurodegeneration nicht auf die Beurteilung der ALS angewendet werden kann, obgleich auch sie auf die entsprechend in der Literatur beschriebene visuelle Beteiligung bei der ALS hinwiesen.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die signifikanten Ergebnisse zuvor durchgeführter Querschnittsstudien in dieser Arbeit bestätigt werden konnten und sich mittels der OCT reduzierte retinale Schichtdickenwerte für ALS-Patienten als Ausdruck der Neurodegeneration nachweisen ließen.

Die fehlenden signifikanten Resultate im longitudinalen Verlauf sind mutmaßlich vor allem auf die Patientenauswahl zurückzuführen. Dabei scheint sowohl dem Zeitpunkt der *Follow-up*-Messung als auch der Krankheitsdauer eine entscheidende Bedeutung zuzukommen. Ursächlich mögen die rasche Progression der Erkrankung und die damit verbundene Schwierigkeit sein, die Patienten über einen längeren Zeitraum zu untersuchen. Gleichzeitig macht das heterogene klinische Bild der ALS die Vergleichbarkeit der durchgeführten Studien schwierig.

4.2.3 Zusammenhang der Schichtdickenwerte und der klinischen Scores

Um die Frage beantworten zu können, ob anhand der Ergebnisse der OCT-Messungen eine Aussage über den klinischen Zustand der ALS-Patienten und/oder die Krankheitsprogression getroffen werden kann, wurden wie beschrieben die modifizierte Rankin-Skala, der Barthel-Index und die *ALS-Functional Rating Scale* zu Hilfe genommen.

Die modifizierte Rankin-Skala stellt das am häufigsten verwendete Maß für die Erfassung der neurologischen Beeinträchtigung in klinischen Studien und im Rahmen der medizinischen Qualitätssicherung dar. Bei ALS-Patienten wird die Skala ebenfalls angewandt und hat dabei zum Ziel, die Unabhängigkeit der Patienten zu beurteilen [29-32]. Sowohl die körperliche als auch die geistige Anpassung an die neurologische Beeinträchtigung können mit der Skala erfasst werden. Je niedriger der Punktwert ist, desto weniger symptomatisch und somit weniger beeinträchtigt sind die Patienten. In der Querschnittsanalyse zum Zeitpunkt der *Baseline*-Untersuchung zeigten sich jeweils signifikant negative Korrelationen der GCIPL ($p = 0,037$) und der INL ($p = 0,027$) mit der modifizierten Rankin-Skala. Eine erniedrigte Schichtdicke geht also mit einem erhöhten Punktwert des mRankin - was einer schwerwiegenderen Symptomatik entspricht - einher. In der longitudinalen Analyse ergaben sich keine signifikanten Zusammenhänge zwischen den retinalen Schichtdickenveränderungen und dem klinischen Parameter. Erwarten würde man dabei ebenfalls eine signifikant negative Abhängigkeit, sodass es bezogen auf die Netzhautveränderungen zu einer Abnahme der Schichtdicke bei gleichzeitiger Zunahme des Punktwertes des mRankin käme, was mit einer Symptomaggravation und somit einer zunehmenden Krankheitsprogression in Einklang zu bringen wäre.

Der Barthel-Index beurteilt die Alltagskompetenz von Personen, die an neurodegenerativen Krankheiten leiden. Dabei reicht die Summe der Punkte von 0 (= vollständige Abhängigkeit) bis hin zu 100 (= völlige Selbstständigkeit) [33]. In diesem Zusammenhang würde eine positive Korrelation bedeuten, dass eine reduzierte Schichtdicke mit einem niedrigen Punktwert des Barthel-Index und einer damit verbundenen Symptomschwere und eine Schichtdickenreduktion mit einer Abnahme des Punktwertes und einer entsprechenden Behinderungsprogression einhergehen. Jedoch ergaben sich in der vorliegenden Arbeit weder zum Zeitpunkt der *Baseline*-Untersuchung noch longitudinal signifikante Abhängigkeiten zwischen einer der Netzhautschichtdicken und/oder deren Veränderungen und dem Barthel-Index. Bei der ALS-FRS gilt, dass eine niedrige Gesamtpunktzahl für eine ausgeprägte Symptomatik des Betroffenen spricht und umgekehrt eine hohe Gesamtpunktzahl für keine Funktionseinschränkung steht [34]. In der Analyse zum Zeitpunkt der *Baseline*-Untersuchung würde ein positiver Zusammenhang somit ausdrücken, dass die Netzhautschichten bei den weniger symptomatischen Patienten mit einer höheren Gesamtpunktzahl der ALS-FRS dicker sind als bei denen, die durch die Erkrankung stärker beeinträchtigt sind und dadurch weniger Punkte auf der Skala erreichen. In der longitudinalen Analyse korrelierte die annualisierte Änderungsrate der mRNFL signifikant positiv mit der ALS-FRS ($p = 0,015$). Dies entspricht einer Zunahme des Schichtdickenwertes bei gleichzeitiger Zunahme des ALS-FRS-Wertes, was dazu passt, dass umgekehrt die Schichtdicke mit progredientem Krankheits- und Behinderungsverlauf (= niedriger ALS-FRS-Wert) abnimmt. Im Gegensatz zu der in hiesiger Arbeit detektierten positiven Korrelation zwischen der mRNFL und der ALS-FRS präsentieren Rojas et al. eine negative Korrelation zwischen der Dicke der pRNFL und der ALS-FRS bei den ALS-Patienten [76]. Auffällig ist außerdem, dass der Mittelwert der ALS-FRS in der *Follow-up*-Untersuchung (Mittelwert = 35,6 +/- 14,08) höher war als zum Zeitpunkt der *Baseline*-Untersuchung (Mittelwert = 29,5 +/- 14,89). Folglich käme es bei den ALS-Patienten zwar zu einer Abnahme der Schichtdicke (der pRNFL) im longitudinalen Verlauf, was der Analyse von Rojas et al. zufolge aber mit einer geringeren Symptomatik und somit einem besseren klinischen Zustand der Patienten einhergehen würde (= Zunahme des ALS-FRS-Wertes) [76]. Dies widerspricht der Hypothese, dass eine potentielle Schichtdickenreduktion mit einer Behinderungsprogression (= Abnahme des ALS-FRS-Wertes) vereinbar ist. Darüber hinaus ist darauf hinzuweisen, dass in der Studie von Rojas et al. zum

Zeitpunkt der *Baseline*-Untersuchung 20 ALS-Patienten untersucht wurden, wohingegen nur zehn der 20 Erstpatienten aufgrund sehr schlechter Gesundheitszustände, Atemnot oder zusätzlich aufgetretenen Erkrankungen nachfolgend beurteilt werden konnten [76]. Rohani et al. fanden ebenfalls zum größten Teil eine direkte Korrelation zwischen der durchschnittlichen pRNFL-Dicke und der ALS-FRS [64]. Dies steht im Gegensatz zu den Ergebnissen der Studien von Ringelstein et al., Volpe et al. und Hübers et al., die keine Korrelation zwischen den OCT-Parametern und der ALS-FRS feststellten [57, 63, 77].

Trotz der in dieser Arbeit detektierten signifikanten Ergebnisse der Korrelationen zwischen den retinalen Schichtdicken und deren Veränderungen und den klinischen Scores bleibt auf die geringe Anzahl an Patienten, bei denen die Parameter zu beiden Untersuchungszeitpunkten erhoben werden konnten, hinzuweisen. Insgesamt wird deutlich, dass sowohl in der Studie von Rojas et al. als auch in der hier vorliegenden Arbeit die Anzahl der in die Studie eingeschlossenen Patienten sehr gering war, was mutmaßlich auf die restriktiven Einschlusskriterien zurückzuführen ist, die die Quantität der rekrutierten Patienten stark einschränken [76]. Die begrenzte Patientenanzahl, bei denen überhaupt eine longitudinale Untersuchung durchgeführt werden konnte, ließe sich möglicherweise als limitierender Faktor dieser Arbeit identifizieren. Die Patienten, die schwerer erkranken oder bei denen es zu einer raschen Progression kommt, könnten somit in dieser Arbeit nicht erfasst worden sein. Folglich können in dem erhobenen Zeitraum ebenfalls weniger OCT-Veränderungen detektiert werden, die die Ergebnisse bedingen würden.

Zuletzt sind auch rein technische Aspekte zu bedenken, die die Vergleichbarkeit der Studien erschweren könnten. So verwendeten sowohl Rojas et al. als auch Roth et al. das OCT-Gerät *CIRRUS*® der Firma Carl Zeiss Meditec AG, wohingegen wir in der Studie das *SPECTRALIS*®-Domain-OCT-Gerät der Firma Heidelberg Engineering GmbH benutzten [76, 79]. Zusätzlich erfolgte die Segmentation der einzelnen retinalen Schichten in den zum Vergleich aufgeführten Studien ausschließlich durch die jeweilige OCT-Geräte-Software. Auf eine manuelle Nachkorrektur wie in dieser Arbeit wurde verzichtet.

5. Fazit

Es bleibt festzuhalten, dass die Erkenntnisse dieser Arbeit die Ergebnisse einiger Studien bestätigen, die Schlussfolgerungen anderer Arbeiten aber wiederum nicht reproduziert werden konnten. Zuvor ließen sich strukturelle Veränderungen am Augenhintergrund von ALS-Patienten insbesondere in Querschnittsstudien mithilfe der OCT quantitativ erfassen und als Verdünnung einzelner retinaler Schichten charakterisieren. Einige Studien haben zudem Korrelationen zwischen den OCT-Parametern und dem klinischen Zustand der Patienten im Sinne einer Behinderungsprogression zeigen können. Im longitudinalen Verlauf ergab sich in dieser Studie jedoch keine signifikante Progression der Schichtdickenabnahme. Die Darstellung longitudinaler Untersuchungen von ALS-Patienten ist nach dem heutigen Kenntnisstand eine von wenigen ophthalmologischen Längsschnittstudien dieser Art. Die limitierte Anzahl von *Follow-up*-Studien könnte auf die Schwierigkeit zurückzuführen sein, ALS-Patienten aufgrund der rasch progredienten Erkrankung und der damit einhergehenden neurologischen Beeinträchtigungen im Verlauf zu untersuchen. Dies stellt eine der Haupteinschränkungen dieser Art von Studien dar. Darüber hinaus zeichnet sich die ALS durch ein sehr heterogenes klinisches Bild aus, was die Vergleichbarkeit der durchgeführten Studien schwierig macht. Es konnte gezeigt werden, dass mithilfe der OCT Informationen zum besseren Verständnis des Krankheitsbildes der ALS erfasst werden können. Die Bedeutung dieser Untersuchungsmethode zur Detektion und Beurteilung der Krankheitsprogression im Laufe der Zeit bleibt jedoch fraglich. Durch Forschung auf dem Gebiet der Genetik und eine bereits im Jahr 2020 stattgefundene Überarbeitung der Diagnosekriterien ist es jedoch denkbar, dass in Zukunft eine frühere Diagnosestellung der ALS möglich sein wird. Dann ist unter Umständen auch die Untersuchung der Patienten über einen mehrjährigen Zeitraum mittels OCT möglich, um die Neurodegeneration anhand der retinalen Veränderungen in Zusammenschau mit der klinischen Krankheitsprogression beurteilen zu können. Gleichzeitig ist aber auch der quantitative Einsatz der OCT bei der ALS von Bedeutung, sodass durch weitere longitudinale Studien - wenn möglich mit einer größeren Anzahl von Patienten - weitere Aussagen über einen potenziellen Nutzen für den klinischen Alltag getroffen werden können.

6. Literaturverzeichnis

1. Brown, R.H. and A. Al-Chalabi, *Amyotrophic Lateral Sclerosis*. The New England Journal of Medicine, 2017. **377**(2): p. 162-172.
2. Schünke, M., E. Schulte, U. Schumacher, M. Voll and K. Wesker, *Kopf, Hals und Neuroanatomie*. Prometheus LernAtlas der Anatomie, © Thieme-Verlag Stuttgart, 2012. **3. Auflage**: p. 398-399.
3. Martin, A., *Anatomie 2, ZNS Teil 1*. MEDI-LEARN Skriptenreihe Anatomie 1-7, 2018. **8. Auflage**: p. 37.
4. Witzel, S. and A. Ludolph, *Amyotrophe Lateralsklerose früh erkennen und behandeln*. DNP - Der Neurologe & Psychiater, 2019: p. **20**(2): p. 56-68.
5. Swinnen, B. and W. Robberecht, *The phenotypic variability of amyotrophic lateral sclerosis*. Nature Reviews Neurology, 2014. **10**(11): p. 661-670.
6. Renton, A.E., A. Chiò and B.J. Traynor, *State of play in amyotrophic lateral sclerosis genetics*. Nature Neuroscience, 2014. **17**(1): p. 17-23.
7. van Es, M.A., O. Hardiman, A. Chio, A. Al-Chalabi, R.J. Pasterkamp, J.H. Veldink and L.H. van den Berg, *Amyotrophic lateral sclerosis*. Lancet, 2017. **390**(10107): p. 2084-2098.
8. Cookson, M.R. and P.J. Shaw, *Oxidative stress and motor neurone disease*. Brain Pathology, 1999. **9**(1): p. 165-186.
9. Perry, T.L., S. Hansen and K. Jones, *Brain glutamate deficiency in amyotrophic lateral sclerosis*. Neurology, 1987. **37**(12): p. 1845-1848.
10. Smith, R.G., L. Siklos, M.E. Alexianu, J.I. Engelhardt, D.R. Mosier, L. Colom, A. Habib Mohamed and S.H. Appel, *Autoimmunity and ALS*. Neurology, 1996. **47**(4 Suppl 2): p. S40-5; discussion S45-6.
11. Desport, J.C., P.M. Preux, L. Magy, Y. Boirie, J.M. Vallat, B. Beaufrère and P. Couratier, *Factors correlated with hypermetabolism in patients with amyotrophic lateral sclerosis*. The American Journal of Clinical Nutrition, 2001. **74**(3): p. 328-334.
12. Afifi, A.K., F.P. Aleu, J. Goodgold and B. MacKay, *Ultrastructure of atrophic muscle in amyotrophic lateral sclerosis*. Neurology, 1966. **16**(5): p. 475-481.

13. Elden, A.C., H.J. Kim, M.P. Hart, A.S. Chen-Plotkin, B.S. Johnson, X. Fang, M. Armakola, F. Geser, R. Greene, M.M. Lu, A. Padmanabhan, D. Clay-Falcone, L. McCluskey, L. Elman, D. Juhr, P.J. Gruber, U. Rüb, G. Auburger, J.Q. Trojanowski, V.M. Lee, V.M. Van Deerlin, N.M. Bonini and A.D. Gitler, *Ataxin-2 intermediate-length polyglutamine expansions are associated with increased risk for ALS*. Nature, 2010. **466**(7310): p. 1069-1075.
14. Müller, K., D. Brenner, P. Weydt, T. Meyer, T. Grehl, S. Petri, J. Grosskreutz, J. Schuster, A.E. Volk, G. Borck, C. Kubisch, T. Klopstock, D. Zeller, S. Jablonka, M. Sendtner, S. Klebe, A. Knehr, K. Günther, J. Weis, K.G. Claeys, B. Schrank, A.D. Sperfeld, A. Hübers, M. Otto, J. Dorst, T. Meitinger, T.M. Strom, P.M. Andersen, A.C. Ludolph and J.H. Weishaupt, *Comprehensive analysis of the mutation spectrum in 301 German ALS families*. Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry, 2018. **89**(8): p. 817-827.
15. Bosco, D.A., G. Morfini, N.M. Karabacak, Y. Song, F. Gros-Louis, P. Pasinelli, H. Goolsby, B.A. Fontaine, N. Lemay, D. McKenna-Yasek, M.P. Frosch, J.N. Agar, J.P. Julien, S.T. Brady and R.H. Brown, Jr., *Wild-type and mutant SOD1 share an aberrant conformation and a common pathogenic pathway in ALS*. Nature Neuroscience, 2010. **13**(11): p. 1396-1403.
16. Mackenzie, I.R., R. Rademakers and M. Neumann, *TDP-43 and FUS in amyotrophic lateral sclerosis and frontotemporal dementia*. Lancet Neurology, 2010. **9**(10): p. 995-1007.
17. Deng, H.X., W. Chen, S.T. Hong, K.M. Boycott, G.H. Gorrie, N. Siddique, Y. Yang, F. Fecto, Y. Shi, H. Zhai, H. Jiang, M. Hirano, E. Rampersaud, G.H. Jansen, S. Donkervoort, E.H. Bigio, B.R. Brooks, K. Ajroud, R.L. Sufit, J.L. Haines, E. Mugnaini, M.A. Pericak-Vance and T. Siddique, *Mutations in UBQLN2 cause dominant X-linked juvenile and adult-onset ALS and ALS/dementia*. Nature, 2011. **477**(7363): p. 211-215.
18. Freischmidt, A., T. Wieland, B. Richter, W. Ruf, V. Schaeffer, K. Müller, N. Marroquin, F. Nordin, A. Hübers, P. Weydt, S. Pinto, R. Press, S. Millecamps, N. Molko, E. Bernard, C. Desnuelle, M.H. Soriani, J. Dorst, E. Graf, U. Nordström, M.S. Feiler, S. Putz, T.M. Boeckers, T. Meyer, A.S. Winkler, J. Winkelmann, M. de Carvalho, D.R. Thal, M. Otto, T. Brännström, A.E. Volk, P. Kursula, K.M. Danzer, P. Lichtner, I. Dikic, T. Meitinger, A.C. Ludolph, T.M. Strom, P.M. Andersen and J.H. Weishaupt, *Haploinsufficiency of TBK1 causes*

- familial ALS and fronto-temporal dementia*. Nature Neuroscience, 2015. **18**(5): p. 631-636.
19. Kwiatkowski, T.J., Jr., D.A. Bosco, A.L. Leclerc, E. Tamrazian, C.R. Vanderburg, C. Russ, A. Davis, J. Gilchrist, E.J. Kasarskis, T. Munsat, P. Valdmanis, G.A. Rouleau, B.A. Hosler, P. Cortelli, P.J. de Jong, Y. Yoshinaga, J.L. Haines, M.A. Pericak-Vance, J. Yan, N. Ticozzi, T. Siddique, D. McKenna-Yasek, P.C. Sapp, H.R. Horvitz, J.E. Landers and R.H. Brown, Jr., *Mutations in the FUS/TLS gene on chromosome 16 cause familial amyotrophic lateral sclerosis*. Science, 2009. **323**(5918): p. 1205-1208.
 20. Brenner, D., R. Yilmaz, K. Müller, T. Grehl, S. Petri, T. Meyer, J. Grosskreutz, P. Weydt, W. Ruf, C. Neuwirth, M. Weber, S. Pinto, K.G. Claeys, B. Schrank, B. Jordan, A. Knehr, K. Günther, A. Hübers, D. Zeller, C. Kubisch, S. Jablonka, M. Sendtner, T. Klopstock, M. de Carvalho, A. Sperfeld, G. Borck, A.E. Volk, J. Dorst, J. Weis, M. Otto, J. Schuster, K. Del Tredici, H. Braak, K.M. Danzer, A. Freischmidt, T. Meitinger, T.M. Strom, A.C. Ludolph, P.M. Andersen and J.H. Weishaupt, *Hot-spot KIF5A mutations cause familial ALS*. Brain, 2018. **141**(3): p. 688-697.
 21. Meyer, T., *Amyotrophic lateral sclerosis (ALS) - diagnosis, course of disease and treatment options*. Deutsche Medizinische Wochenschrift, 2021. **146**(24-25): p. 1613-1618.
 22. Philips, T. and J.D. Rothstein, *Glial cells in amyotrophic lateral sclerosis*. Experimental Neurology, 2014. **262 Pt B**: p. 111-120.
 23. Kang, S.H., Y. Li, M. Fukaya, I. Lorenzini, D.W. Cleveland, L.W. Ostrow, J.D. Rothstein and D.E. Bergles, *Degeneration and impaired regeneration of gray matter oligodendrocytes in amyotrophic lateral sclerosis*. Nature Neuroscience, 2013. **16**(5): p. 571-579.
 24. Brooks, B.R., R.G. Miller, M. Swash and T.L. Munsat, *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.
 25. Agosta, F., A. Al-Chalabi, M. Filippi, O. Hardiman, R. Kaji, V. Meininger, I. Nakano, P. Shaw, J. Shefner, L.H. van den Berg and A. Ludolph, *The El Escorial criteria: strengths and weaknesses*. Amyotrophic Lateral Sclerosis and Frontotemporal Degeneration, 2015. **16**(1-2): p. 1-7.

26. Ludolph, A., V. Drory, O. Hardiman, I. Nakano, J. Ravits, W. Robberecht and J. Shefner, *A revision of the El Escorial criteria - 2015*. Amyotrophic Lateral Sclerosis and Frontotemporal Degeneration, 2015. **16**(5-6): p. 291-292.
27. Turner, M.R., *Diagnosing ALS: the Gold Coast criteria and the role of EMG*. Practical Neurology, 2022. **22**(3): p. 176-178.
28. Ludolph, A., S. Petri and J. Grosskreutz, *Motoneuronerkrankungen*. Leitlinien für Diagnostik und Therapie in der Neurologie, Deutsche Gesellschaft für Neurologie, 2021. AWMF-Registernummer: 030/001.
29. Rankin, J., *Cerebral vascular accidents in patients over the age of 60. II. Prognosis*. Scottish Medical Journal, 1957. **2**(5): p. 200-215.
30. van Swieten, J.C., P.J. Koudstaal, M.C. Visser, H.J. Schouten and J. van Gijn, *Interobserver agreement for the assessment of handicap in stroke patients*. Stroke, 1988. **19**(5): p. 604-607.
31. Wilson, J.T., A. Hareendran, A. Hendry, J. Potter, I. Bone and K.W. Muir, *Reliability of the modified Rankin Scale across multiple raters: benefits of a structured interview*. Stroke, 2005. **36**(4): p. 777-781.
32. Sulter, G., C. Steen and J. De Keyser, *Use of the Barthel index and modified Rankin scale in acute stroke trials*. Stroke, 1999. **30**(8): p. 1538-1541.
33. Mahoney, F.I. and D.W. Barthel, *FUNCTIONAL EVALUATION: THE BARTHEL INDEX*. Maryland State Medical Journal, 1965. **14**: p. 61-65.
34. Cedarbaum, J.M. and N. Stambler, *Performance of the Amyotrophic Lateral Sclerosis Functional Rating Scale (ALSFRS) in multicenter clinical trials*. Journal of the Neurological Sciences, 1997. **152 Suppl 1**: p. S1-9.
35. Rooney, J., S. Byrne, M. Heverin, K. Tobin, A. Dick, C. Donaghy and O. Hardiman, *A multidisciplinary clinic approach improves survival in ALS: a comparative study of ALS in Ireland and Northern Ireland*. Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry, 2015. **86**(5): p. 496-501.
36. Van den Berg, J.P., S. Kalmijn, E. Lindeman, J.H. Veldink, M. de Visser, M.M. Van der Graaff, J.H. Wokke and L.H. Van den Berg, *Multidisciplinary ALS care improves quality of life in patients with ALS*. Neurology, 2005. **65**(8): p. 1264-1267.
37. Nagoshi, N., H. Nakashima and M.G. Fehlings, *Riluzole as a neuroprotective drug for spinal cord injury: from bench to bedside*. Molecules, 2015. **20**(5): p. 7775-7789.

38. Miller, R.G., J.D. Mitchell and D.H. Moore, *Riluzole for amyotrophic lateral sclerosis (ALS)/motor neuron disease (MND)*. Cochrane Database of Systematic Reviews, 2012. **3**:Cd001447: p. 1-28.
39. Chiò, A., G. Logroscino, O. Hardiman, R. Swingler, D. Mitchell, E. Beghi and B.G. Traynor, *Prognostic factors in ALS: A critical review*. Amyotrophic Lateral Sclerosis, 2009. **10**(5-6): p. 310-323.
40. Visser, J., R.M. van den Berg-Vos, H. Franssen, L.H. van den Berg, J.H. Wokke, J.M. de Jong, R. Holman, R.J. de Haan and M. de Visser, *Disease course and prognostic factors of progressive muscular atrophy*. Archives of Neurology, 2007. **64**(4): p. 522-528.
41. Schünke, M., E. Schulte, U. Schumacher, M. Voll and K. Wesker, *Kopf, Hals und Neuroanatomie*. Prometheus LernAtlas der Anatomie, © Thieme-Verlag Stuttgart, 2012. **3. Auflage**: p. 162-163.
42. Aumüller, G., G. Aust, J. Engele, J. Kirsch, G. Maio, A. Mayerhofer, S. Mense, D. Reißig, J. Salvetter, W. Schmidt, F. Schmitz, E. Schulte, K. Spaniel-Borowski, G. Wennemuth, W. Wolff, L.J. Wurzinger and H.-G. Zilch, *Anatomie*. Duale Reihe, © Thieme-Verlag Stuttgart, 2014. **3. Auflage**: p. 1064-1067.
43. Huang, D., E.A. Swanson, C.P. Lin, J.S. Schuman, W.G. Stinson, W. Chang, M.R. Hee, T. Flotte, K. Gregory, C.A. Puliafito and J.G. Fujimoto, *Optical coherence tomography*. Science, 1991. **254**(5035): p. 1178-1181.
44. van Velthoven, M.E., D.J. Faber, F.D. Verbraak, T.G. van Leeuwen and M.D. de Smet, *Recent developments in optical coherence tomography for imaging the retina*. Progress in Retinal and Eye Research, 2007. **26**(1): p. 57-77.
45. Sattler, E., R. Käßle and J. Welzel, *Optical coherence tomography in dermatology*. Journal of Biomedical Optics, 2013. **18**(6):061224: p. 1-6.
46. Yonetsu, T., B.E. Bouma, K. Kato, J.G. Fujimoto and I.K. Jang, *Optical coherence tomography - 15 years in cardiology*. Circulation Journal, 2013. **77**(8): p. 1933-1940.
47. Frohman, E.M., J.G. Fujimoto, T.C. Frohman, P.A. Calabresi, G. Cutter and L.J. Balcer, *Optical coherence tomography: a window into the mechanisms of multiple sclerosis*. Nature Clinical Practice Neurology, 2008. **4**(12): p. 664-675.

48. Ziemssen, T. and F. Ziemssen, *Perspectives of an innovative ophthalmological technology: optical coherence tomography (OCT)--what should be of interest to the neurologist?* Clinical Neurology and Neurosurgery, 2013. **115 Suppl 1**: p. S55-9.
49. Greenberg, B.M. and E. Frohman, *Optical coherence tomography as a potential readout in clinical trials.* Therapeutic Advances in Neurological Disorders, 2010. **3**(3): p. 153-160.
50. Gelfand, J.M., D.S. Goodin, W.J. Boscardin, R. Nolan, A. Cuneo and A.J. Green, *Retinal axonal loss begins early in the course of multiple sclerosis and is similar between progressive phenotypes.* PLoS One, 2012. **7**(5):e36847: p. 1-7.
51. Walter, S.D., H. Ishikawa, K.M. Galetta, R.E. Sakai, D.J. Feller, S.B. Henderson, J.A. Wilson, M.G. Maguire, S.L. Galetta, E. Frohman, P.A. Calabresi, J.S. Schuman and L.J. Balcer, *Ganglion cell loss in relation to visual disability in multiple sclerosis.* Ophthalmology, 2012. **119**(6): p. 1250-1257.
52. Saidha, S., S.B. Syc, M.A. Ibrahim, C. Eckstein, C.V. Warner, S.K. Farrell, J.D. Oakley, M.K. Durbin, S.A. Meyer, L.J. Balcer, E.M. Frohman, J.M. Rosenzweig, S.D. Newsome, J.N. Ratchford, Q.D. Nguyen and P.A. Calabresi, *Primary retinal pathology in multiple sclerosis as detected by optical coherence tomography.* Brain, 2011. **134**(Pt 2): p. 518-533.
53. Albrecht, P., M. Ringelstein, A.K. Müller, N. Keser, T. Dietlein, A. Lappas, A. Foerster, H.P. Hartung, O. Aktas and A. Methner, *Degeneration of retinal layers in multiple sclerosis subtypes quantified by optical coherence tomography.* Multiple Sclerosis Journal, 2012. **18**(10): p. 1422-1429.
54. Martinez-Lapiscina, E.H., S. Arnow, J.A. Wilson, S. Saidha, J.L. Preiningerova, T. Oberwahrenbrock, A.U. Brandt, L.E. Pablo, S. Guerrieri, I. Gonzalez, O. Outteryck, A.K. Mueller, P. Albrecht, W. Chan, S. Lukas, L.J. Balk, C. Fraser, J.L. Frederiksen, J. Resto, T. Frohman, C. Cordano, I. Zubizarreta, M. Andorra, B. Sanchez-Dalmau, A. Saiz, R. Bermel, A. Klistorner, A. Petzold, S. Schippling, F. Costello, O. Aktas, P. Vermersch, C. Oreja-Guevara, G. Comi, L. Leocani, E. Garcia-Martin, F. Paul, E. Havrdova, E. Frohman, L.J. Balcer, A.J. Green, P.A. Calabresi and P. Villoslada, *Retinal thickness measured with optical coherence tomography and risk of disability worsening in multiple sclerosis: a cohort study.* Lancet Neurology, 2016. **15**(6): p. 574-584.

55. Bsteh, G., H. Hegen, B. Teuchner, M. Amprosi, K. Berek, F. Ladstätter, S. Wurth, M. Auer, F. Di Pauli, F. Deisenhammer and T. Berger, *Peripapillary retinal nerve fibre layer as measured by optical coherence tomography is a prognostic biomarker not only for physical but also for cognitive disability progression in multiple sclerosis*. Multiple Sclerosis Journal, 2019. **25**(2): p. 196-203.
56. Rao, S.M., G.J. Leo, L. Ellington, T. Nauertz, L. Bernardin and F. Unverzagt, *Cognitive dysfunction in multiple sclerosis. II. Impact on employment and social functioning*. Neurology, 1991. **41**(5): p. 692-696.
57. Ringelstein, M., P. Albrecht, M. Sudmeyer, J. Harmel, A.K. Müller, N. Keser, D. Finis, S. Ferrea, R. Guthoff, A. Schnitzler, H.P. Hartung, A. Methner and O. Aktas, *Subtle retinal pathology in amyotrophic lateral sclerosis*. Annals of Clinical and Translational Neurology, 2014. **1**(4): p. 290-297.
58. Albrecht, P., A.K. Müller, M. Sudmeyer, S. Ferrea, M. Ringelstein, E. Cohn, O. Aktas, T. Dietlein, A. Lappas, A. Foerster, H.P. Hartung, A. Schnitzler and A. Methner, *Optical coherence tomography in parkinsonian syndromes*. PLoS One, 2012. **7**(4):e34891: p. 1-7.
59. Kesler, A., V. Vakhapova, A.D. Korczyn, E. Naftaliev and M. Neudorfer, *Retinal thickness in patients with mild cognitive impairment and Alzheimer's disease*. Clinical Neurology and Neurosurgery, 2011. **113**(7): p. 523-526.
60. Tewarie, P., L. Balk, F. Costello, A. Green, R. Martin, S. Schippling and A. Petzold, *The OSCAR-IB consensus criteria for retinal OCT quality assessment*. PLoS One, 2012. **7**(4):e34823: p. 1-7.
61. Aytulun, A., A. Cruz-Herranz, O. Aktas, L.J. Balcer, L. Balk, P. Barboni, A.A. Blanco, P.A. Calabresi, F. Costello, B. Sanchez-Dalmau, D.C. DeBuc, N. Feltgen, R.P. Finger, J.L. Frederiksen, E. Frohman, T. Frohman, D. Garway-Heath, I. Gabilondo, J.S. Graves, A.J. Green, H.P. Hartung, J. Havla, F.G. Holz, J. Imitola, R. Kenney, A. Klistorner, B. Knier, T. Korn, S. Kolbe, J. Krämer, W.A. Lagrèze, L. Leocani, O. Maier, E.H. Martínez-Lapiscina, S. Meuth, O. Outteryck, F. Paul, A. Petzold, G. Pihl-Jensen, J.L. Preiningerova, G. Rebolleda, M. Ringelstein, S. Saidha, S. Schippling, J.S. Schuman, R.C. Sergott, A. Toosy, P. Villoslada, S. Wolf, E.A. Yeh, P. Yu-Wai-Man, H.G. Zimmermann, A.U. Brandt and P. Albrecht, *APOSTEL 2.0 Recommendations for Reporting Quantitative Optical Coherence Tomography Studies*. Neurology, 2021. **97**(2): p. 68-79.

62. *Grading diabetic retinopathy from stereoscopic color fundus photographs--an extension of the modified Airlie House classification. ETDRS report number 10. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group. Ophthalmology*, 1991. **98**(5 Suppl): p. 786-806.
63. Volpe, N.J., J. Simonett, A.A. Fawzi and T. Siddique, *Ophthalmic Manifestations of Amyotrophic Lateral Sclerosis (An American Ophthalmological Society Thesis)*. Transactions of the American Ophthalmological Society, 2015. **113**:T12: p. 1-15.
64. Rohani, M., A. Meysamie, B. Zamani, M.M. Sowlat and F.H. Akhoundi, *Reduced retinal nerve fiber layer (RNFL) thickness in ALS patients: a window to disease progression*. Journal of Neurology, 2018. **265**(7): p. 1557-1562.
65. Coleman, M., *Axon degeneration mechanisms: commonality amid diversity*. Nature Reviews Neuroscience, 2005. **6**(11): p. 889-898.
66. Geevasinga, N., P. Menon, J. Howells, G.A. Nicholson, M.C. Kiernan and S. Vucic, *Axonal ion channel dysfunction in c9orf72 familial amyotrophic lateral sclerosis*. JAMA Neurology, 2015. **72**(1): p. 49-57.
67. Bede, P., A. Bokde, M. Elamin, S. Byrne, R.L. McLaughlin, N. Jordan, H. Hampel, L. Gallagher, C. Lynch, A.J. Fagan, N. Pender and O. Hardiman, *Grey matter correlates of clinical variables in amyotrophic lateral sclerosis (ALS): a neuroimaging study of ALS motor phenotype heterogeneity and cortical focality*. Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry, 2013. **84**(7): p. 766-773.
68. MacNeil, M.A. and R.H. Masland, *Extreme diversity among amacrine cells: implications for function*. Neuron, 1998. **20**(5): p. 971-982.
69. Wässle, H., *Parallel processing in the mammalian retina*. Nature Reviews Neuroscience, 2004. **5**(10): p. 747-757.
70. Fawzi, A.A., J.M. Simonett, P. Purta, H.E. Moss, J.L. Lowry, H.X. Deng, N. Siddique, R. Sufit, E.H. Bigio, N.J. Volpe and T. Siddique, *Clinicopathologic report of ocular involvement in ALS patients with C9orf72 mutation*. Amyotrophic Lateral Sclerosis and Frontotemporal Degeneration, 2014. **15**(7-8): p. 569-580.
71. Petri, S., K. Kollewé, C. Grothe, A. Hori, R. Dengler, J. Bufler and K. Krampfl, *GABA(A)-receptor mRNA expression in the prefrontal and temporal cortex of ALS patients*. Journal of the Neurological Sciences, 2006. **250**(1-2): p. 124-132.

72. Petri, S., K. Krampfl, F. Hashemi, C. Grothe, A. Hori, R. Dengler and J. Bufler, *Distribution of GABAA receptor mRNA in the motor cortex of ALS patients*. Journal of Neuropathology and Experimental Neurology, 2003. **62**(10): p. 1041-1051.
73. Maekawa, S., S. Al-Sarraj, M. Kibble, S. Landau, J. Parnavelas, D. Cotter, I. Everall and P.N. Leigh, *Cortical selective vulnerability in motor neuron disease: a morphometric study*. Brain, 2004. **127**(Pt 6): p. 1237-1251.
74. Turner, M.R. and M.C. Kiernan, *Does interneuronal dysfunction contribute to neurodegeneration in amyotrophic lateral sclerosis?* Amyotrophic Lateral Sclerosis, 2012. **13**(3): p. 245-250.
75. Foerster, B.R., M.G. Pomper, B.C. Callaghan, M. Petrou, R.A. Edden, M.A. Mohamed, R.C. Welsh, R.C. Carlos, P.B. Barker and E.L. Feldman, *An imbalance between excitatory and inhibitory neurotransmitters in amyotrophic lateral sclerosis revealed by use of 3-T proton magnetic resonance spectroscopy*. JAMA Neurology, 2013. **70**(8): p. 1009-1016.
76. Rojas, P., R. de Hoz, A.I. Ramírez, A. Ferreras, E. Salobar-Garcia, J.L. Muñoz-Blanco, J.L. Urcelay-Segura, J.J. Salazar and J.M. Ramírez, *Changes in Retinal OCT and Their Correlations with Neurological Disability in Early ALS Patients, a Follow-Up Study*. Brain Sciences, 2019. **9**(12):337: p. 1-18.
77. Hübers, A., H.P. Müller, J. Dreyhaupt, K. Bohm, F. Lauda, H. Tumani, J. Kassubek, A.C. Ludolph and E.H. Pinkhardt, *Retinal involvement in amyotrophic lateral sclerosis: a study with optical coherence tomography and diffusion tensor imaging*. Journal of Neural Transmission (Vienna), 2016. **123**(3): p. 281-287.
78. Simonett, J.M., R. Huang, N. Siddique, S. Farsiu, T. Siddique, N.J. Volpe and A.A. Fawzi, *Macular sub-layer thinning and association with pulmonary function tests in Amyotrophic Lateral Sclerosis*. Scientific Reports, 2016. **6**:29187: p. 1-6.
79. Roth, N.M., S. Saidha, H. Zimmermann, A.U. Brandt, T. Oberwahrenbrock, N.J. Maragakis, H. Tumani, A.C. Ludolph, T. Meyer, P.A. Calabresi and F. Paul, *Optical coherence tomography does not support optic nerve involvement in amyotrophic lateral sclerosis*. European Journal of Neurology, 2013. **20**(8): p. 1170-1176.

Danksagung

Ich danke **Herrn Univ.-Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. Sven G. Meuth** für die Möglichkeit, die Untersuchungen in seiner Klinik durchführen zu können.

Ich danke meinem Doktorvater **Herrn Prof. Dr. med. Philipp Albrecht** für die Idee dieser Arbeit, die Übernahme der wissenschaftlichen Betreuung, die mir gebotenen Rahmenbedingungen und die hilfreiche Unterstützung, welche ich zu jedem Zeitpunkt der Arbeit erhielt.

Ich danke **Herrn Univ.-Prof. Dr. med. Rainer Guthoff** als meinem Co-Betreuer für die unkomplizierte Kontaktaufnahme und raschen Rückmeldungen.

Ich danke **Valeria Koska** für die Supervision, Hilfe bei Problemstellungen und die vielen Informationen und Ratschläge auf diesem - für mich völlig neuen - Gebiet des wissenschaftlichen Arbeitens.

Ich danke **Dr. med. Aykut Aytulun** für die problemlose Zusammenarbeit und inspirierenden Ratschläge und Erklärungen.

Ich danke **Margit Weise** für die Durchführung der Untersuchungen und das Erheben der Daten.

Ebenso danke ich meinen Eltern **Michael und Frauke Teufel** für die uneingeschränkte Unterstützung meines gesamten Bildungsweges sowie die aufmunternden und ermutigenden Worte.

Ein besonderer Dank gilt zuletzt den **freiwilligen Probanden** für die Teilnahme an dieser Studie und Ihr Vertrauen.