Aus dem Forschungszentrum NeuroCure Clinical Research Center (NCRC) der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Quantifizierung retinaler Gefäße bei Multipler Sklerose

Kann sie einen Beitrag zur Untersuchung venöser Pathologien leisten?

zur Erlangung des akademischen Grades Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Frieder Bilger

aus Herrenberg

Datum der Promotion: 14.02.2014

# Inhalt

Abkürzungsverzeichnis	4
Abstrakt (Deutsch)	5
Abstract (English)	6
1. Einleitung	7
1.1 Multiple Sklerose	7
1.2 Die These der Chronischen Cerebrospinalen Venösen Insuffizienz (CCSVI)	8
1.3 Die Optische Kohärenztomographie	9
1.4 Die Optische Kohärenztomographie bei Multipler Sklerose	9
1.5 Veränderungen retinaler Gefäße bei anderen Erkrankungen	1
1.6 Fragestellung 1	2
2. Methoden 1	3
2.1 Allgemeines 1	3
2.2 Bildgebung 1	3
2.3 Halbmanuelle Quantifizierung der retinalen Gefäße 1	4
2.3.1 Vorgehen 1	4
2.4 Validierung der Messmethode 1	6
2.4.1 Validierung der Blutgefäßerkennung 1	6
2.4.2 Reliabilitätsanalyse 1	7
2.4.3 Fehlerquote 1	7
2.4.4 Normale Gefäßverteilung 1	7
2.4.5 Auswertungsparameter 1	8
2.5 Statistische Auswertung 1	9
3. Ergebnisse	:0
3.1 Kohorte 2	0
3.2 Gefäßparameter bei Multipler Sklerose und gesunden Kontrollen 2	1
3.3 Assoziationen der Gefäßparameter mit OCT-Parametern	2

	3.3.1 Retinal Nerve Fiber Layer Thickness (RNFLT)	23
	3.3.2 Total Macular Volume (TMV)	24
	3.4 Alterseffekt	25
4	Diskussion	26
	4.1 Kein Hinweis für venöse Abflussstörung	26
	4.2 Keine veränderten Gefäßkaliber bei MS-Patienten	29
	4.3 Der Durchmesser retinaler Arterien und Venen korreliert mit	
	Nervenfaserschichtdicke und Makulavolumen	30
	4.4 Diskussion der Methodik	31
	4.5 Zusammenfassung	32
5.	Literaturverzeichnis	33
6.	Eidesstattliche Versicherung	38
7.	Lebenslauf	39
8	Publikationsliste	40

# Abkürzungsverzeichnis

CCSVI	Chronische Cerebrospinale Venöse Insuffizienz
CIS	Klinisch-isoliertes Syndrom
EDSS	Expanded Disability Status Scale
GEE	Generalized estimating equation
ICC	Inter-Klassen-Korrelation
MS	Multiple Sklerose
NMO	Neuromyelitis Optica
NON	Verlauf ohne Optikusneuritis
OCT	Optische Kohärenztomographie
ON	Optikusneuritis
PPMS	Primär progrediente Multiple Sklerose (Verlaufsform der MS)
RNFL	Retinale Nervenfaserschicht (Retinal Nerve Fiber Layer)
RNFLT	Dicke der retinalen Nervenfaserschicht (Retinal Nerve Fiber Layer Thickness)
RRMS	Schubförmige MS (Relapse-remitting, Verlaufsform der MS)
SD	Standardabweichung
SLO	Scanning-Laser-Ophthalmoskopie (Scanning Laser Ophthalmoscopy)
SPMS	Sekundär progrediente Multiple Sklerose (Verlaufsform der MS)
TMV	Gesamtes Makulavolumen (Total Macular Volume)
ZNS	Zentrales Nervensystem

# Abstrakt (Deutsch)

**Einleitung:** Die Multiple Sklerose (MS) ist eine chronisch-entzündliche und degenerative Erkrankung des zentralen Nervensystems. Am weitesten akzeptiert wird derzeit eine autoimmune, T-Zell-vermittelte Genese. Seit 2007 postuliert jedoch eine italienische Arbeitsgruppe eine "Chronische Cerebrospinale Venöse Insuffizienz" (CCSVI) als Ursache und schlägt Gefäßeingriffe als Therapie vor. Ziel dieser Arbeit ist es, eine Methode zur halbautomatischen Quantifizierung retinaler Gefäße auf laserophthalmoskopischen Fundusbildern (Scanner Laser Ophtalmoscopy, SLO) zu entwickeln und zu evaluieren. Mit Hilfe dieser Methode soll untersucht werden, ob bei MS-Patienten gegenüber gesunden Probanden Veränderungen retinaler Gefäße vorliegen. Fokus sind insbesondere Veränderungen der Venen, die im Sinne der CCSVI-Hypothese bei einer Abflussstörung der drainierenden zerebralen und zervikalen Venen zu erwarten wären.

**Methoden:** Es wurde eine neue Methode entwickelt, die die halbautomatische Quantifizierung retinaler Gefäße auf SLO-Bildern ermöglicht. Zunächst erfolgte eine manuelle Einteilung der Gefäße in Arterien und Venen sowie nicht klassifizierbare, unbekannte Gefäße. Anschließend wurde an definierten Messpunkten mit Hilfe des Grauwertverlaufs eine automatische Messung des Gefäßkalibers durchgeführt. Die Evaluation dieser neuen Methode zeigte sehr gute Übereinstimmungen mit der bereits etablierten Methodik zur Vermessung von Fundus-Fotos und erwies sich darüber hinaus als ausgesprochen wenig untersucherabhängig.

**Ergebnisse:** Für diese Untersuchung wurden Aufnahmen von 108 Patienten mit MS oder klinisch-isoliertem Syndrom mit denen von 96 gesunden Kontrollen verglichen. Dabei zeigten sich keine signifikanten Unterschiede der Gefäßkaliber. Es zeigte sich jedoch eine signifikante Korrelation der Gefäßdurchmesser mit der im OCT bestimmten Nervenfaserschichtdicke (RNFL) und dem Makulavolumen (TMV).

**Diskussion:** Diese Studie konnte keinen Hinweis auf eine venöse Abflussstörung bei MS-Patienten zeigen. Damit reiht sie sich in eine ganze Serie von Untersuchungen ein, die in Reaktion auf die umstrittene CCSVI-These durchgeführt wurden und keinen Hinweis auf eine MS-spezifische venöse Abflussstörung finden konnten. Die Korrelation der Gefäßkaliber mit RNFL und TMV muss zukünftig als möglicher Störfaktor Beachtung finden, da gemessene Effekte möglicherweise durch Gefäßveränderungen verstärkt oder maskiert werden könnten.

# Abstract (English)

**Introduction:** Multiple sclerosis (MS) is a chronic inflammatory and degenerative disease of the central nervous system. Most accepted is an autoimmune and T-cell mediated etiology. However, since 2007 an Italian research team postulates a "Chronic Cerebrospinal Venous Insufficiency" (CCSVI) as a main cause of MS and suggests angioplasty as a potential cure. The aim of this dissertation is to develop and to evaluate a method for semi-automatic quantification of retinal vessels on scanning laser ophthalmoscopic (SLO) pictures. By using this method the aim is to examine differences in retinal vessel caliber, especially a potential enlargement of retinal veins, between MS patients and healthy controls.

**Methods:** A new method for semi-automatic quantification of retinal vessels on SLO pictures has been developed. First, all vessels are manually categorized as arteries, veins or unknown vessels. Second, at defined measuring points an automatic algorithm using gray scale gradient determined the vessel caliber. Evaluation of this method showed very good conformance with established methods of quantifying vessels on fundoscopic photos as well as a very low dependency on investigators.

**Results:** Retinal pictures from 108 patients suffering from MS or clinically isolated syndrome have been compared with pictures from 96 healthy controls. There was no significant difference of vessel caliber between both groups. However, a significant correlation of vessel calibers and retinal nerve fiber layer thickness (RNFL) as well as total macular volume (TMV) has been identified.

**Discussion:** There was no sign of venous insufficiency in MS patients in this study. Therewith this study is in line with many other studies performed in reaction to the CCSVI thesis not showing any signs of MS specific venous insufficiency. The shown correlation of vessel calibers with RNFL and TMV needs to be considered as a disruptive factor measuring these parameters that could potentially enlarge or reduce existing effects.

# 1. Einleitung

# **1.1 Multiple Sklerose**

Die Multiple Sklerose (MS) ist eine chronisch-entzündliche und degenerative Erkrankung des zentralen Nervensystems (ZNS). Sie zeigt typischerweise fokale Läsionen der weißen Substanz, die durch Demyelinisierung, Inflammation und axonale Schädigung gekennzeichnet sind, und geht mit einer diffusen axonalen Degeneration im gesamten ZNS einher<sup>1</sup>. Die Erstdiagnose erfolgt zumeist im frühen Erwachsenenalter<sup>2</sup>. Weltweit unterscheidet sich die Prävalenz stark und liegt in Industrienationen weitaus höher als in Schwellen- und Entwicklungsländern; für Deutschland liegt sie etwa bei 100 pro 100.000 Einwohnern<sup>3</sup>.

Ätiologie und Pathogenese der Multiplen Sklerose sind nicht vollständig verstanden. Die derzeit am weitesten akzeptierte Hypothese geht von einer autoimmunen Demyelinisierung der ZNS-Axone aus, an deren Vermittlung T-Zellen eine entscheidende Rolle spielen<sup>4</sup>. Doch auch das Gefäßsystem scheint am pathogenetischen Geschehen beteiligt zu sein. So haben epidemiologische Studien gezeigt, dass MS-Patienten ein bis zu 30% erhöhtes Risiko für kardiovaskuläre Ereignisse, insbesondere für ischämische Hirninfarkte, aufweisen<sup>5</sup>. Die Gründe hierfür sind weitgehend unbekannt. Möglicherweise begünstigt eine globale Hypoperfusion das Infarktgeschehen<sup>5</sup>.

Man unterscheidet folgende Stadien und Verlaufsformen der Multiplen Sklerose<sup>6</sup>:

- das klinisch-isolierte Syndrom (CIS)
- die schubförmige MS ("relapsing-remitting", RRMS)
- die sekundär progrediente MS (SPMS)
- die primär progrediente MS (PPMS)

Etwa 80% der Patienten stellen sich initial mit einem klinisch-isolierten Syndrom vor<sup>7</sup>. Dieses präsentiert sich als isolierter Schub zumeist mit spinaler Symptomatik, einer Optikusneuritis, einer Hirnstamm-Symptomatik oder einer kombinierten Störung<sup>8</sup>. In einer Langzeitstudie verfolgten Brex et al.<sup>9</sup> über 14 Jahre 71 Patienten, die initial ein klinisch-isoliertes Syndrom zeigten. Bei 68% der Patienten entwickelte sich innerhalb

dieser Zeitspanne eine manifeste Multiple Sklerose. Ältere Untersuchungen zeigten niedrigere Manifestationsraten von 38-58% in vergleichbaren Zeiträumen<sup>10,11</sup>.

Bei etwa 65% der Patienten nimmt die Krankheit eine sekundäre Progredienz an, bei der sich die Symptome und die daraus resultierende Behinderung nicht mehr vollständig zurückbilden<sup>7</sup>. Bei 8-37% der Patienten, abhängig von den verwendeten Kriterien, ist die Krankheit primär-progredient<sup>12</sup>. In beiden Fällen beginnt die Progredienz meist um das 40. Lebensjahr<sup>13</sup>.

Es existiert kein spezifischer, beweisender Test für die Multiple Sklerose. Die Diagnostik erfolgt daher anhand der McDonald-Kriterien<sup>6,14,15</sup> in der Zusammenschau von Klinik, dem Nachweis typischer Läsionen im MRT und einem typischen Liquorbefund.

# 1.2 Die These der Chronischen Cerebrospinalen Venösen Insuffizienz (CCSVI)

Der Begriff der "Chronischen Cerebrospinalen Venösen Insuffizienz" (CCSVI) wurde von der Arbeitsgruppe um den italienischen Gefäßchirurgen Paolo Zamboni geprägt, nachdem diese nach mehreren duplexsonografischen und katheterbasierten Untersuchungen venöse Abflussstörungen der ZNS-Venen, insbesondere der Vena jugularis interna und Vena azygos, beschrieb<sup>16–18</sup>. Sie postulierten daraufhin, dass der MS eine venöse Obstruktion zu Grunde liege. Ihre Hypothese besagt, dass die Pathogenese der MS mit einer proximalen venösen Abflussstörung beginnt, in deren Folge Erythrozyten aus den zerebralen Venen in die weiße Substanz übertreten und dort Eisenablagerungen bilden. Dies führe letztlich zu Immunreaktionen und dem typischen Bild von paravenösen Läsionen der weißen Substanz<sup>19</sup>. In der Konsequenz untersuchten sie die Möglichkeit perkutan-transluminaler Gefäßeingriffe an Hals- und Rückenmarksvenen und stellten in ihren Studien einen günstigeren Verlauf nach einem solchen Eingriff fest, vor allem bei Patienten mit schubförmiger Verlaufsform<sup>20,21</sup>. Mit diesen Veröffentlichungen erregten sie international Aufmerksamkeit, insbesondere auch bei Patientenverbänden. Die zu Grunde liegenden Studien weisen jedoch methodische Mängel auf; insbesondere sind die diagnostischen Kriterien der CCSVI willkürlich festgelegt und zum Teil nicht nachvollziehbar<sup>22,23</sup>. Zahlreiche Folgestudien anderer Autoren konnten diese Ergebnisse nicht reproduzieren (siehe Diskussion).

### 1.3 Die Optische Kohärenztomographie

Die Optische Kohärenztomographie (OCT) ist ein nichtinvasives bildgebendes Verfahren, das die zwei- und dreidimensionale Darstellung von Geweben erlaubt. 1991 gelang es Huang et al.<sup>24</sup> zum ersten Mal, die Retina mit Hilfe der OCT in ihrer Schichtstruktur im Sinne eines Schnittbilds darzustellen. Das Prinzip ähnelte dem des Ultraschalls, wobei jedoch Licht anstatt Schall zum Einsatz kam. Das vom Gewebe reflektierte Licht konnte anhand der Laufzeit der Photonen einer Eindringtiefe zugeordnet werden (Zeit-Domain-OCT). Dies gelang damals jedoch zu jedem Zeitpunkt nur für eine Schicht, sodass die Scanrate lediglich 100 Zeilen pro Sekunde betrug. Inzwischen ist es möglich, die reflektierten Photonen aus allen Schichten gleichzeitig zu analysieren (Spectral-Domain-OCT), wodurch moderne Geräte Scanraten von über 40.000 Zeilen pro Sekunde erreichen<sup>25</sup>. Das wiederum ermöglicht es, Echtzeit- und Volumendarstellungen anzufertigen.

Auch die axiale Auflösung ließ sich seit den ersten Anwendungen der OCT verbessern, von zunächst 13  $\mu$ m auf heute 3-7 $\mu$ m, experimentell werden sogar Auflösungen von 1 $\mu$ m erreicht<sup>25</sup>.

Neben der Bildgebung von Retina und weiteren Strukturen des Auges haben sich viele weitere Anwendungsbereiche für die OCT entwickelt. So wird sie beispielsweise in der Dermatologie<sup>26</sup>, intraoperativ während ophthalmochirurgischer Eingriffe<sup>27</sup> und zur Grundlagenforschung<sup>28</sup> verwendet.

### 1.4 Die Optische Kohärenztomographie bei Multipler Sklerose

Das Auge ist entwicklungsgeschichtlich ein Teil des Gehirns: Es entwickelt sich embryologisch aus dem Diencephalon, einem der fünf sekundären Hirnbläschen, und gilt damit als Teil des zentralen Nervensystems<sup>29</sup>. Zudem ist das Auge für optische Untersuchungen leicht zugänglich. Diese Tatsachen eröffnen die Möglichkeit, mittels OCT im Rahmen neurologischer Erkrankungen wie der Multiplen Sklerose zentralnervöse Strukturen direkt zu beurteilen. Im Mittelpunkt der Aufmerksamkeit stand dabei lange die retinale Nervenfaserschicht (retinal nerve fiber layer, RNFL). Deren Schichtdicke kann mittels OCT genauso präzise erfasst werden wie histologisch<sup>30</sup>. Bei Multipler Sklerose ist diese Schichtdicke gegenüber gesunden Probanden verringert<sup>31-33</sup>. Das Ausmaß der Verringerung hängt insbesondere davon ab, ob in der Anamnese des betrachteten Auges eine Optikusneuritis (ON) vorlag; war dies der Fall, ist die Verringerung stärker ausgeprägt und früher zu finden, aber auch bei Augen ohne vorangegangene Optikusneuritis (NON) findet eine signifikante Reduktion statt<sup>34</sup>. Zudem besteht ein Zusammenhang mit der Erkrankungsdauer: Talman et al.<sup>35</sup> stellten in einer longitudinalen Untersuchung von 299 Patienten über bis zu 4,5 Jahre eine mittlere RNFL-Verringerung von 2 µm pro Jahr fest.

Die Verringerung der retinalen Nervenschichtdicke korreliert auch mit klinischen Parametern. Costello et al.<sup>36</sup> untersuchten den Zusammenhang von Gesichtsfeldausfällen und der RNFL 3-6 Monate nach Optikusneuritiden. Sie stellten eine Korrelation des Ausmaßes der Gesichtsfeldausfälle mit dem RNFL-Verlust fest. Während sich die Gesichtsfeldausfälle insgesamt in den meisten Fällen zurückbildeten, konnten sie zudem feststellen, dass bei einer RNFL von weniger als 75 µm mehrheitlich keine vollständige Rückbildung der Sehkraft mehr stattfand. Eine geringe Schichtdicke der RNFL kann somit als negativer prognostischer Faktor nach einer Optikusneuritis gelten.

Auch der Schweregrad der Behinderung bei Multiple Sklerose-Patienten steht im Zusammenhang mit der RNFL. Erfasst wird diese häufig mittels Expanded Disability Status Scale (EDSS) von 0 (normal) bis 10 (Tod infolge MS), obwohl dieser einige Limitationen ausweist, da er beispielsweise den Gang sehr stark gewichtet und kognitive Defizite schlecht abbildet.<sup>37</sup> Mehrere Studien zeigten eine negative Korrelation von EDSS und RNFL-Schichtdicke und damit einen Zusammenhang von RNFL und Behinderungsgrad.<sup>34</sup>

Seit kurzem ist es zudem möglich, einzelne Retina-Schichten auf hochauflösenden OCT-Scans – automatisiert oder manuell – getrennt voneinander zu quantifizieren<sup>32,38-42</sup>. Von großem Interesse ist dabei die Ganglionzellschicht, deren Atrophie bei MS bereits in pathologischen Studien gezeigt wurde<sup>43,44</sup>. In vivo bei MS-Patienten gemessen, zeigt der Verlust der Ganglionzellschicht eine noch stärkere Korrelation mit visueller und körperlicher Behinderung, als die gesamte RNFL<sup>38</sup> und tritt bereits bei CIS-Patienten auf<sup>45</sup>. Sowohl die RNFL, als auch die Ganglionzellschicht, korrelieren als Parameter der neuro-axonalen Degeneration zudem mit dem gesamten Hirnvolumen, jedoch nur solange das entsprechende Auge keine Optikusneuritis in der Vorgeschichte aufweist<sup>42</sup>. Die Reduktion der RNFL zeigt eine besonders starke Korrelation mit der Erkrankungsdauer, während die Hirnatrophie insbesondere mit dem Schweregrad der Erkrankung korreliert<sup>46</sup>.

Neben der Beurteilung der Nervenfaserschicht ermöglicht die Optische Kohärenztomographie auch die Beurteilung der Makula. Deren gesamtes Volumen (Total Macular Volume, TMV) ist bei MS-Patienten ebenfalls signifikant reduziert und korreliert mit dem Visus<sup>47</sup>.

#### 1.5 Veränderungen retinaler Gefäße bei anderen Erkrankungen

Die Gefäße der Retina sind für das Verständnis verschiedener Krankheiten von großem Interesse, da sie – im Gegensatz zu den meisten anderen Gefäßen des Körpers – optisch, etwa auf Fundusfotos, untersucht werden können. Mehrere Studien konnten retinale Gefäßveränderungen mit systemischen Erkrankungen in Verbindung bringen: So stehen verengte retinale Arterien in Zusammenhang mit Bluthochdruck, während erweiterte Venen in Verbindung mit Arteriosklerose, Nikotinabusus, Bluthochdruck, systemischer Inflammation und Adipositas beobachtet werden<sup>48–50</sup>. Wie eine Meta-Analyse von McGeechan et al.<sup>51</sup> zeigt, kann das Kaliber der retinalen Venen sogar als Faktor für die Beurteilung des individuellen Schlaganfallrisikos herangezogen werden. Berücksichtigt man dies zusätzlich zu den etablierten Risikokriterien für einen Schlaganfall, gelangt man bei bis zu 10% der Patienten zu einer veränderten Risikoeinschätzung gegenüber der Bewertung nur anhand der bisherigen Kriterien, so die Autoren. Auch das Risiko einer vaskulären Demenz ist mit erweiterten retinalen Venen verbunden<sup>52</sup>.

Veränderungen an retinalen Gefäßen konnten auch bei der Neuromyelitis Optica (NMO) gezeigt werden. Die NMO ist eine entzündlich-demyelinisierende Erkrankung, die lange als Verlaufsform der MS betrachtet wurde, jedoch spätestens seit der Entdeckung spezifischer Antikörper gegen Aquaporin-4-Kanäle als eigene Entität gilt<sup>53–55</sup>. Green und Cree<sup>56</sup> konnten zudem vaskuläre Unterschiede bei NMO-Patienten gegenüber MS-Patienten zeigen: Sie stellten bei etwa zwei Dritteln der untersuchten NMO-Augen, aber nur bei etwa 8% der MS-Augen, eine Ausdünnung der peripapillären Gefäße fest. Die

Ursachen hierfür sind unklar, könnten aber in Verbindung mit einem vorangegangenen Papillenödem stehen, wie die Autoren vermuten.

# 1.6 Fragestellung

Ziel dieser Arbeit ist es, eine halbautomatische Methode zur Quantifizierung retinaler Gefäße zu entwickeln und zu evaluieren, die möglichst untersucherunabhängige Ergebnisse liefert. Während vaskuläre Veränderungen der Retina auf Fundusfotos bereits untersucht werden<sup>57</sup>, existiert noch keine solche Methode zur halbautomatischen Auswertung von laserophthalmoskopischen Fundusbildern (Scanner Laser Ophtalmoscopy, SLO), wie sie bei OCT-Aufnahmen mit angefertigt werden.

In einem zweiten Schritt soll die Methode am Beispiel der MS angewandt werden, um mögliche Veränderungen der retinalen Gefäßkaliber zu finden. Insbesondere soll nach Hinweisen für oder gegen die CCSVI-These gesucht werden. Die retinalen Gefäße eignen sich hierfür – neben ihrer guten optischen Zugänglichkeit – aufgrund ihres venösen Abfluss in die für die CCSVI verantwortlich gemachten Halsvenen. Sollte bei MS eine signifikante Abflussstörung dieser Halsvenen vorliegen, wären Veränderungen wie etwa ein vergrößerter Venendurchmesser auch an den retinalen Gefäßen zu erwarten.

Außerdem soll untersucht werden, ob die im OCT bestimmte Nervenfaserschichtdicke (RNFLT) und das Makulavolumen (TMV) mit Gefäßveränderungen korrelieren, um herauszufinden, ob sich daraus Störfaktoren ergeben können.

# 2. Methoden

### 2.1 Allgemeines

Da noch keine etablierte Methodik zur Quantifizierung retinaler Gefäße auf SLO-Bildern existiert, wurde das Verfahren – in Zusammenarbeit mit einer Informatikerin der AG Klinische Neuroimmunologie im NCRC – für diese Arbeit neu entwickelt und an einem Kontrolldatensatz ausführlich getestet. Die Daten dieses Zuverlässigkeitstests sind unter Punkt 2.4 dargestellt.

Die Patienten und Kontrollprobanden dieser Studie wurden von einem Dritten zufällig aus der bestehenden Bilddatenbank des NeuroCure Clinical Research Centers ausgewählt und verblindet. Alle Teilnehmer, die zumeist für andere Studien rekrutiert wurden, haben ihr schriftliches Einverständnis erteilt. Die Ethikkommision der Charité stimmte den durchgeführten Untersuchungen zu.

Es handelt sich um eine retrospektive, kontrollierte, verblindete Studie mit neu entwickelter Methodik.

### 2.2 Bildgebung

Alle für diese Studie verwendeten OCT-Aufnahmen wurden mit dem Spectralis®-OCT der Firma Heidelberg Engineering<sup>58</sup> aufgenommen. Neben den OCT-Aufnahmen erstellt dieses Gerät von jedem Auge ein laserophthalmoskopisches Fundusbild. Dieses diente der halbmanuellen Vermessung der retinalen Blutgefäße. RNFLT und TMV wurden mittels der Gerätesoftware Spectralis® automatisiert aus den OCT-Daten berechnet.

Technische Daten des verwendeten Geräts sind in Tabelle 1 dargestellt.

Fundu	ısaufnahme	Optische Kohärenztompgraphie		
Prinzip	Scanning Laser Ophthalmoscopy (SLO)	Prinzip	Spectral-Domain- OCT	
Auflösung	6 µm/Pixel	Axiale Auflösung	3,9 µm (digital)	
Bildgröße	1536 x 1536 Pixel	Transversale Aufl.	14 µm	
Aufnahmedauer	192 ms	Scangeschwindigkeit	40.000 Zeilen/Sek.	

Tabelle 1 | Technische Daten des Heidelberg Spectralis®-OCT

# 2.3 Halbmanuelle Quantifizierung der retinalen Gefäße

Die Fundusbilder wurden den Untersuchern zur Verblindung codiert übergeben. Die Bildanalyse erfolgte in der Bildverarbeitungssoftware ImageJ, Version 1.44p<sup>59</sup>. Gemeinsam mit einer Informatikerin der AG wurde hierfür ein Algorithmus entwickelt, der die halbmanuelle Vermessung von Gefäßen auf SLO-Fundusbildern ermöglicht.

## 2.3.1 Vorgehen

Der Algorithmus zeichnet initial drei Kreise um die automatisch erkannte Papillenmitte mit Durchmessern von 3,2 mm, 3,5 mm und 3,8 mm. Der mittlere Ring entspricht dabei dem Messbereich, an dem auch die automatische Messung der RNFLT stattfindet. Erste Tests zeigten jedoch, dass eine Messung nur auf diesem Ring zu große Ungenauigkeiten aufwies, beispielsweise bei Gefäßverzweigungen in diesem Bereich. Aus diesem Grund wurden zwei weitere Messpunkte in geringem Abstand hinzugefügt.

Alle Gefäße, die den mittleren Ring schneiden, wurden nun manuell nummeriert und klassifiziert als Arterien (a), Venen (v) und nicht klassifizierbare, unbekannte Gefäße (u), siehe Abb. 1. Zur Erkennung des Gefäßtyps wurden folgende Kriterien herangezogen:

- Arterien werden papillennah heller dargestellt als Venen
- Arterien sind meist dünner als ihre Nachbarvenen
- Ein gut dargestellter Abzweig aus einem gut klassifizierbaren Gefäß berechtigt zu der gleichen Zuordnung
- Wenn keine sichere Zuordnung möglich war, wurde die Bezeichnung "unbekannt" (u) verwendet.



Abbildung 1 | Beispiel für die Einteilung und Nummerierung der Gefäße.

Die SLO-Bilder wurden mit Hilfe der anisotropischen Diffusion automatisch nachbearbeitet, um das Bildrauschen zu unterdrücken. Dieser häufig verwendete Algorithmus glättet relativ homogene Bereiche, erhält aber gleichzeitig kontrastreiche Bereiche, wie etwa Kanten. Zusätzlich wurde mit Hilfe einer automatischen Kanten-Erkennung ein zweites Bild erzeugt, das ausschließlich die Kanten enthält. Diese Kanten entsprechen in unserem Fall der Wand der Blutgefäße.

Anschließend wurden die Messbereiche manuell festgelegt, das heißt an den Schnittpunkten von Gefäßen und Kreisen wurden senkrechte Linien über das jeweilige Gefäß gelegt. Entlang dieser Linien ermittelte der Messalgorithmus jeweils ein Grauwertprofil auf beiden Bildern, anhand dessen kombinierten Kurvenverlaufs die Abgrenzung des Gefäßaußen- und -innendurchmessers erfolgte.

Um eine höhere Messgenauigkeit zu erzielen, wurden an jedem Schnittpunkt nicht nur ein Messwert, sondern fünf Messwerte im Abstand von jeweils zwei Pixeln erhoben. Für ein Gefäß, das alle drei Kreise schneidet, wurden also 15 Messwerte in unmittelbarer Nähe erzielt. Dieses Vorgehen sollte Verfälschungen auf Grund von Artefakten reduzieren. Die ermittelten Messbereiche für Innen- und Außendurchmesser wurden anschließend visuell dargestellt (siehe Abb. 2 und 3) und manuell nachkontrolliert. Deutlich vom tatsächlichen Gefäß abweichende Messbereiche wurden insbesondere festgestellt, wenn die Kontrastierung des Gefäßes gering war, wenn der Messbereich Artefakte aufwies oder wenn mehrere Gefäße in unmittelbarer Nähe verliefen. Diese Fehlmessungen wurden aussortiert und die Häufigkeit dieser Streichungen wurde erfasst (siehe 2.4.3). Der Mittelwert für ein betroffenes Gefäß wurde dann aus den verbleibenden Messungen ermittelt.



**Abbildung 2 (links)** | Visuelle Darstellung der automatisch ermittelten Messbereiche für Außen-(magenta) und Innendurchmesser (grün). In diesem Beispiel wurden alle Messbereiche korrekt erfasst.

**Abbildung 3 (rechts) |** In diesem Fall wurden bei der mittleren Messung Außen- (magenta) und Innendurchmesser (grün) falsch erfasst. Diese beiden Ergebnisse wurden gestrichen. Eine korrekte Erfassung des Innnendurchmessers ist bei diesem Gefäß nicht möglich.

### 2.4 Validierung der Messmethode

Um die Zuverlässigkeit dieser neu entwickelten Methode zu prüfen und geeignete Vergleichsparameter zu identifizieren, wurden verschiedene Analysen durchgeführt.

### 2.4.1 Validierung der Blutgefäßerkennung

Zur Validierung der automatischen Erkennung und Quantifizierung der Blutgefäße wurde die Methode auf 10 Fundus-Fotos der STARE-Datenbank (Structured Analysis of the Retina)<sup>60</sup> angewendet. Auf jedem analysierten Bild wurden 10 Blutgefäße mit Hilfe des Algorithmus vermessen und anschließend mit der Segmentation nach Hoover et al.<sup>61</sup>, die einen weit verbreiteten Standard bei der automatischen Gefäßerkennung auf Fundusbildern darstellt, verglichen. Die mittlere Abweichung der beiden Methoden von 0,211 Pixel pro Gefäß und die Inter-Klassen-Korrelation (ICC) von 0,91 zeigten dabei eine sehr gute Übereinstimmung.

#### 2.4.2 Reliabilitätsanalyse

Für die Analyse der Untersucherabhängigkeit wurde zunächst ein Probedatensatz von zwei Untersuchern unabhängig vermessen. Dieser Datensatz bestand aus 58 Augen mit 735 Gefäßen von gesunden Probanden.

Für die von den Untersuchern ermittelten Gefäßparameter wurden die Inter-Klassen-Korrelationen (ICC) berechnet. Der ICC von 0,98 über alle Gefäßtypen zeigt eine exzellente Übereinstimmung zwischen den Untersuchern, unterscheidet sich jedoch je nach Gefäßparameter und -typ leicht. Eine Übersicht gibt Tabelle 2.

Auf Grund dieser ausgesprochen geringen Untersucherabhängigkeit wurden die Messungen für die eigentliche Untersuchung dieser Arbeit nur von einem Untersucher durchgeführt.

	Auße	endurchm.	Inne	ndurchm.
Gefäßtyp	n ICC		n	ICC
Alle	735	0.995	511	0.970
Arterien	303	0.935	274	0.946
Venen	205 0.996		188	0.980
Unbekannt	227	0.980	49	0.825

 Tabelle 2 | Inter-Klassen-Korrelationen (ICC) f
 f
 ir die verschiedenen Gef
 ß
 parameter.

### 2.4.3 Fehlerquote

Für die gesamte Studie fielen 218.517 Einzelmesswerte an, von denen 6.492 Werte wegen Fehlmessungen des Algorithmus manuell aussortiert werden mussten (siehe Punkt 2.3.1). Das entspricht einer Fehlerquote des Vermessungstools von 3 %.

### 2.4.4 Normale Gefäßverteilung

Die Verteilung der Gefäße der gesunden Kontrollpersonen nach Größe und Gefäßtyp (Abb. 4) zeigt, dass insbesondere bei kleinen Gefäßen keine manuelle Erkennung als Arterie oder Vene möglich war. Arterien und Venen zeigen jedoch annähernd eine Normalverteilung, sodass davon ausgegangen werden kann, dass nicht überproportional viele Arterien oder Venen als unbekannt klassifiziert wurden. Aus diesem Grund haben wir für die Auswertung dieser Arbeit die nicht identifizierten Gefäße nicht berücksichtigt, sondern nur die als Arterien oder Venen klassifizierbaren Gefäße herangezogen.



Abbildung 4 | Darstellung der Gefäßverteilung der gesunden Kontrollen nach Größe und Typ. Arterien n=1078, Venen n=777, Unbekannte n=799.

#### 2.4.5 Auswertungsparameter

Der Algorithmus ist in der Lage, Werte für Außen- und Innendurchmesser der Gefäße zu bestimmen. Allerdings konnte nur bei 66% der Gefäße ein Innendurchmesser gemessen werden, da dieser insbesondere bei kleinen Gefäßen schlecht abgrenzbar ist. Zudem erschien die Messung des Innendurchmessers ungenauer, da sie sich oft knapp an der Auflösungsgrenze abspielte. Bei der Auswertung der Innendurchmesser wäre aus diesen Gründen mit Verzerrungen und Fehlern zu rechnen. Außen- und Innendurchmesser korrelieren allerdings sehr stark (siehe Abb. 5), sodass für die Auswertungen dieser Arbeit lediglich der solidere Parameter des Außendurchmessers verwendet wurde.



**Abbildung 5**| Korrelation von Innen- und Außendurchmesser bei Arterien und Venen. Korrelationskoeffizient nach Pearson: 0,87 | p < 0,001

### 2.5 Statistische Auswertung

Zur Verarbeitung der Messdaten kam zunächst Microsoft Office Excel 2007 zum Einsatz. Die statistische Auswertung erfolgte mit IBM SPSS Statistics 19.

Für die Berechnung der Signifikanz wurde der statistische Test Generalized Estimating Equation (GEE) verwendet, der die Abhängigkeit *zweier* Augen *eines* Individuums berücksichtigt.

# 3. Ergebnisse

# 3.1 Kohorte

Für diese Studie wurden 108 MS- bzw. CIS-Patienten sowie 96 gesunde Probanden untersucht. Der Altersunterschied beider Gruppen ist nicht signifikant (T-Test: p = 0,19). Die Details der Studienkohorte sind in Tabelle 3 dargestellt.

**Tabelle 3** | Beschreibung der Stichprobe. SD = Standardabweichung; CIS = Klinisch isoliertes Syndrom; RRMS = schubförmige MS ("relapse-remitting"); SPMS = sekundär progrediente MS; EDSS = Expanded Disability Status Scale; RNFLT = Retinal Nerve Fiber Layer Thickness; TMV = Total Macular Volume.

			Patienten	Kontrollen
Untersuchte Personen	Anzahl		108	96
Untersuchte Augen	Anzahl		216	192
Geschlecht	Anzahl (%)	männlich	35 (32%)	29 (30%)
		weiblich	73 (68%)	67 (70%)
Alter [Jahre]	Mittelwert (±SD)		42 (±12)	39 (±12)
	Min-Max		19-67	18-67
Verlaufsformen	Anzahl Patienten	CIS	27 (25%)	
	(%)	RRMS	64 (59%)	
		SPMS	17 (16%)	
Erkrankungsdauer [Monate]	Mittelwert (±SD)	CIS	8 (±9)	
	Min-Max		1-36	
		MS	116 (±83)	
			0-353	
Optikusneuritis-Anamnese	Anzahl Augen (%)		74 (34%)	0
EDSS	Median		2	
	Min-Max		0-7	
RNFLT [µm]	Mittelwert (±SD)		87,7 (±14,5)	98,6 (±9,6)
	Min-Max		52-123	79-126
TMV [mm <sup>3</sup> ]	Mittelwert (±SD)		8,41 (±0,4)	8,63 (±0,34)
	Min-Max		7,32-9,30	7,88-9,41

### 3.2 Gefäßparameter bei Multipler Sklerose und gesunden Kontrollen

Für jedes untersuchte Auge wurde je der mittlere Arterien- und Venendurchmesser ermittelt. Vergleicht man diese Werte zwischen Patienten und Probanden, so stellt man keine signifikanten Unterschiede fest (siehe Tabelle 4).

**Tabelle 4** | Gruppenvergleich der Gefäßdurchmesser unter Berücksichtigung aller Patienten undProbanden. SD = Standardabweichung.

		Patienten	Probanden	Signifikanz (GEE)
Außendurchmesser	Mittelwert	93,22	91,96 μm	p = 0,332
Arterien (Mittel)	(±SD)	(±11,1)	(±10,4)	
Außendurchmesser	Mittelwert	113,99	114,21	p = 0,908
Venen (Mittel)	(±SD)	(±15,81)	(±16,08)	

Um zu untersuchen, ob es bei Patienten mit hoher Erkrankungsdauer (mindestens 10 Jahre nach Erstdiagnose) bzw. mit Optikusneuritis in der Anamnese statistisch signifikante Unterschiede gibt, ohne dabei einem möglichen Alterseffekt (siehe auch Punkt 3.3) als Fehlerquelle zu unterliegen, wurden "virtuelle" Untergruppen von Patienten und Probanden erstellt, die in Geschlecht und Alter (± 3 Jahre) gepaart ("gematcht") sind. In beiden Fällen zeigten sich zwar für die Patienten leicht reduzierte Gefäßdurchmesser, insbesondere für die Venen. Diese Effekte sind jedoch ebenfalls nicht signifikant. Die detaillierten Ergebnisse sind in Tabelle 5 und 6 dargestellt.

Tabelle 5 | Vergleich der Gefäßdurchmesser bei Patienten mit einer Erkrankungsdauer vonmindestens 120 Monaten (10 Jahren) und dazu nach Geschlecht und Alter (± 3 Jahre) gepaartenProbanden. SD = Standardabweichung.

		Patienten	Probanden	Signifikanz (GEE)
Beschreibung der Subkohorte	:			
Untersuchte Personen	Anzahl	32	32	
	(m : w)	(13 : 19)	(13 : 19)	
Alter [Jahre]	Mittelwert (±SD)	48 (±9)	48 (±9)	
Erkrankungsdauer [Monate]	Mittelwert (±SD)	192 (±63)		
	Min-Max	121-353		
Ergebnisse der Subkohorte:				
Außendurchmesser	Mittelwert	91,94	93,19 μm	p = 0,604
Arterien (Mean)	(±SD)	(±11,28)	(±11,75)	
Außendurchmesser	Mittelwert	107,57	111,81	p = 0,215
Venen (Mean)	(±SD)	(±16,46)	(±15,99)	

		Patienten	Probanden	Signifikanz (GEE)				
Beschreibung der Subkohorte:								
Untersuchte Personen	Anzahl	52	52					
	(m : w)	(19 : 33)	(19:33)					
Alter [Jahre]	Mittelwert (±SD)	45 (±11)	43 (±11)					
Erkrankungsdauer [Monate]	Mittelwert (±SD)	136 (±82)						
	Min-Max	7-340						
Ergebnisse der Subkohorte:								
Außendurchmesser	Mittelwert	89,93	92,21 μm	p = 0,256				
Arterien (Mean)	(±SD)	(±10,45)	(±10,97)					
Außendurchmesser	Mittelwert	108,71	112,23	p = 0,194				
Venen (Mean)	(±SD)	(±13,72)	(±15,9)					

**Tabelle 6** | Vergleich der Gefäßdurchmesser bei **Augen mit Optikusneuritis in der Anamnese** und dazu nach Geschlecht und Alter (± 3 Jahre) gepaarten Probanden. SD = Standardabweichung.

#### 3.3 Assoziationen der Gefäßparameter mit OCT-Parametern

Ziel dieser Arbeit war es auch, mögliche Assoziationen der Gefäßparameter zu bereits etablierten OCT-Parametern zu untersuchen – sowohl bei Patienten, als auch im gesunden Kontrollkollektiv. Bei den Patienten sollte zudem untersucht werden, ob sich eine vorangegangene Optikusneuritis besonders auf diese Assoziationen auswirkt. Um das zu untersuchen, wurden Korrelationen der Gefäßkaliber mit RNFLT und TMV für die einzelnen Kollektive berechnet.

Die Korrelationen mit der RNFLT sind in den Abbildungen 6 bis 9 sowie in Tabelle 7 dargestellt, getrennt nach Patienten und Probanden sowie nach Arterien und Venen. Die Korrelationen mit der TMV finden sich in analoger Form in den Abbildungen 10 bis 13 sowie Tabelle 8.

Sowohl RNFLT als auch TMV korrelieren positiv und signifikant mit den Gefäßdurchmessern von Arterien und Venen: Augen mit größeren Nervenfaserschichtdicken oder größerem Makulavolumen haben wahrscheinlicher auch größere Gefäßkaliber. Das gilt sowohl für Patienten, als auch Probanden in nahezu gleichem Maß. Lediglich die Korrelation von TMV und Venenkaliber stellt sich bei Probanden stärker dar als bei Patienten. Betrachtet man Patienten mit und ohne Optikusneuritis getrennt, ergeben sich sehr ähnliche Korrelationen (nicht einzeln dargestellt), sodass eine vorangegangene Optikusneuritis keinen Einfluss auf diese Korrelation zu haben scheint.





Tabelle 7	Korrelationsparameter von	RNFLT und	Gefäßdurchmessern	zu den	Abbildungen 6 bis 9
-----------	---------------------------	-----------	-------------------	--------	---------------------

Statistischer Test:		Lineare Regression		GEE			
		Standard.	R²	Regressions-	95%-Konfid	enzintervall	Signifikanz
		Korrelations-		koeffizient B	Unterer	Oberer	
		koeff. Beta			Wert	Wert	
Patienten	Arterien	0,218	0,048	0,121	0,026	0,216	p = 0,013
	Venen	0,289	0,084	0,264	0,081	0,447	p = 0,005
Probanden	Arterien	0,231	0,053	0,255	0,076	0,434	p = 0,005
	Venen	0,332	0,110	0,577	0,336	0,818	p < 0,001

#### 3.3.2 Total Macular Volume (TMV)



Tabelle 8   Korrelationsparameter von TMV und Gefäßdurchmessern zu de	n Abbildungen 10 bis13
---	------------------------

Statistischer Test:		Lineare Regression		GEE			
		Standard.	rd. R <sup>2</sup>	Regressions-	95%-Konfidenzintervall		Signifikanz
		Korrelations-		koeffizient B	Unterer	Oberer	
		koeff. Beta			Wert	Wert	
Patienten	Arterien	0,214	0,046	47,858	12,884	82,831	p = 0,011
	Venen	0,247	0,061	9,418	3,076	15,761	p = 0,004
Probanden	Arterien	0,155	0,024	4,310	0,006	8,614	p = 0,050
	Venen	0,370	0,137	17,017	10,353	23,678	p < 0,001

### 3.4 Alterseffekt

Als Störfaktor für die Auswertung der vorliegenden Daten, aber auch anderer Untersuchungen der retinalen Gefäße, muss ein möglicher Alterseffekt berücksichtigt werden. Um diesen frei von Krankheitseffekten darstellen zu können, wurden zur Untersuchung des Alterseffekts nur die Daten der gesunden Probanden herangezogen. Die Korrelationen sind in Abbildung 14 und 15 sowie Tabelle 9 dargestellt.

Es zeigte sich eine leichte Zunahme des arteriellen Gefäßkalibers und eine Abnahme des venösen Gefäßkalibers mit zunehmendem Alter. Diese Effekte sind im vorliegenden Kollektiv zwar nicht signifikant, im Falle der Venen jedoch nur knapp außerhalb der Signifikanzgrenze. Aus diesem Grund wurde bei der Auswertung dieser Studie das Alter als möglicher Störfaktor berücksichtigt.



 Tabelle 9 | Korrelationsparameter Alter und Gefäßdurchmessern zu den Abbildungen 14 und 15.

Statistischer Test:	Lineare Regression		GEE			
	Standardis.	R²	Regressions-	95%-Konfidenzintervall		Signifikanz
	Korrelations-		koeffizient B	Unterer	Oberer	
	koeff. Beta			Wert	Wert	
Arterien	0,087	0,008	0,077	-0,068	0,222	p = 0,298
Venen	0,153	0,023	-0,208	-0,428	0,011	p = 0,062

# 4. Diskussion

Diese Studie vergleicht die retinalen Gefäßkaliber von MS-Patienten und gesunden Probanden und untersucht deren Zusammenhänge mit etablierten Parametern bei Multipler Sklerose. Dabei ergaben sich vor allem drei Ergebnisse:

- Es wurde kein Hinweis auf eine venöse Abflussstörung im Sinne der CCSVI-Hypothese gefunden.
- 2. Die Gefäßkaliber von MS-Patienten und Probanden unterscheiden sich nicht signifikant.
- 3. Die Gefäßdurchmesser korrelieren mit der Nervenfaserschichtdicke und dem Makulavolumen.

# 4.1 Kein Hinweis für venöse Abflussstörung

Die eingangs beschriebene These der Chronischen Cerebrospinalen Venösen Insuffizienz (CCSVI)<sup>16–18</sup> geht von einer venösen Abflussbehinderung im Bereich der Hals- und Rückenmarksvenen als pathogenetischem Faktor der MS aus. In deren Folge soll es zu den bekannten<sup>62,63</sup> venennahen Entzündungsreaktionen kommen. Dementsprechend werden Gefäßeingriffe als kausaler Therapieansatz verstanden und durchgeführt.

Der venöse Abfluss der Retina erfolgt zum größten Teil in die Vena jugularis interna<sup>64</sup>. Bei einer Abflussstörung in diesem Bereich, wäre also ein Rückstau in die retinalen Venen zu erwarten, was sich mit erweiterten retinalen Venen bei betroffenen Patienten darstellen müsste. Hierfür zeigt sich in unserer Studie jedoch kein Hinweis. Im Gegenteil, der Venendurchmesser war bei MS-Patienten reduziert, jedoch nicht statistisch signifikant.

Damit reiht sich diese Studie in eine ganze Serie von Untersuchungen ein, die in Reaktion auf die umstrittene CCSVI-These durchgeführt wurden und keinen Hinweis auf eine MS-spezifische venöse Abflussstörung finden konnten: Doepp et al.<sup>65</sup> untersuchten 56 MS-Patienten und 20 gesunde Probanden mittels Duplexsonographie und farbkodierter Dopplersonographie und fanden keinen signifikanten Unterschied im zerebralen und vertebralen Blutfluss bei MS-Patienten. Auch mittels kontrastmittelverstärkter Magnetresonanztomographie, die als sensitiver und weniger untersucherabhängig gilt als sonographische Verfahren, konnten Sundström et al.<sup>66</sup> und Doepp et al.<sup>67</sup> die beschriebene venöse Abflussstörung nicht nachvollziehen. Zudem konnten Meyer-Schwickerath et al.<sup>68</sup> mittels Ophthalmodynamometrie zeigen, dass der intrakranielle venöse Druck bei Patienten mit MS normal ist. Bei einer Behinderung des Abflusses wäre jedoch eine Druckerhöhung zu erwarten.

In weiteren Studien variiert die Prävalenz der CCSVI stark von 0-100% bei MS-Patienten und 0-23% bei gesunden Probanden<sup>69</sup>, was zum Einen suggeriert, dass die festgestellten venöse Abflussstörungen von MS unabhängig auftreten und zum Anderen auf mangelhaft reproduzierbare Diagnosekriterien hinweist.

Eben diese sonographischen Diagnosekriterien von Zamboni et al.<sup>18</sup> kritisiert die European Society of Neurosonology and Cerebral Hemodynamics<sup>70</sup> als willkürlich festgelegt, stark abhängig von äußeren Einflüssen und auf einer ganzen Reihe von technischen Fehlern basierend.

Trotz mangelnder Evidenz und teurer und potenziell gefährlicher Eingriffe erregt die CCSVI-Hypothese weiterhin große Aufmerksamkeit, gerade bei Patienten – getragen von der Hoffnung auf Heilung oder Besserung. Verstärkt wird diese Resonanz durch das Internet. So bieten Praxen und Kliniken – beispielsweise das "CCSVI-Center Frankfurt<sup>471</sup> – unkompliziert Diagnostik und Therapie für Selbstzahler und privatversicherte Patienten an. Geworben wird unter anderem mit enthusiastischen Patienten-Videos. Auf der Internet-Seite "CCSVI Tracking"<sup>72</sup> berichten Patienten von Ihren Erfahrungen nach CCSVI-Behandlungen. Bewertet wird dabei die Entwicklung einzelner Symptome oder Komplexe wie beispielsweis Müdigkeit oder Blasenkontrolle. Diese werden "statistisch" ausgewertet und zeichnen ein überwiegend positives Bild von den Behandlungserfolgen unter dem Anschein genauer Zahlen. Jedoch dürfte dieses Portal einem massiven Selektionsbias unterliegen. Zudem sind die Berechnungsgrundlagen nicht ersichtlich. Die Seite wird von anonymen Autoren geführt und bezeichnet sich selbst als unabhängig. Gleichzeitig wirbt sie jedoch auch für Spenden für eine "Brave Dreams" ("Kühne Träume") genannte Studie der italienischen CCSVI-Arbeitsgruppe Zambonis.

Vor dem Hintergrund der widersprüchlichen Evidenzlage und potenzieller Risiken stellt sich die Frage, ob Gefäßeingriffe medizinisch sinnvoll und ethisch gerechtfertigt sind. Zur Wirksamkeit von Gefäßeingriffen bei MS gibt es bislang keine doppelblinden, randomisierten und kontrollierten Studien. Einige unverblindete Studien konnten positive Effekte auf einzelne Krankheitsaspekte zeigen. Beispielsweise untersuchten Kostecki et al.<sup>73</sup> 36 Patienten mit MS über 6 Monate nach Angioplastie mit oder ohne Stenteinlage. Dabei konnten sie keine Besserung neurologischer Defizite feststellen. Jedoch besserte sich die Fatigue-Symptomatik, gemessen am Fatigue Severity Scale, und temporär auch die Lebensqualität, gemessen am Multiple Sclerosis Impact Scale. Als aktuelles Beispiel sei die Arbeit von Salvi et al.<sup>74</sup> genannt: Die Arbeitsgruppe untersuchte 29 Patienten mit schubförmiger MS nach Angioplastie über zwei Jahre. Auch diese Studie wurde unverblindet und unkontrolliert durchgeführt. Dabei stellten sie sowohl eine reduzierte Schubrate, als auch eine Verringerung der EDSS nach zwei Jahren fest. In weiteren kleinen Studien konnten ebenfalls einzelne positive Effekte nach Gefäßeingriffen festgestellt werden. Jedoch weisen all diese Studien methodische Mängel auf<sup>23</sup>, insbesondere die Abgrenzung des Placeboeffekts ist anhand der unkontrollierten Studien nicht möglich.

Eine der größten Studien zu diesem Thema wurde von Ghezzi et al.<sup>75</sup> durchgeführt: Für diese multizentrische, retrospektive Studie untersuchten sie 462 Patienten nach Ballondilatationen (93%) oder Stenteinlagen (7%). Dabei konnten sie keinen positiven Effekt auf die EDSS feststellen. Aufgrund des retrospektiven Ansatzes und der fehlenden Kontrollgruppe ist jedoch auch diese Studie methodischen Limitationen unterworfen. Interessant ist diese große Studie jedoch auch wegen eines anderen Aspekts: Bei 15 der 462 Patienten (3,2 %) traten schwere Komplikationen innerhalb von einem Monat nach der Behandlung auf, am häufigsten Jugularvenenthrombosen, aber auch beispielsweise ein Apoplex, ein Status epilepticus sowie ein Myocardinfarkt <sup>76</sup>.

Die European Society of Neurosonology and Cerebral Hemodynamics rät streng von potenziell gefährlichen Gefäßinterventionen ab<sup>70</sup>. Auch die Cardiovascular and Interventional Radological Society of Europe<sup>77</sup> vertritt die Auffassung, dass Gefäßinterventionen bei MS nicht indiziert sind. Mehrere aktuelle Reviews fassen die inzwischen umfangreiche, aber heterogene, Studienlage zusammen: Insgesamt können

sie keine hinreichende Evidenz für die CCSVI-Hypothese erkennen, um teure und gefährliche Gefäßeingriffe zu rechtfertigen<sup>22,23</sup>.

Dennoch hält die italienische Arbeitsgruppe die These und den Therapieansatz aufrecht: In einem aktuellen Artikel diskutieren Morovic und Zamboni<sup>78</sup> die widersprüchliche Studienlage. Für die deutlichen Unterschiede in der beschriebenen Prävalenz der CCSVI machen sie darin insbesondere unterschiedliche Untersuchungsprotokolle und die Untersucherabhängigkeit der Dopplersonographie verantwortlich. Auf Grund der angeborenen Variabilität des zerebralen Venensystems sei die Diagnose der CCSVI mittels Dopplersonographie und MRT erschwert, sodass die Negativstudien ihre These nicht widerlegten. Allerdings relativieren sie gleichzeitig die Rolle der CCSVI und bezeichnen sie nunmehr als "einen von vielen pathogenetischen Faktoren der MS".

#### 4.2 Keine veränderten Gefäßkaliber bei MS-Patienten

Mit dieser Studie konnten keine signifikanten Unterschiede bezüglich der retinalen Gefäßdurchmesser zwischen MS-Patienten und Probanden festgestellt werden. Es zeigt sich lediglich eine nicht signifikante Abnahme der Gefäßkaliber von Arterien und Venen nach langer Erkrankungsdauer (über 10 Jahre) oder nach Optikusneuritis.

Andere Arbeiten konnten dagegen diverse vaskuläre Veränderungen bei MS nachweisen: Gugleta et al.<sup>79</sup> untersuchten 21 Augen ohne Optikusneuritis-Anamnese von MS Patienten und ebenso viele Kontrollaugen und fanden bei MS-Augen signifikant verkleinerte Arterien sowie vergrößerte Venen. Sie verwendeten dabei im Gegensatz zur hier vorliegenden Studie optische Fundusfotos und Flickerlicht-Stimulation.

Mittels Perfusions-MRT und PET-Untersuchungen konnte außerdem eine globale Hypoperfusion des zentralen Nervensystems bei MS, sowohl in der grauen Substanz<sup>80</sup>, als auch in der läsionsfreien weißen Substanz<sup>81,82</sup>, gezeigt werden.

Sinnecker et al.<sup>83</sup> stellten zudem mittels Ultrahochfeld-MRT eine Abnahme der periventrikulären Venen bei MS-Patienten fest, die mit der Erkrankungsdauer und der Zahl der Läsionen in der weißen Substanz korreliert. Vor dem Hintergrund dieser vielfältigen vaskulären Veränderungen bei MS verwundern die diskreten und nicht signifikanten Veränderungen der vorliegenden Studie geradezu. Ein Grund hierfür könnte die insgesamt niedrige Erkrankungsdauer der Kohorte sein, die schon allein zu einem Viertel aus CIS-Patienten besteht, und bei der die vaskulären Veränderungen der Retina möglicherweise noch wenig ausgeprägt sind. Zudem ist die verwendete SLO-Bildgebung geringer aufgelöst als beispielsweise Fundusfotos, wodurch diskrete Kaliberveränderungen oder Veränderungen an besonders kleinen Gefäßen unbemerkt geblieben sein könnten (siehe auch Punkt 4.4 "Diskussion der Methodik").

# 4.3 Der Durchmesser retinaler Arterien und Venen korreliert mit Nervenfaserschichtdicke und Makulavolumen

Die Ergebnisse dieser Studie zeigen einen Zusammenhang zwischen dem durchschnittlichen Gefäßdurchmesser und der Nervenfaserschichtdicke (RNFLT) bzw. dem Maculavolumen (TMV). RNFLT und TMV sind – wie eingangs beschrieben – zunehmend relevante Parameter in der Forschung und Diagnostik der Multiplen Sklerose. Diese Studie zeigt nun, dass diese Parameter hoch signifikant mit den Gefäßdurchmessern korrelieren: Je größer die Gefäße im Durchschnitt sind, desto größer sind auch die Messwerte für RNFLT und TMV.

Für die RNFLT ist dies bereits bekannt und mindestens zum Teil auf einen direkten Einfluss der Blutgefäße zurückzuführen, die in der Nervenfaserschicht mit erfasst werden<sup>84</sup>. Die Macula hingegen ist frei von größeren Blutgefäßen<sup>85</sup>. Die Korrelation von Maculavolumen und Gefäßdurchmesser scheint also über die reine Miterfassung von Gefäßen hinauszugehen.

Bei der Segmentierung einzelner Retina-Schichten, wie sie eingangs beschrieben wurde, stellen die retinalen Gefäße ohnehin bereits ein Hindernis dar: Sie erschweren die Trennung der Schichten und verursachen Artefakte. Zukünftig sollte bei der Vermessung von RNFLT und TMV darüber hinaus an das Kaliber der Gefäße als möglichen Einflussfaktor gedacht werden. Gemessene Effekte könnten möglicherweise durch Gefäßveränderungen verstärkt oder maskiert werden. Zu berücksichtigen gilt es zudem einen möglichen Alterseffekt: Obwohl die Korrelationen der Gefäßkaliber mit dem Alter der gesunden Probanden in dieser Studie (knapp) nicht signifikant sind, suggerieren die Daten dennoch, dass es einen Alterseffekt geben könnte. Insbesondere die Venendurchmesser scheinen tendenziell mit höherem Alter abzunehmen. Das unterstreicht die Wichtigkeit einer Alterskorrektur für zukünftige Vergleiche der retinalen Gefäße und – aufgrund der Korrelation – von TMV und RNFLT.

#### 4.4 Diskussion der Methodik

Für diese Studie wurde eine neu entwickelte Methodik verwendet: Es wurde eine halbautomatische Vermessung der Gefäße auf Fundusbildern mit einem hierfür entworfenen Algorithmus durchgeführt. Mit diesem computergestützten Messansatz ist es gelungen, sehr gut reproduzierbare Ergebnisse zu erzielen, die praktisch nicht untersucherabhängig sind, wie die Inter-Klassen-Korrelation von 0.995 zeigt. Zudem arbeitet der Algorithmus sehr zuverlässig: Die manuelle Nachkontrolle ergab nur in 3% der Messungen Fehler des Programms, die zum Ausschluss des jeweiligen Messwerts führten. Dies war insbesondere im Bereich von überlappenden Gefäßen oder Bildartefakten der Fall.

Die retinalen Gefäße wurden auf laserophthalmoskopischen Fundusbildern (SLO) erfasst, die bei vielen OCT-Geräten automatisch mit angefertigt werden und deshalb für MS-Patienten gut verfügbar sind. Die meisten Studien, die retinale Gefäßveränderungen untersuchen, setzen jedoch nicht auf SLO-Bilder, sondern auf optische Fundusfotos. SLO-Bilder sind kontrastreicher, was hilfreich für die Abgrenzung der Gefäße ist, jedoch geringer aufgelöst. Durch diese geringere Auflösung könnten dezente Kaliberveränderungen oder Veränderungen an besonders kleinen Gefäßen unentdeckt geblieben sein.

Der gewählte Messpunkt wurde auf einem papillennahen Ring festgelegt. Dieser Bereich bietet den Vorteil, dass die Gefäße zumeist groß genug sind, um ausreichend erfassbar zu sein. Dadurch werden die meisten Gefäße, die die Papille verlassen, erfasst. Allerdings beschränkt sich die Quantifizierung der Gefäße auch auf diesen einen Punkt. Effekte, die möglicherweise die distale Blutversorgung, Gefäßverzweigungen oder die lokale Gefäßverteilung betreffen, werden nicht mit erfasst.

Aus diesem Grund entwickelt unsere Arbeitsgruppe derzeit einen Algorithmus, um Gefäße in ihrer gesamten Darstellung zu verfolgen und anhand verschiedener Parameter, wie etwa der Länge und der Verzweigungen, zu quantifizieren. Ähnliche Ansätze werden bereits in der Hypertonus-Forschung angewandt, wo sich beispielsweise Unterschiede in der Windung von Gefäßen zeigen<sup>86</sup>. Auf diese Art wäre eine noch feinere Erfassung möglicher Gefäßveränderungen möglich.

Die Einsatzmöglichkeiten einer solchen Methodik sind breit: So kann sie nicht nur bei Multipler Sklerose und den eingangs erwähnten systemischen Erkrankungen Anwendung finden. Sie könnte zudem einen Beitrag zum Verständnis der Pathophysiologie vieler weiterer neurologischer Erkrankungen liefern, bei denen vaskuläre Aspekte eine Rolle spielen könnten.

#### 4.5 Zusammenfassung

Diese Studie konnte keinen Hinweis für eine venöse Abflussstörung im Sinne der umstrittenen CCSVI-These finden und liefert mit einem neuen Untersuchungsansatz einen weiteren Hinweis gegen eine solche venöse Störung bei Multipler Sklerose. Dem entgegen stehen einige Studien, die einzelne positive Effekte nach Gefäßeingriffen bei MS-Patienten zeigen konnten. All diese Studien weisen jedoch methodische Mängel auf, insbesondere fehlen doppelblinde und kontrollierte Studien, die eine Abgrenzung des Placeboeffekts ermöglichen. Vor dem Hintergrund fehlender belastbarer Therapiestudien und teils schwerer Komplikationen nach Gefäßeingriffen, wird derzeit von solchen Interventionen abgeraten.

Die Gefäßkaliber der MS-Patienten unterscheiden sich in der vorliegenden Studie nicht von denen der Probanden. Allerdings konnte eine Korrelation der OCT-Parameter RNFLT und TMV mit den Gefäßdurchmessern gezeigt werden. Dieser Zusammenhang sollte als möglicher Störfaktur bei der Untersuchung von RNFLT und TMV künftig berücksichtigt werden.

# 5. Literaturverzeichnis

- 1. Noseworthy JH, Lucchinetti C, Rodriguez M, Weinshenker BG. Multiple sclerosis. N. Engl. J. Med 2000;343:938–52.
- **2**. Liguori M, Marrosu MG, Pugliatti M, et al. Age at onset in multiple sclerosis. Neurol. Sci 2000;21:S825-9.
- **3**. Pugliatti M, Sotgiu S, Rosati G. The worldwide prevalence of multiple sclerosis. Clin Neurol Neurosurg 2002;104:182–91.
- **4**. Frohman EM, Racke MK, Raine CS. Multiple sclerosis--the plaque and its pathogenesis. N. Engl. J. Med 2006;354:942–55.
- 5. D'haeseleer M, Cambron M, Vanopdenbosch L, Keyser J de. Vascular aspects of multiple sclerosis. Lancet Neurol 2011;10:657–66.
- 6. Gold R, Hartung HP. Leitlinien der DGN Diagnostik und Therapie der Multiplen Sklerose, 2008. (Zuletzt abgerufen am 29.11.2011, auf http://www.dgn.org/inhalte-az/437-leitlinien-der-dgn-diagnostik-und-therapie-der-multiplen-sklerose.html).
- 7. Compston A, Coles A. Multiple sclerosis. Lancet 2008;372:1502–17.
- 8. Confavreux C, Vukusic S, Moreau T, Adeleine P. Relapses and progression of disability in multiple sclerosis. N. Engl. J. Med 2000;343:1430–8.
- Brex PA, Ciccarelli O, O'Riordan JI, Sailer M, Thompson AJ, Miller DH. A longitudinal study of abnormalities on MRI and disability from multiple sclerosis. N. Engl. J. Med 2002;346:158–64.
- **10**.Rizzo JF, Lessell S. Risk of developing multiple sclerosis after uncomplicated optic neuritis: a long-term prospective study. Neurology 1988;38:185–90.
- **11**.Sandberg-Wollheim M, Bynke H, Cronqvist S, Holtås S, Platz P, Ryder LP. A longterm prospective study of optic neuritis: evaluation of risk factors. Ann. Neurol 1990;27:386–93.
- **12**.Montalban X. Primary progressive multiple sclerosis. Curr. Opin. Neurol 2005;18:261–6.
- **13**.Confavreux C, Vukusic S. Age at disability milestones in multiple sclerosis. Brain 2006;129:595–605.
- 14.McDonald WI, Compston A, Edan G, et al. Recommended diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines from the International Panel on the diagnosis of multiple sclerosis. Ann. Neurol 2001;50:121–7.
- **15**.Polman CH, Reingold SC, Banwell B, et al. Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2010 revisions to the McDonald criteria. Ann. Neurol 2011;69:292–302.
- **16**.Zamboni P, Menegatti E, Bartolomei I, et al. Intracranial venous haemodynamics in multiple sclerosis. Curr Neurovasc Res 2007;4:252–8.
- 17.Zamboni P, Galeotti R, Menegatti E, et al. Chronic cerebrospinal venous insufficiency in patients with multiple sclerosis. J. Neurol. Neurosurg. Psychiatr 2009;80:392–9.
- Zamboni P, Menegatti E, Galeotti R, et al. The value of cerebral Doppler venous haemodynamics in the assessment of multiple sclerosis. J. Neurol. Sci 2009;282:21– 7.
- **19**.Zamboni P. The big idea: iron-dependent inflammation in venous disease and proposed parallels in multiple sclerosis. J R Soc Med 2006;99:589–93.
- **20**.Zamboni P, Galeotti R, Menegatti E, et al. A prospective open-label study of endovascular treatment of chronic cerebrospinal venous insufficiency. J. Vasc. Surg 2009;50:1348-58.e1-3.

- **21**.Zamboni P, Galeotti R, Weinstock-Guttman B, Kennedy C, Salvi F, Zivadinov R. Venous angioplasty in patients with multiple sclerosis: results of a pilot study. Eur J Vasc Endovasc Surg 2012;43:116–22.
- 22.Wattjes MP, Doepp F, Bendszus M, Fiehler J. "Chronische zerebrospinale venöse Insuffizienz" bei Multipler Sklerose - Ist die Multiple Sklerose eine Erkrankung des zerebrospinalen venösen Abflusssystems? ["Chronic cerebrospinal venous insufficiency" in multiple sclerosis - is multiple sclerosis a disease of the cerebrospinal venous outflow system?]. Rofo 2011;183:523–30.
- **23**.Valdueza JM, Doepp F, Schreiber SJ, et al. What went wrong? The flawed concept of cerebrospinal venous insufficiency. J. Cereb. Blood Flow Metab 2013;33:657–68.
- **24**.Huang D, Swanson EA, Lin CP, et al. Optical coherence tomography. Science 1991;254:1178–81.
- **25**.Hüttmann G, Lankenau E, Schulz-Wackerbarth C, Müller M, Steven P, Birngruber R. Ubersicht der apparativen Entwicklungen in der optischen Kohärenztomografie: von der Darstellung der Retina zur Unterstützung therapeutischer Eingriffe [Optical coherence tomography: from retina imaging to intraoperative use a review]. Klin Monbl Augenheilkd 2009;226:958–64.
- **26**.Gambichler T, Jaedicke V, Terras S. Optical coherence tomography in dermatology: technical and clinical aspects. Arch. Dermatol. Res 2011;303:457–73.
- 27.Lee LB, Srivastava SK. Intraoperative spectral-domain optical coherence tomography during complex retinal detachment repair. Ophthalmic Surg Lasers Imaging 2011;42:e71-4.
- **28**.Walther J, Gaertner M, Cimalla P, et al. Optical coherence tomography in biomedical research. Anal Bioanal Chem 2011;400:2721–43.
- **29**.Bommas-Ebert U, Teubner P, Voß R. Kurzlehrbuch Anatomie und Embryologie. Stuttgart: Thieme, 2011. ISBN: 9783131355331.
- **30**.Blumenthal EZ, Parikh RS, Pe'er J, et al. Retinal nerve fibre layer imaging compared with histological measurements in a human eye. Eye (Lond) 2009;23:171–5.
- **31**.Fisher JB, Jacobs DA, Markowitz CE, et al. Relation of visual function to retinal nerve fiber layer thickness in multiple sclerosis. Ophthalmology 2006;113:324–32.
- **32**.Bock M, Brandt AU, Dörr J, et al. Patterns of retinal nerve fiber layer loss in multiple sclerosis patients with or without optic neuritis and glaucoma patients. Clin Neurol Neurosurg 2010;112:647–52.
- **33**.Oberwahrenbrock T, Schippling S, Ringelstein M, et al. Retinal damage in multiple sclerosis disease subtypes measured by high-resolution optical coherence tomography. Mult Scler Int 2012;2012:530305.
- **34**.Petzold A, Boer JF de, Schippling S, et al. Optical coherence tomography in multiple sclerosis: a systematic review and meta-analysis. Lancet Neurol 2010;9:921–32.
- **35**.Talman LS, Bisker ER, Sackel DJ, et al. Longitudinal study of vision and retinal nerve fiber layer thickness in multiple sclerosis. Ann. Neurol 2010;67:749–60.
- **36**.Costello F, Coupland S, Hodge W, et al. Quantifying axonal loss after optic neuritis with optical coherence tomography. Ann. Neurol 2006;59:963–9.
- **37**.Whitaker JN, McFarland HF, Rudge P, Reingold SC. Outcomes assessment in multiple sclerosis clinical trials: a critical analysis. Mult. Scler 1995;1:37–47.
- 38.Saidha S, Syc SB, Durbin MK, et al. Visual dysfunction in multiple sclerosis correlates better with optical coherence tomography derived estimates of macular ganglion cell layer thickness than peripapillary retinal nerve fiber layer thickness. Mult. Scler 2011;17:1449–63.

- **39**.Saidha S, Syc SB, Ibrahim MA, et al. Primary retinal pathology in multiple sclerosis as detected by optical coherence tomography. Brain 2011;134:518–33.
- **40**.Syc SB, Saidha S, Newsome SD, et al. Optical coherence tomography segmentation reveals ganglion cell layer pathology after optic neuritis. Brain 2012;135:521–33.
- **41**.Vermeer KA, van der Schoot J, Lemij HG, Boer JF de. Automated segmentation by pixel classification of retinal layers in ophthalmic OCT images. Biomed Opt Express 2011;2:1743–56.
- **42**.Zimmermann H, Freing A, Kaufhold F, et al. Optic neuritis interferes with optical coherence tomography and magnetic resonance imaging correlations. Mult. Scler 2012.
- **43**.Green AJ, McQuaid S, Hauser SL, Allen IV, Lyness R. Ocular pathology in multiple sclerosis: retinal atrophy and inflammation irrespective of disease duration. Brain 2010;133:1591–601.
- **44**.Kerrison JB, Flynn T, Green WR. Retinal pathologic changes in multiple sclerosis. Retina (Philadelphia, Pa.) 1994;14:445–51.
- **45**.Oberwahrenbrock T, Ringelstein M, Jentschke S, et al. Retinal ganglion cell and inner plexiform layer thinning in clinically isolated syndrome. Mult. Scler 2013.
- **46**.Dörr J, Wernecke KD, Bock M, et al. Association of retinal and macular damage with brain atrophy in multiple sclerosis. PLoS ONE 2011;6:e18132.
- **47**.Burkholder BM, Osborne B, Loguidice MJ, et al. Macular volume determined by optical coherence tomography as a measure of neuronal loss in multiple sclerosis. Arch. Neurol 2009;66:1366–72.
- **48**.Liew G, Sharrett AR, Wang JJ, et al. Relative importance of systemic determinants of retinal arteriolar and venular caliber: the atherosclerosis risk in communities study. Arch. Ophthalmol 2008;126:1404–10.
- **49**.Wong TY, Klein R, Klein BE, Tielsch JM, Hubbard L, Nieto FJ. Retinal microvascular abnormalities and their relationship with hypertension, cardiovascular disease, and mortality. Surv Ophthalmol 2001;46:59–80.
- **50**.Ikram MK, Jong FJ de, Vingerling JR, et al. Are retinal arteriolar or venular diameters associated with markers for cardiovascular disorders? The Rotterdam Study. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci 2004;45:2129–34.
- **51**.McGeechan K, Liew G, Macaskill P, et al. Prediction of incident stroke events based on retinal vessel caliber: a systematic review and individual-participant metaanalysis. Am. J. Epidemiol 2009;170:1323–32.
- **52**.Jong FJ de, Schrijvers EMC, Ikram MK, et al. Retinal vascular caliber and risk of dementia: the Rotterdam study. Neurology 2011;76:816–21.
- **53**.Lennon VA, Kryzer TJ, Pittock SJ, Verkman AS, Hinson SR. IgG marker of opticspinal multiple sclerosis binds to the aquaporin-4 water channel. J. Exp. Med 2005;202:473–7.
- **54**.Lennon VA, Wingerchuk DM, Kryzer TJ, et al. A serum autoantibody marker of neuromyelitis optica: distinction from multiple sclerosis. Lancet 2004;364:2106–12.
- **55**.Jarius S, Ruprecht K, Wildemann B, et al. Contrasting disease patterns in seropositive and seronegative neuromyelitis optica: A multicentre study of 175 patients. J Neuroinflammation 2012;9:14.
- **56**. Green AJ, Cree BAC. Distinctive retinal nerve fibre layer and vascular changes in neuromyelitis optica following optic neuritis. J. Neurol. Neurosurg. Psychiatr 2009;80:1002–5.

- **57**.Hubbard LD, Brothers RJ, King WN, et al. Methods for evaluation of retinal microvascular abnormalities associated with hypertension/sclerosis in the Atherosclerosis Risk in Communities Study. Ophthalmology 1999;106:2269–80.
- 58.Heidelberg Engineering. Webpräsentation des Spectralis OCT. (Zuletzt abgerufen am 24.07.2013, auf http://www.heidelbergengineering.com/germany/produkte/spectralis/bildgebungsverf ahren/spektral-domanen-oct/).
- **59**. Wayne Rasband. ImageJ, Image Processing and Analysis in Java, 2010. (Zuletzt abgerufen am 11.10.2011, auf http://rsbweb.nih.gov/ij/docs/intro.html).
- 60.Michael Goldbaum. The STARE Project, STructured Analysis of the Retina Database. (Zuletzt abgerufen am 27.01.2013, auf http://www.parl.clemson.edu/~ahoover/stare/index.html).
- **61**. Hoover A, Kouznetsova V, Goldbaum M. Locating blood vessels in retinal images by piecewise threshold probing of a matched filter response. IEEE Trans Med Imaging 2000;19:203–10.
- **62**.Fog T. The topography of plaques in multiple sclerosis with special reference to cerebral plaques. Acta Neurol. Scand., Suppl.c 1965;15:1–161.
- **63**.Putnam T. J. Lesions of "encephalomyelitis" and Multiple Sclerosis. JAMA 1937;108:1477–80.
- **64**.Zilles K, Tillmann BN. Anatomie. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2010. ISBN: 3540694838.
- **65**.Doepp F, Paul F, Valdueza JM, Schmierer K, Schreiber SJ. No cerebrocervical venous congestion in patients with multiple sclerosis. Ann. Neurol 2010;68:173–83.
- **66**.Sundström P, Wåhlin A, Ambarki K, Birgander R, Eklund A, Malm J. Venous and cerebrospinal fluid flow in multiple sclerosis: a case-control study. Ann. Neurol 2010;68:255–9.
- **67**.Doepp F, Würfel JT, Pfueller CF, et al. Venous drainage in multiple sclerosis: a combined MRI and ultrasound study. Neurology 2011;77:1745–51.
- **68**.Meyer-Schwickerath R, Haug C, Hacker A, et al. Intracranial venous pressure is normal in patients with multiple sclerosis. Mult. Scler 2011;17:637–8.
- **69**. Ghezzi A, Comi G, Federico A. Chronic cerebro-spinal venous insufficiency (CCSVI) and multiple sclerosis. Neurol. Sci 2011;32:17–21.
- **70**.Baracchini C, Valdueza JM, Del Sette M, et al. CCSVI and MS: a statement from the European Society of neurosonology and cerebral hemodynamics. Journal of neurology 2012.
- **71**.Stehling IfBDO. CCSVI Diagnose und Behandlung. (Zuletzt abgerufen am 17.07.2013, auf http://www.ccsvi-center.de).
- **72**.Anonyme Autoren. CCSVI Tracking. (Zuletzt abgerufen am 17.07.2013, auf http://www.ccsvi-tracking.com).
- **73**.Kostecki J, Zaniewski M, Ziaja K, et al. An endovascular treatment of Chronic Cerebro-Spinal Venous Insufficiency in multiple sclerosis patients 6 month follow-up results. Neuro Endocrinol. Lett 2011;32:557–62.
- **74**.Salvi F, Bartolomei I, Buccellato E, Galeotti R, Zamboni P. Venous angioplasty in multiple sclerosis: neurological outcome at two years in a cohort of relapsing-remitting patients. Funct. Neurol 2012;27:55–9.
- **75**.Ghezzi A, Annovazzi P, Cocco E, et al. Endovascular treatment of CCSVI in patients with multiple sclerosis: clinical outcome of 462 cases. Neurol. Sci 2013.

- **76**.Ghezzi A, Annovazzi P, Amato MP, et al. Adverse events after endovascular treatment of chronic cerebro-spinal venous insufficiency (CCSVI) in patients with multiple sclerosis. Mult. Scler 2013;19:961–3.
- **77**.Reekers JA, Lee MJ, Belli AM, Barkhof F. Cardiovascular and Interventional Radiological Society of Europe commentary on the treatment of chronic cerebrospinal venous insufficiency. Cardiovasc Intervent Radiol 2011;34:1–2.
- **78**.Morovic S, Zamboni P. CCSVI is associated with multiple sclerosis. Neurol. Res 2012;34:770–9.
- **79**.Gugleta K, Kochkorov A, Kavroulaki D, et al. Retinal vessels in patients with multiple sclerosis: baseline diameter and response to flicker light stimulation. Klin Monbl Augenheilkd 2009;226:272–5.
- 80.Sun X, Tanaka M, Kondo S, Okamoto K, Hirai S. Clinical significance of reduced cerebral metabolism in multiple sclerosis: a combined PET and MRI study. Ann Nucl Med 1998;12:89–94.
- 81.Adhya S, Johnson G, Herbert J, et al. Pattern of hemodynamic impairment in multiple sclerosis: dynamic susceptibility contrast perfusion MR imaging at 3.0 T. Neuroimage 2006;33:1029–35.
- **82**.Law M, Saindane AM, Ge Y, et al. Microvascular abnormality in relapsing-remitting multiple sclerosis: perfusion MR imaging findings in normal-appearing white matter. Radiology 2004;231:645–52.
- **83**.Sinnecker T, Bozin I, Dörr J, et al. Periventricular venous density in multiple sclerosis is inversely associated with T2 lesion count: a 7 Tesla MRI study. Multiple sclerosis (Houndmills, Basingstoke, England) 2012.
- **84**.Hood DC, Fortune B, Arthur SN, et al. Blood vessel contributions to retinal nerve fiber layer thickness profiles measured with optical coherence tomography. J. Glaucoma 2008;17:519–28.
- **85**.Schiebler TH, Korf H. Anatomie, Histologie, Entwicklungsgeschichte, makroskopische und mikroskopische Anatomie, Topographie. Darmstadt: Steinkopff, 2007. ISBN: 3798517703.
- **86**.Cheung CY, Tay WT, Mitchell P, et al. Quantitative and qualitative retinal microvascular characteristics and blood pressure. J. Hypertens 2011;29:1380–91.

# 6. Eidesstattliche Versicherung

"Ich, Frieder Bilger, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: "Quantifizierung retinaler Gefäße bei Multipler Sklerose – Kann sie einen Beitrag zur Untersuchung venöser Pathologien leisten?" selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung (siehe "Uniform Requirements for Manuscripts (URM)" des ICMJE -www.icmje.org) kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem/der Betreuer/in, angegeben sind. Sämtliche Publikationen, die aus dieser Dissertation hervorgegangen sind und bei denen ich Autor bin, entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§156,161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst."

Datum

Unterschrift

### Anteilserklärung an etwaigen erfolgten Publikationen

Frieder Bilger hatte folgenden Anteil an den folgenden Publikationen:

**Publikation 1:** Schneider E, Zimmermann H, Oberwahrenbrock T, Kaufhold F, Kadas EM, Petzold A, **Bilger F** et al. *Optical Coherence Tomography Reveals Distinct Patterns of Retinal Damage in Neuromyelitis Optica and Multiple Sclerosis.* PLoS ONE 2013; 8(6): e66151

**Beitrag im Einzelnen (bitte kurz ausführen):** Evaluation einer Methode zur Quantifizierung retinaler Gefäße sowie Vermessung dieser Gefäße bei MS-Patienten. Diese Ergebnisse haben letztlich keinen Eingang in die Publikation gefunden.

Unterschrift, Datum und Stempel des betreuenden Hochschullehrers (nicht in der gedruckten Dissertation)

Unterschrift des Doktoranden/der Doktorandin

# 7. Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

# 8. Publikationsliste

1. Elisa Schneider, Hanna Zimmermann, Timm Oberwahrenbrock, Falko Kaufhold, Ella Maria Kadas, Axel Petzold, **Frieder Bilger**, Sven Jarius, Brigitte Wildemann, Klemens Ruprecht, Alexander U. Brandt, Friedemann Paul:

*Optical Coherence Tomography Reveals Distinct Patterns of Retinal Damage in Neuromyelitis Optica and Multiple Sclerosis* 

PLoS ONE 2013; 8(6): e66151 doi:10.1371/journal.pone.0066151