

Aus dem  
NeuroCure Clinical Research Center  
Exzellenzcluster NeuroCure  
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Thema:

**Quantifizierung des neurodegenerativen Status bei  
Patienten mit Multipler Sklerose durch optische  
Kohärenztomographie in Abhängigkeit zum visuellen  
Funktionszustand**

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Markus Bock

aus Berlin

Gutachter: 1. Herr Prof. Dr. med. Friedemann Paul

2. Herr Prof. Dr. med. Orhan Aktas

3. Frau Prof. Dr. med. Brigitte Wildemann

Datum der Promotion: 17.12.2013

Meinen Eltern

Abkürzungsverzeichnis.....	5
Zusammenfassung .....	6
Einleitung und Zielsetzung.....	7
Patienten und Methodik.....	10
Studienteilnehmer .....	10
Klinische Untersuchungen .....	10
Messinstrumente und Analysemethoden .....	11
Optische Kohärenztomographie – Funktionsprinzip .....	11
Optische Kohärenztomographie – Messungen mittels Time Domain-OCT .....	12
Optische Kohärenztomographie – Messungen mittels Spektral Domain-OCT ..	12
Qualitätssicherung - OCT .....	13
Functional Acuity Contrast Testing (FACT) .....	13
Statistische Datengewinnung .....	14
Ergebnisse.....	15
Studienteilnehmer .....	15
Verlust der retinalen Nervenfaserschichtdicke in Multipler Sklerose und Glaukom (Publikation 1).....	16
Eindeutiger Verlust der retinalen Nervenfaserschichtdicke in Multipler Sklerose und glaukomatöser Optikusatrophie .....	16
Verlust der retinalen Nervenfaserschichtdicke in Multipler Sklerose ohne Neuritis nervi optici .....	16
Fokaler Axonschaden in Multipler Sklerose nach abgelaufener Neuritis nervi optici .....	17
Funktionelle Kontrastsensitivität und OCT (Publikation 2) .....	17
Abhängigkeit der funktionellen Kontrastsensitivität von der retinalen Nervenfaserschichtdicke und dem Makulavolumen .....	17
Intertomogrammvergleich TD-OCT „Stratus“ und SD-OCT „Cirrus“ (Publikation 3) .....	18
Korrelations- und Signifikanzniveau .....	18
Kein signifikanter Unterschied zwischen SD- und TD-OCT in MS mit abgelaufener Neuritis nervi optici im temporalen Quadranten.....	19
Diskussion .....	19
Literaturverzeichnis .....	26
Tabellen, Abbildungen und Videomaterial .....	34
Anteilsklärung.....	41
Ausgewählte Publikationen.....	42
Patterns of retinal nerve fiber layer loss in multiple sclerosis patients with or without optic neuritis and glaucoma patients.....	43
Impairment of contrast visual acuity as a functional correlate of retinal nerve fibre layer thinning and total macular volume reduction in multiple sclerosis. ....	49
Time domain and spectral domain optical coherence tomography in multiple sclerosis: a comparative cross-sectional study. ....	55
Curriculum vitae.....	59
Publikationsliste.....	60
Selbständigkeitserklärung .....	62
Danksagung .....	63

## **Abkürzungsverzeichnis**

AUC - Area Under the Log Contrast Sensitivity Function

EDSS – Expanded Disability Status Scale

FACT – Functional Acuity Contrast Testing

fKS – funktionelle Kontrastsensitivität

GA – glaukomatöse Optikusatrophie

GEE – Generalized Estimating Equation models (Verallgemeinerte Schätzungsgleichungen)

GK – gesunde Kontrollen

mAUC – Fläche unter der Log Kontrastsensitivitätsfunktion während mesopischer Bedingungen

MV - Makulavolumen

MS – Multiple Sklerose

MSNNO – Multiple Sklerose mit abgelaufener Neuritis nervi optici

MSO – Multiple Sklerose ohne Neuritis nervi optici

NNO – Neuritis nervi optici

OCT – optische Kohärenztomographie

OF – Ortsfrequenz

pAUC – Fläche unter der Log Kontrastsensitivitätsfunktion während photopischer Bedingungen

Qi, Qs, Qn, Qt – Aufteilung der RNFS in einzelne Quadranten (90°) inferior, superior, nasal und temporal

RNFS – retinale Nervenfaserschicht

RNFSd – retinale Nervenfaserschichtdicke (Mittelwert aller A-Scan Messungen)

SD-OCT – Spektral Domain optische Kohärenztomographie

TD-OCT – Time Domain optische Kohärenztomographie

## **Zusammenfassung**

Die Multiple Sklerose, auch als Encephalomyelitis disseminata bezeichnet, ist in westlichen Ländern die häufigste, nicht traumatische, neurologische Erkrankung im jungen Erwachsenenalter und führt zu chronischer Behinderung. Die Ursache der Erkrankung ist trotz großer Forschungsanstrengungen nicht geklärt. Aktuell können weder klinische noch paraklinische Messinstrumente den genauen Behinderungsgrad und den Verlauf der Multiplen Sklerose (MS) abschätzen. Die Forderung nach Erfassung des neurodegenerativen Status bei MS nimmt dementsprechend zu. Strukturelle Untersuchungen des ZNS mittels MRT besitzen eine Schlüsselstellung, diskriminieren zwischen Demyelinisierung und axonalem Schaden aber nur unzureichend und weisen eine Diskrepanz zwischen Läsionslast und klinischer Symptomatik auf. Die axonale Degeneration geht mit dem allmählichen Verlust physiologischer Funktionen einher. Es ist darum von besonderer Bedeutung neue bildgebende Methoden zur Darstellung der Neurodegeneration, besonders in Hinblick auf eine optimale Therapiegestaltung, zu etablieren. Die Verknüpfung des visuellen Funktionszustandes mit retinalen nicht-myelinisierten Strukturen, welche mit optischer Kohärenztomographie (OCT) messbar sind, könnte das Verständnis, wie neuronale Degeneration mit Erkrankungsverlauf und pharmakologischer Intervention zusammenhängt, verbessern.

Zielstellung dieser Studie war eine differenzierte Untersuchung der zum ZNS gehörigen, nicht-myelinisierten retinalen Strukturen und der funktionellen Sehschärfe. Dazu wurden bei MS-Patienten und gesunden Kontrollen (GK) die retinale Nervenfaserschichtdicke (RNFS) und das Makulavolumen (MV) mittels optischer Kohärenztomographie (OCT) sowie die funktionelle Kontrastsensitivität (fKS) mittels eines Multivisionskontrasttesters gemessen. Darüber hinaus untersuchten wir den Zusammenhang zwischen der konventionell eingesetzten Time Domain-OCT (TD-OCT) und der Folgegeneration Spektral Domain-OCT (SD-OCT).

Die retinalen Schnittbilder der MS-Patienten wurden mit denen der GK und mit OCT-Tomogrammen von Glaukom-Patienten verglichen. Die erhobenen Messungen der fKS von MS-Patienten und GK wurden gegenübergestellt und mit den OCT-Parametern der MS-Betroffenen und GK korreliert.

Beide Untersuchungsgeräte stellten unabhängig voneinander Verluste der gemessenen Strukturen oder der Sehfunktion dar, die mit MRT oder Visus-Messung nicht gefunden werden konnten. Es zeigten sich eindeutige Verringerungen der

RNFSD und des MV bei MS. Die Verteilung der RNFS-Verminderung umfasste das gesamte gemessene peripapilläre Areal, wobei sich innerhalb der MS-Subpopulation mit abgelaufener Neuritis nervi optici (MSNNO) zusätzliche prominente Schädigungen des temporalen Sektors darstellten. Die fKS zeigte sich als äußerst sensitiv, um funktionelle Sehschärfen-Unterschiede zwischen den MS-Patienten und den GK aufzudecken, die mit normaler Messung der Sehschärfe nicht auffielen. Zudem fungierten die RNFSD als auch das MV als prädiktive Faktoren für die fKS bei MS, aber nicht bei GK. Innerhalb der MS-Kohorte korrelierten SD- und TD-OCT Ergebnisse hervorragend, gleichzeitig jedoch wichen die absolut gemessenen Werte voneinander, in Abhängigkeit zu den gemessenen Schichtdicken, ab.

Durch Anwendung von OCT und fKS bei MS konnten hochauflösend strukturelle und funktionelle Veränderungen des ZNS *nicht invasiv* und *In-vivo* beobachtet werden, die miteinander in hohem Grade korrelieren und bislang nicht detektierbar waren. OCT und fKS sind somit potenzielle mögliche Endpunkte der neurodegenerativen Verlaufskontrolle und neuroprotektiver Strategien in MS.

## **Einleitung und Zielsetzung**

Die Multiple Sklerose (MS) ist die häufigste immunvermittelte chronisch entzündliche Erkrankung des Zentralnervensystems (ZNS) bei jungen Menschen in westlichen Ländern und führt zu Demyelinisierung, Axonuntergang und folglich zu chronischer Behinderung<sup>1,2</sup>. Initial leiden 80-95% der Patienten am schubförmig - remittierenden Typ (RRMS) mit vollständiger oder partieller Erholung von den charakteristischen Schüben. Bei etwa 50% der Erkrankten wechselt die RRMS innerhalb von 10-15 Jahren in einen überwiegend progredienten Verlauf mit irreversiblen neurologischen Symptomen und permanenter Behinderung. Klinisch können alle neurologisch funktionellen Systeme Veränderungen zeigen. Initial sind 20-30% der Patienten im Rahmen eines klinisch isolierten Syndroms (CIS) von einem Sehverlust mit Zentralskotom betroffen. Die Neuritis nervi optici (NNO) ist hier ursächlich zu nennen und tritt im weiteren Erkrankungsverlauf bei rund 70-80% der MS-Betroffenen auf<sup>3-5</sup>. Ein medizinisches Problemfeld stellt die Objektivierung des funktionellen Behinderungsgrades, die Verlaufsprognose sowie die Evaluierung der Pharmakotherapie dar<sup>6,7</sup>. Obwohl der Magnetresonanztomographie (MRT) eine Schlüsselstellung in der Diagnosesicherung und Verlaufsbeurteilung anzurechnen ist, gibt sie nur unzureichend Auskunft über den Therapieerfolg bzw. die Prognose und korreliert mit dem

klinischen Behinderungsgrad oft nur schwach, was unter dem Begriff „klinisch-radiologisches Paradox“ bekannt ist<sup>8-10</sup>. Folglich sind bildgebende Verfahren dringend erforderlich, welche mit der klinischen Veränderung vereinbar sowie hochauflösend und von geringer Invasivität sind. Dadurch könnten einzelne Krankheitsmechanismen gezielt dargestellt sowie neue Pharmakotherapien evaluiert und ihre Wirkung auf die mit Behinderung stark assoziierte Neuro- und Axondegeneration objektiviert werden.

Als ein Forschungsschwerpunkt der vergangenen Jahre wuchs der Stellenwert der optischen Kohärenztomographie, (OCT), als eines hochauflösenden, nicht-invasiven weißlicht-interferometrischen Verfahrens an. Durch die OCT lässt sich die Morphologie der retinalen Substrukturen, wie z.B. der noch nicht myelinisierten retinalen Axone, in beinahe histologischer Auflösung darstellen. Darüber hinaus sind die Schnittbilder der zum Zentralnervensystem (ZNS) gehörigen Netzhaut voll quantifizierbar (Abbildung 1).

In der Ophthalmologie nimmt die OCT seit längerem den Stellenwert eines Goldstandards zur *In-vivo*-Diagnostik und Verlaufskontrolle zahlreicher primärer und sekundärer Retinopathien ein<sup>11-13</sup>. Beispielsweise verlangt die subklinische oder unklare glaukomatöse Optikusatrophie dem Untersucher bisher eine oft schwierig zu treffende subjektive Begutachtung der superioren und inferioren peripapillären Sektoren ab. Diese Sektoren werden aber als Prädilektionsstellen des RNFS Untergangs allgemein angesehen, wobei deren ophthalmoskopische Betrachtung leider stark untersucherabhängig ist. Durch die OCT gewinnt der Arzt gewichtige und zuvor unbekannt objektive Aspekte über die Retina, wie z.B. Morphologie, Schichtdicke und -volumen, welche zur individuellen und multizentrischen Befunderhebung unerlässlich geworden sind<sup>14-16</sup>.

Erst in jüngerer Zeit finden die durch OCT *In-vivo* beobachtbaren Schäden der vorderen Sehbahn und die möglichen Zusammenhänge zur hinteren Sehbahn, zu Alterationen der grauen und weißen Substanz sowie zu den assoziierten funktionellen Veränderungen (z.B. Kontrastsensitivität) in MS und bestimmten zentralen neuroinflammatorischen bzw. -degenerativen Erkrankungen Beachtung<sup>6,17-22</sup>. In klinischen und histopathologischen Untersuchungen sind immer wieder Veränderungen der neuroretinalen Schichten sowohl bei MS Patienten mit NNO (MSNNO) als auch ohne NNO (MSO) selbst unabhängig von Störungen der Sehfunktion beschrieben worden<sup>23-26</sup>. Darüber hinaus berichten einige Autoren, dass die



pathologischen Befunde der Retina mit dem Erkrankungsverlauf in Verbindung stehen könnten<sup>27,28</sup>.

Mittels OCT konnte in ersten aussichtsreichen humanen Studien unter Verwendung von Messprotokollen zur Darstellung der retinalen Nervenfaserschichtdicke (RNFS) und des Makulavolumens (MV) ein nicht-invasives Fenster geöffnet werden, um Zusammenhänge zwischen RNFS oder MV und Sehfunktion, akuter Krankheitsaktivität, Behinderungsgrad, Verlaufstyp, Krankheitsverlauf und einer möglichen Erfolgsevaluation von Pharmakotherapien *In-vivo* zu untersuchen<sup>29</sup>. Da die OCT seit zwei Jahrzehnten in vielen ophthalmologischen Studien eingesetzt wird, um pathologische Strukturveränderungen der retinalen Nervenfaserschicht (RNFS) und den korrespondierenden Neuronen in der inneren bzw. äußeren Körnerzellschicht zu beobachten, ist der Einsatz im neuro-ophthalmologischen Bereich vielversprechend<sup>30–33</sup>.

In der vorliegenden Arbeit wurden die OCT und der Functional Acuity Contrast Test (FACT), welcher die Empfindungsschwelle des Kontrastsehens objektiviert<sup>34,35</sup>, erprobt, um retinalen Nervenfaserver- und Neuronverlust sowie bestimmte Veränderungen der Sehfunktion bei MS-Patienten zu detektieren<sup>20</sup>. Zielsetzung der Querschnittsarbeit war:

1. die Darstellung der Verminderung der retinalen Nervenfaserschicht (RNFS) von MS-Patienten im Vergleich zu gesunden Kontrollen (GK) und Patienten mit glaukomatöser Optikusatrophie (GA) durch die OCT.
2. die Identifikation eindeutiger Degenerationsmuster der RNFS bei MSNNO, MSO und GA Patienten.
3. den Zusammenhang zwischen retinaler Morphologie und visueller Funktion anhand der RNFS, dem MV und der funktionellen Kontrastsensitivität (fKS) bei MS zu ermitteln.
4. die Untersuchung der fKS bei MS auf den klinischen Nutzen zu überprüfen.
5. die Überprüfung der Übertragbarkeit von Ergebnissen der Time Domain (TD)-OCT auf die Spectral Domain (SD)-OCT innerhalb einer Querschnittsstudie.

## **Patienten und Methodik**

### ***Studienteilnehmer***

Die drei diagnostischen Querschnittsstudien von prospektiv – konsekutiv rekrutierten Patienten wurden im Helios Klinikum Berlin Buch Schwanebecker Chaussee 50, 13125 Berlin und im NeuroCure Clinical Research Center der Charité-Universitätsmedizin Berlin Charitéplatz 1, 10117 Berlin durchgeführt. Der Rekrutierungszeitraum reichte von September 2007 bis Dezember 2009. Alle MS Patienten waren zum Zeitpunkt der Untersuchungen Teilnehmer an der klinischen Studie „Sunphenon EGCg (Epigallocatechin-Gallat) in schubförmig-remittierender Multipler Sklerose“ (Sunims – Studie) und willigten schriftlich in die Untersuchungen der Substudie „OCT und visueller Funktionszustand bei MS“ ein. Die gesunden Kontrollen und die Patienten mit glaukomatöser Optikusatrophie wurden über öffentliche Bekanntmachungen und aus dem Klinikpersonal rekrutiert, aufgeklärt und willigten ebenfalls schriftlich für die Teilnahme an der o.g. Substudie ein. Die MS- und Glaukompatienten erfüllten folgende Einschlusskriterien: Alter zwischen 18 und 60 Jahren, objektive und subjektive Refraktion zylindrisch zwischen -10 und +6 Dioptrien, Astigmatismus <4 Dioptrien und intraokulärer Druck >7 und <22 mmHg. MS-Betroffene wiesen zum Zeitpunkt der Untersuchungen eine klinisch gesicherte Diagnose der schubförmigen MS auf und befanden sich in immunmodulatorischer Therapie seit >6 Monaten mit Glatirameracetat. Ausschlusskriterien für MS Patienten waren: Schwangerschaft, aktive Stillzeit, Leberschaden (erhöhte Enzymwerte ALT oder AST), primär progrediente MS, sekundär progrediente MS und EDSS >6. Probanden in der Kontrollgruppe mussten im Alter zwischen 18 und 60 Jahren sein und durften weder neurologische noch ophthalmologische Erkrankungen in der Anamnese aufweisen. Weitere Ausschlusskriterien waren Makro- oder Mikropapille, Glaukom, Mydriatikaallergie, Gesichtsfeldausfälle bei zentraler Schwelle von 30°, intraokulare OP, welche weniger als ein Jahr zurücklag, diabetische Retinopathie, Diabetes Mellitus Typ I oder II, Medikamenteneinnahme mit Wirkung auf Photorezeptoren, deren Absetzen weniger als 14 Tage zurücklag.

Die Landesethikkommission Berlin hat am 11.07.2007 ihr zustimmendes Ethikvotum zur Sunims-Studie, unter der EUDRACT Nummer 2006006323-39 erteilt.

### ***Klinische Untersuchungen***

Die Form der Erkrankung wurde bei allen MS-Patienten, nach den revidierten

McDonald Kriterien von 2005, als schubförmig-remittierend eingestuft<sup>36</sup>. Der Grad der funktionellen neurologischen Einschränkung der MS Patienten wurde durch den Extended Disability Status Scale (EDSS) klassifiziert. Alle Teilnehmenden wurden einer ophthalmologischen Untersuchung mit Bestimmung des bestkorrigierten Nah- und Fernvisus, der sphärischen und zylindrischen Refraktion und des Augeninnendruckes unterzogen. Ferner wurden OCT Messungen durchgeführt und die fKS bestimmt. Die Untersucher waren nicht verblindet gegenüber der Zuteilung der MS-, GA-Patienten und GK, wohl aber gegenüber den Subgruppen MSNNO, MSO und dem Behinderungsgrad (EDSS).

## ***Messinstrumente und Analysemethoden***

### **Optische Kohärenztomographie – Funktionsprinzip**

Die OCT ist ein niedrigkohärentes weißlichtinterferometrisches Verfahren und erlaubt die hohe räumliche Tiefenauflösung von Gewebestrukturen des anterioren und posterioren Augenabschnittes entlang der räumlichen z-Achse (axial bzw. longitudinal). Das Grundprinzip der OCT entspricht dem Radar bzw. Ultraschall-Echolot, wobei von einem Sender (Superlumineszenzdiode) breitbandige, kurzkohärente Wellen im nahen Infrarotbereich (um 840nm) emittiert und von den erreichten Mikrostrukturen reflektiert oder gestreut werden. Die optischen „Echowellen“ werden mit einer parallel laufenden Vergleichswelle am Detektor überlagert, wobei Phaseninterferenz entsteht. Aus den Interferenzsignalen lässt sich ein eindimensionales Reflektivitätsprofil der Lichtwellen, was einem A-Scan entspricht, rekonstruieren<sup>37</sup>. An dieser Stelle sind grundsätzlich zwei OCT-Funktionsprinzipien zu unterscheiden: 1. Time Domain OCT (TD-OCT) und 2. Spektral- (syn. Fourier- oder Frequenz-) Domain OCT (SD-OCT).

Bei der TD-OCT verarbeitet das Interferometer die Phaseninterferenzen, aus denen der A-Scan erstellt wird, sequenziell unter Zuhilfenahme eines mechanisch bewegten längenvariablen Referenzspiegels (Abbildung 2a).

Die SD-OCT erlaubt hingegen die simultane Verarbeitung der tiefenaufgelösten Wellenreflexionen, da ein Spektrometer mit Hilfe einer Fouriertransformation die Interferenzsignale der Referenz- und Probenwellen über die gesamte Tiefe unmittelbar auflöst. Der mechanisch bewegte Referenzarm ist daher nicht mehr nötig und durch einen fixierten Referenzspiegel ersetzt (Abbildung 2b). Somit ist eine Steigerung der lateralen Abtastrate von 400 A Scans pro Sekunde auf über 50000 A

Scans pro Sekunde möglich geworden. Neben drastisch verringerten Bewegungsartefakten wird durch SD-OCT eine Echtzeit-Beobachtung von Veränderungen tiefenaufgelöster retinaler Flächen und Volumina *In-vivo* möglich, zudem erfolgt die Protokollierung über ein standardisiertes Ausgabeformat (Abbildung 3 + Video 1).

### **Optische Kohärenztomographie – Messungen mittels Time Domain-OCT**

Die RNFS-Dicke und das Makulavolumen (MV) wurden mit dem Zeiss „Stratus 3000“ TD-OCT, Softwareversion 4.0. und den Scanprotokollen „schnelle RNFS-Dicke 3,4 – *fRNFL 3.4*“ und „Schnelldarstellung der Makuladicke – *Fast Macular Thickness Map*“ detektiert. Dieser TD-OCT erreicht im retinalen Tomogrammbild eine Auflösung von 10µm axial und 20µm transversal bei einer Scangeschwindigkeit von 400 A-Scans pro Sekunde. Die Eindringtiefe beträgt 2 mm.

Das erstgenannte Protokoll erfasst nacheinander drei um das Papillenzentrum angeordnete Kreisscans mit einem Durchmesser von 3,4 mm in 1,92 Sekunden. Jeder Messkreis besteht aus 256 A-Scans mit jeweils 1024 axialen Pixeln bei einer Gesamtmenge von 262 Kilovoxel. Die RNFS-Dicke ergibt sich aus Algorithmen, welche die Distanz zwischen vitreoretinaler Grenzfläche und hinterem Rand der RNFS berechnen. Das letztgenannte Protokoll durchläuft im Zentrum die Foveola und erfasst in 1,92 Sekunden sechs um je 30° versetzte, radiale Linienscans (Form eines Speichenrades) mit je einer Länge von 6 mm. Jede Gerade erfasst 128 A-Scans mit jeweils 1024 axialen Pixeln bei einer Gesamtmenge von 786 Kilovoxel.

Zur Darstellung der Messdaten des *fRNFL 3.4* Scanprotokolls wurde das Analyseprotokoll „RNFS-Dicke-Mittelwert - *RNFL thickness average analysis*“ gewählt. Folgende Parameter wurden daraus entnommen: „Average RNFL Thickness“ (Avg) und „Quadrants RNFL Average Thickness – Inferior (Qi), -Superior (Qs), -Nasal (Qn) und -Temporal (Qt)“. Die Makulaanalyse erfolgte durch das Analyseprotokoll „Netzhautdicke/Volumen, tabellarisch – *Retinal Thickness/Volume Tabular*“. Wir verwendeten den Parameter „Total Makular Volume (mm<sup>3</sup>)“.

### **Optische Kohärenztomographie – Messungen mittels Spektral Domain-OCT**

Die RNFS-Dicke und das MV wurden mit dem „Cirrus“, Zeiss Meditec, Software Version 3.0.0.64, Dublin, CA, USA, unter Verwendung der Scanprotokolle „*Optic Disc Cube 200\_200*“ und „*Macular Cube 200x200*“ erfasst. Dieser SD-OCT erreicht im retinalen

Tomogrammbild eine Auflösung von 5µm axial und 10µm transversal bei einer Scangeschwindigkeit von 27000 A-Scans pro Sekunde. Die Eindringtiefe beträgt 2 mm.

Das erstgenannte Protokoll generiert einen Datenwürfel mit 6-mm-Kantenlänge. Dabei wird eine Serie von 200 horizontalen Scanlinien erfasst, von denen sich jede aus 200 A-Scans zusammensetzt (41 Megavoxel). Vom Papillenzentrum ausgehend, kann der Berechnungskreis (Durchmesser 3,46 mm) automatisch gesetzt oder manuell korrigiert werden. Dieser Messkreis besteht in Analogie zum „Stratus“ aus 256 A-Scans mit jeweils 1024 axialen Pixeln (262 Kilovoxel). Die RNFS ergibt sich aus Algorithmen, welche die Distanz zwischen innerer und äußerer RNFS berechnen (Abbildungen 3 und 4). Der Makula Scan generiert ebenfalls einen Datenwürfel von 6-mm Kantenlänge. Dabei wird eine Serie von 200 horizontalen Scanlinien erfasst, von denen sich jede aus 200 A-Scans zusammensetzt. Zusätzlich wird ein hochauflösender Fadenkreuzscan aus 1024 A-Scans erstellt (Video 2).

### **Qualitätssicherung - OCT**

Als Richtlinie ist von Carl-Zeiss-Meditec angegeben, dass Bilder mit einer Signalstärke von 5 oder mit einer Scannermeldung nicht zur Analyse geeignet sind. Wir legten unseren Standard bei Signalstärken > 8 bei gleichmäßiger Bildhelligkeit im Fundusbild entlang der A-Scans ohne Scannermeldung fest. Jedes Tomogramm wurde hinsichtlich der automatisch gesetzten Segmentationslinien zur retinalen Schichtdifferenzierung überprüft.

### **Functional Acuity Contrast Testing (FACT)**

Die primäre optische Abbildungsqualität wird maßgeblich durch retinale und zerebrale Mechanismen der Kontrastmodulation beeinflusst, wodurch erst ein scharfes und differenziertes Sehen ermöglicht wird. Die fKS liefert entscheidende Informationen über die Fähigkeit des optischen und retinalen bzw. zerebralen Systems, Kontraste zu übertragen<sup>20,38</sup>. Wir nutzten den Multivisionskontrasttester „Optec 6500 P Stereo Optical, Chicago, Illinois“ für die Untersuchungen der fKS. Es handelt sich um ein transportables Messgerät zur Bestimmung der Sehschärfe, Farbsehfähigkeit, des stereoskopischen Sehens und der fKS via FACT-Charts. Zur Untersuchung der fKS schaut der Proband in den retroilluminierten Projektor auf die FACT-Charts, welche ihm in neun Feldern aufgeteilt in zwei untereinander liegenden

Reihen erscheinen. In jedem dieser Felder befindet sich ein Sinuswellenmuster (SM). Dieses setzt sich aus einer festen Ortsfrequenz (OF) (Anzahl der Streifenmuster) und einer Amplitude, welche dem maximalen Intensitätsunterschied zwischen hellen und dunklen Streifenmustern entspricht (Kontrast), zusammen. Die Amplitude der Kontrastintensität nimmt von SM zu SM um je 0,15 log ab. Die Streifenmuster sind senkrecht oder + 15° nach rechts oder links ausgerichtet. Der Teilnehmer wird aufgefordert, alle neun Ausrichtungen nacheinander zu identifizieren, wobei die Streifenmuster zufällig angeordnet sind. Es werden nacheinander alle fünf OF (1,5; 3; 6; 12; 18 cpd) mit je neun Kontraststufen getestet. Stets wird bei der geringsten OF mit niedrigster Kontrastintensität begonnen. Nur die zuletzt richtig erkannte Ausrichtung wird gewertet.

Die mittels FACT-Chart gemessenen Werte geben die individuelle Kontrastsensitivität in Abhängigkeit zu jeder der fünf Ortsfrequenzen an (Abbildung 5).

Alle an der Studie teilnehmenden Probanden wurden ohne Blendung unter photopischen Bedingungen (Leuchtdichte 85 cd/m<sup>2</sup>) und unter mesopischen Bedingungen (Leuchtdichte 3 cd/m<sup>2</sup>) untersucht. Die FACT-Untersuchung wurde ausschließlich monokular und mit bestkorrigierbarem Fernvisus durchgeführt.

### **Statistische Datengewinnung**

Alle statistischen Auswertungen der Daten wurden mit SPSS 16 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA), PASW 18 (SPSS, IBM Corporation, Somers, NY, USA) Graphpad Prism5 (Graphpad Software Inc., La Jolla CA, USA) und The R Project for Statistical Computing Version 2.2.1 und 2.10.1 (Department of Statistics and Mathematics, Wirtschaftsuniversität Wien, Österreich) durchgeführt.

Zur Untersuchung von Altersunterschieden zwischen den Gruppen wurden Mann-Whitney-U-Tests und Varianzanalysen (ANOVA) erhoben. Die Überprüfung von Geschlechtsunterschieden erfolgte durch Pearson's  $\chi^2$  Tests. Analysen hinsichtlich Erkrankungsdauer und EDSS zwischen den MSO und MSNNO Gruppen erfolgten mittels verallgemeinerter Schätzungsgleichung (GEE). Um die intraindividuellen Interaugen-Verhältnisse bei bi- oder monolateraler MSNNO zu berücksichtigen, wurden RNFS, MV, Visus, sphärische und zylindrische Refraktionswerte und Unterschiede zwischen den Gruppen mittels GEE berechnet. Der Altersunterschied zwischen den Teilnehmergruppen floss, wenn durch die ANOVA als signifikant erachtet, als Kovariate bei AUC, RNFS und TMV Analysen ein. Die RNFS

Verluste innerhalb peripapillärer Quadranten wurden durch Differenz- und Quotientenbildung im Vergleich zu den GK quantifiziert. Die Analyse auf spezifische Erkrankungsmuster hin erfolgte nach der Methode von Nemani et.al.<sup>39</sup>. Ein  $\alpha$  – Fehler  $p < 0,05$  wurde als signifikant erachtet.

Innerhalb des Intermethodenvergleiches wurden gepaarte t-Tests, Pearson's Korrelationstests und zusätzliche Analysen unter Berücksichtigung einer randomisierten Augenauswahl durchgeführt. Es wurde nach Bonferroni-Holm-Prozedur korrigiert, um das Signifikanzniveau bei multiplen Vergleichen anzupassen. Weiterhin wurden für den Intermethodenvergleich der Bland-and-Altman-Plot mit linearer Regressionsanalyse und das Streudiagramm (Scatter-Plot) kalkuliert, um Übereinstimmungen der RNFSD zu untersuchen.

Alle OF einer Untersuchung wurden zunächst in eine logarithmische Form gebracht, um dann zu einer Gesamtfunktion (AUC), welche die Fläche zwischen der niedrigsten logOF und der höchsten logOF ergibt, umgeformt zu werden. Wie von Applegate et.al. beschrieben, hat diese Gesamtfunktion höhere Bewertungskraft bei Veränderungen der OF als die Einzelfunktionen<sup>40</sup>. Zur Analyse der AUC als prädiktiven Faktors für RNFSD oder MV Verringerungen wurde die RNFSD oder das MV als abhängige Variable und AUC photopisch oder mesopisch als unabhängige Variable in den verallgemeinerten Schätzungsgleichungen berücksichtigt. Ferner wurde in allen Analysen für die durch Visus und Alter bedingten Unterschiede korrigiert.

## **Ergebnisse**

### ***Studienteilnehmer***

Es wurden 39 Augen von Teilnehmern der Glaukom Gruppe, 260 Augen von MS-Patienten und 405 GK Augen statistisch untersucht. MS Patienten waren signifikant älter als die GK (40 Jahre zu 37 Jahre;  $p < 0,001$ ), unterschieden sich aber nicht in der Geschlechterverteilung ( $p = 0,205$ ). Glaukombetroffene waren signifikant älter (68,9 Jahre) und wiesen eine sich unterscheidende Geschlechterverteilung zu den anderen Gruppen auf. Die MSO Teilnehmer unterschieden sich nicht in Alter, EDSS und Erkrankungsdauer von denen mit MSNNO. Alle RNFSD Vergleichsanalysen der MS und GK Kohorten wurden für die aufgetretenen Alterunterschiede statistisch adjustiert. Zudem wurde bei GA Betroffenen das Geschlecht als Kovariate berücksichtigt.

Zum Zwecke der fKS Versuchsreihe wurden 163 Augen von 85 MS Patienten und 69

Augen von 70 GK statistisch erfasst. Die MS-Gruppe war signifikant älter als die GK ( $p=0,002$ ; 39 Jahre vs. 34 Jahre). Die Gruppen wiesen uniforme Geschlechtsmerkmale, Visus und objektive Refraktionswerte auf.

Es konnten 108 Augen von 55 RRMS Patienten mit einer durchschnittlichen Erkrankungsdauer von 101 Monaten sowohl mit dem TD-OCT „Stratus“ als auch mit dem SD-OCT „Cirrus“ statistisch erfasst werden. Die Analyse schloss 124 Augen von 62 alters- und geschlechtsgematchten (parallelisierten) GK mit ein.

### ***Verlust der retinalen Nervenfaserschichtdicke in Multipler Sklerose und Glaukom (Publikation 1)***

#### **Eindeutiger Verlust der retinalen Nervenfaserschichtdicke in Multipler Sklerose und glaukomatöser Optikusatrophie**

Es zeigten sich signifikante Unterschiede zwischen MS Patienten ( $n=131$ ) und GK ( $n=203$ ) auch nach Alterskorrektur sowohl in der RNFSD als auch in allen vier Quadranten ( $p<0,0001$ ). Der höchste absolute RNFSD Verlust war im Qs zu finden, wobei sich der stärkste relative Verlust im Qt widerspiegelte. Von Glaukom Betroffene ( $n=22$ ) zeigten Verringerungen in der RNFSD, im Qs, Qt, Qi und Qn ( $p<0,0001$ ) ohne signifikante Unterschiede zur MS-Gruppe (Durchschnitt:  $p=0,147$ ; Qs:  $p=0,131$ ; Qt:  $p=0,984$ ; I:  $p=0,108$ ; N:  $p=0,389$ ). Die absoluten und relativen RNFSD Verluste waren bei Glaukom im Qs am größten (Tab.1).

#### **Verlust der retinalen Nervenfaserschichtdicke in Multipler Sklerose ohne Neuritis nervi optici**

Die Unterteilung der MS Gruppen in MSO und MSNNO ergab für beide Subgruppen im Vergleich zu GK signifikante Unterschiede der RNFSD in allen Quadranten ( $p<0,001$ ). Die absoluten RNFSD Werte (Differenz GK und MS) unterschieden sich zwischen beiden Gruppen signifikant in der RNFSD ( $p<0,0001$ ) und in allen Quadranten (Qs:  $p=0,0052$ ; Qt:  $p<0,0001$ ; Qi:  $p<0,0001$ ; Qn:  $p=0,0132$ ). Der relative RNFSD Verlust (Quotient GK und MS) der MSO Gruppe reichte von Qi: 6% bis Qt: 10%, die der MSNNO Gruppe von Qs: 15% bis Qt: 27%.

Die Vergleiche des Partnerauges unilateral Betroffener MSNNO Patienten mit Augen von MSO Teilnehmern ergab keine signifikanten Unterschiede in der RNFSD ( $p=0,179$ ) und in allen Quadranten (Qs:  $p=0,2$ ; Qt:  $p=0,117$ ; Qi:  $p=0,54$ ; Qn:  $p=0,531$ ).



## **Fokaler Axonschaden in Multipler Sklerose nach abgelaufener Neuritis nervi optici**

Wir gingen der Frage nach, ob es sich bei den gefundenen RNFS-D Verringerungen um gleichmäßig verteilte Veränderungen handelt oder ob ein Muster erkennbar ist. Die Analyse der Ortsverteilung von RNFS-D Verringerungen in den peripapillären Quadranten zwischen GK und der MS Population ergab keine signifikanten Unterschiede ( $p=0,195$ ) weder für die absoluten noch für die relativen Werte. Die Untersuchung der MSO Subgruppe bestätigte dieses Ergebnis ( $p=0,347$ ). Hingegen konnte bei der MSNNO eine signifikant ungleiche Verteilung des axonalen Schadens zu Ungunsten des temporalen Quadranten bestimmt werden ( $p<0,0001$ ).

Auch im direkten Vergleich zwischen der MSO und MSNNO Gruppe konnten signifikante Unterschiede in der Ortsverteilung von RNFS-D Schäden in allen Quadranten ( $p<0,004$ ) beobachtet werden, wobei sich der schwerwiegendste Schaden über dem Qt als Muster abzeichnete.

Der direkte Quadrantenvergleich innerhalb der MSNNO Gruppe ergab einen signifikanten Unterschied mit Verringerungen im Qt auch nach Bonferroni-Holm-Prozedur korrigierten gepaarten t-Tests (Qs:  $p<0,0001$ ; Qi:  $p<0,0001$ ; Qn:  $p=0,0006$ ). Der Signifikanzlevel von 0,001 nach Bonferroni-Holm-Korrektur wurde für die MSO Gruppe nur bei direktem Vergleich des Qi mit Qt erreicht.

Von GA betroffene Augen wiesen im Vergleich zu GK in allen peripapillären Quadranten signifikante Veränderungen der Nervenfaserschichtdicke ( $p=0,006$ ), ohne fokale Betonungen, auf.

## ***Funktionelle Kontrastsensitivität und OCT (Publikation 2)***

### **Abhängigkeit der funktionellen Kontrastsensitivität von der retinalen Nervenfaserschichtdicke und dem Makulavolumen**

Alle Ergebnisse der photopischen und mesopischen FACT-Untersuchung wurden, wie im Kapitel Methodik beschrieben, in die entsprechende photopische (pAUC) und mesopische (mAUC) AUC Funktion umgerechnet. Die mAUC und pAUC bei MS-Patienten ( $n=85$ ) waren im Vergleich zu GK ( $n=35$ ) signifikant niedriger ( $p<0,001$ ); gleiches bestätigte sich für die RNFS-D und das MV ( $p<0,001$ ;  $p=0,018$ ).

Die RNFS-D korrelierte mit pAUC (Spearman's  $\rho=0,251$ ,  $p=0,001$ ) und mAUC ( $\rho=0,185$ ,  $p=0,017$ ). Ebenso korrelierte das MV mit pAUC ( $\rho=0,306$ ,  $p<0,001$ ) und mAUC ( $\rho=0,226$ ,  $p=0,003$ ). Interessanterweise konnten die zuvor beschriebenen

Korrelationen nur bei MS gefunden werden. Lineare Regressionsanalysen ergaben, dass die RNFS-D und das MV Prädiktoren der fKS sind. Die  $\beta$ -gewichteten Prädiktoren mit Alters- und Visuskorrektur sind in der zweiten Publikation einzeln aufgeführt<sup>20</sup>. Die kombinierte Analyse von RNFS-D, Visus und Alter ergab ein  $R^2=0,397$  für pAUC und  $R^2=0,389$  für mAUC. Die Kombination von MV, Visus und Alter ergaben ein  $R^2=0,357$  für pAUC;  $R^2=0,372$  für mAUC. In allen durchgeführten Modellen bewiesen sich RNFS-D oder MV und Visus, im Gegensatz zum Alter, als signifikante Prädiktoren für mAUC und pAUC.

Interessanterweise zeigten sich keine Korrelationen zwischen der RNFS-D oder dem MV und der fKS in GK.

Zur weiteren Klärung der Frage, wie stark die Vorhersagekraft der retinalen Morphologie in Bezug auf die Veränderung der fKS ist, führten wir weitere GEE-Analysen mit der RNFS-D oder dem MV als abhängigen Variablen und pAUC oder mAUC als unabhängige Variablen durch. Es zeigte sich, dass eine Reduktion der pAUC um 0,1 log durch eine RNFS-D Verringerungen von  $1,852 \mu\text{m}$  (95% CI 0,83 – 2,875;  $p<0,001$ ) oder durch eine Verminderung des MV um  $0,044 \text{ mm}^3$  (95% CI 0,014 – 0,075;  $p=0,004$ ) erklärt werden kann. Die Abnahme der mAUC um 0,1 log waren erklärbar durch zugrunde liegende RNFS-D Verluste von  $0,846 \mu\text{m}$  (95% CI 0,189 – 1,502;  $p=0,012$ ) oder Reduktionen des MV um  $0,02 \text{ mm}^3$  (95% CI 0,004 – 0,036;  $p=0,013$ ).

### ***Intertomogrammvergleich TD-OCT „Stratus“ und SD-OCT „Cirrus“ (Publikation 3)***

#### **Korrelations- und Signifikanzniveau**

Beide Tomographen demonstrierten, dass MS Patienten ( $n=55$ ) hoch signifikant weniger RNFS-D und Quadranten-Dicke aufweisen als GK ( $n=62$ ;  $p<0,0001$ ;  $p<0,05$ ). Die RNFS-D variierten in unterschiedlicher Ausprägung von  $-12$  bis  $+23 \mu\text{m}$  (Differenz TD-OCT (–) SD-OCT, MW:  $8,1 \mu\text{m}$  SD:  $+ 6,2 \mu\text{m}$ ). Wir fanden eine exzellente Korrelation zwischen beiden Geräten für die RNFS-D (Pearson's  $\rho=0,926$ ;  $p<0,001$ ). Im gepaarten t-Test wurden allerdings signifikant niedrigere Absolutwerte der durchschnittlichen und quadrantenbezogenen RNFS-D für die SD-OCT ermittelt (TD-OCT / SD-OCT: RNFS-D =  $92,9 \mu\text{m}$  /  $84,8 \mu\text{m}$ ; Qs =  $114,2$  /  $107,8 \mu\text{m}$ ; Qt =  $60,8 \mu\text{m}$  /  $54,1 \mu\text{m}$ ; Qi =  $117,5$  /  $109,3 \mu\text{m}$ ; Qn =  $77,5$  /  $67,9 \mu\text{m}$ ;  $p<0,001$ ). Zur Überprüfung unserer Ergebnisse analysierten wir von allen Patienten ein randomisiert ausgewähl-

tes Auge. Die Werte von Pearson's  $\rho$  lagen dabei zwischen 0,784 und 0,947 ( $p < 0,001$ ) und somit auf gleichem Niveau zu der nicht-randomisierten Gruppe.

Im Bland-Altman-Plot zeigte sich, dass die gemessenen Absolutwertunterschiede der RNFSO zwischen beiden Geräten in Arealen mit strukturell höherer RNFSO stärker ausgeprägt sind als in dünneren. Auch nach der Bonferroni-Holm-Korrektur blieben alle Korrelationen und Unterschiede auf hohem Signifikanzniveau ( $p = 0,001$ ).

### **Kein signifikanter Unterschied zwischen SD- und TD-OCT in MS mit abgelaufener Neuritis nervi optici im temporalen Quadranten**

Die Subanalyse von 37 MSNNO und 73 MSO Augen, welche vergleichend mit SD- und TD-OCT gemessen wurden, ergab Korrelationskoeffizienten in gleicher Höhe wie in der Gesamtpopulation und einen signifikanten Unterschied der RNFSO (MSNNO RNFSO: Pearson's  $\rho = 0,947$   $p < 0,001$ ; gepaarter t-Test  $p < 0,001$ ; MSO RNFSO: Pearson's  $\rho = 0,909$   $p < 0,001$ ; gepaarter t-Test  $p < 0,001$ ).

Für alle Quadrantenvergleiche bestätigten sich diese Ergebnisse außer für den Qt in MSNNO (MSO Qt: Pearson's  $\rho = 0,847$ ,  $p < 0,001$ ; gepaarter t-Test  $p < 0,001$ ). Im Gegensatz zu den anderen Quadranten zeigte sich zwar ein hohes Korrelationsniveau, jedoch konnte kein signifikanter Unterschied der Nervenfaserschichtdicke im Qt zwischen den Geräten festgestellt werden (Pearson's  $\rho = 0,892$ ,  $p < 0,001$ ; gepaarter t-Test  $p = 0,085$ ). Ähnlich zu der MS-Gruppe ergaben die „Cirrus“ - (SD-OCT) - Messungen niedrigere RNFSO, und auch in allen vier Quadranten bestätigte sich dieses Ergebnis (GK RNFSO: Pearson's  $\rho = 0,806$ ,  $p < 0,001$ ; gepaarter t-Test  $p < 0,001$ ).

## **Diskussion**

Bestimmte neurologische Erkrankungen mit primärer oder sekundärer Neurodegeneration gehen mit Schäden der retinalen Ganglienzellen und ihrer in diesem Bereich nicht myelinisierten Axone einher. Für diese Erkrankungen und im Besonderen für die MS findet die OCT als möglicher Endpunkt neuroprotektiver klinischer Studien international großen Widerhall<sup>6,31,41</sup>. Sie zählt zu den aktuell stark diskutierten interferometrischen Verfahren, welche eine hochauflösende (High Definition) *In-vivo* Beobachtung ermöglichen. Wir verfolgen dieses Potenzial seit 2007 und konnten zum ersten Mal in einer großen Querschnittsstudie Charakteristika von GK, MS- und GA-Patienten durch OCT aufzeigen<sup>19</sup>. Diese krankheitsspezifischen fokalen

Verteilungsauffälligkeiten der RNFS in bestimmten peripapillären Quadranten wurden jüngst auch von anderen Gruppen beobachtet<sup>39,42-46</sup>. Wir demonstrierten, dass ein relativer Verlust der RNFS bei MS Betroffenen mit höchster Ausprägung im Qt vorliegt, auch unter statistischer Berücksichtigung der Einflußgrößen Alter und Geschlecht. Hingegen zeigte sich der höchste relative Axonverlust in der GA-Gruppe als ein nicht signifikanter Trend im Qs. Diese Erkenntnis stimmt mit der typischen Klinik von Patienten mit glaukomatösem Defekt des neuroretinalen Randsaumes im superotemporalen bzw. inferotemporalen Sektor überein<sup>47</sup>. Eine Diskriminierung durch OCT zwischen MS- und GA-spezifischen RNFS Schäden einzelner Quadranten blieb in unserer Studie jedoch aus. Als eine methodische Schwäche könnte die zu klein gewählte GA-Gruppe im Vergleich zur großen MS-Kohorte für das nicht signifikant detektierte Muster verantwortlich sein. Der Vergleich zwischen den MSO und MSNNO Subgruppen ergab signifikante RNFS-Unterschiede im Mittelwert sowie für die letztere Gruppe signifikante Unterschiede in allen peripapillären Quadranten. Diese Ergebnisse bestätigen eine Untersuchung mit deutlich geringerer Probandenzahl, stehen aber im Kontrast zu einer Arbeit, welche keine RNFS-Unterschiede zwischen MSO und MSNNO Augen beschreibt, wobei zu berücksichtigen ist, dass die Auswahl der Patienten in jener Studie inhomogen erfolgte<sup>42,46</sup>. Die seit mehreren Jahrzehnten von Ophthalmologen und Neurologen beobachtete Papillenabblassung und -atrophie mit temporaler Prädisposition sind eindeutig und typisch für MSNNO und sind mit dem von uns gefundenen RNFS Verlust (Qt -27%) bei MSNNO vereinbar<sup>24,48-51</sup>. Die stärkste von uns beobachtete RNFS Verminderung lag im Qt bei MSNNO Betroffenen. Durch den temporalen peripapillären Sektor verläuft interessanterweise das papillomakuläre Bündel, worunter Axone, die hauptsächlich aus makulären bzw. fovealen Ganglienzellen ausspröhen, zu verstehen sind. Die Fovea als der Ort des schärfsten Sehens hat eine herausgehobene Bedeutung für die Sehfunktion. In Übereinstimmung mit anderen Gruppen detektierten wir den im Qt liegenden papillomakulären Bündelschaden und zeigten, dass dieser fokal quantifizierbare RNFS-Verlust ein prädiktiver Faktor für persistierende Visusniedrigungen bei abgelaufener NNO ist<sup>52-54</sup> (Abbildung 6 + Video 3). Die Tatsache, dass eine akute NNO zumeist mit einem Zentralskotom verbunden ist, lässt sich gut mit unseren Feststellungen über den Qt und die Makula/Fovea nach abgelaufener NNO vereinbaren. Unsere Beobachtung stimmt mit

den Ergebnissen einer jüngeren Studie überein, die eine Reduktion der RNFSO um 26% im Qt bei MSNNO Patienten detektierte<sup>39</sup>.

Zu unserer Überraschung zeigte sich, dass auch MSO Patienten signifikante RNFSO Verluste im Qt (-10%) aufweisen. Aufgrund der relativ breiten Konfidenzintervalle sollten diese Ergebnisse nicht überbewertet werden und bedürfen weiterer Untersuchungen. Allerdings ist zu erwähnen, dass unsere Beobachtungen konsistent zu histologischen und klinischen Arbeiten anderer Gruppen sind<sup>23,27,55-59</sup>. Die zuletzt genannten Untersuchungen detektierten den retinalen Axonverlust vorzugsweise im temporalen peripapillären Sektor und stellten ebenfalls einen papillomakulären Bündelschaden fest. Die histopathologische Arbeit von Green et al. beschreibt sogar Unterschiede in der retinalen Pathologie verschiedener Verlaufstypen. Die Autoren weisen des Weiteren auf die besondere Bedeutung der Retina als mögliches Systemmodell der MS-Pathologie hin<sup>27</sup>. Die histopathologischen Erkenntnisse um die Retina, welche trotz fehlender Myelinisierung dennoch von MS-typischer Inflammation erreicht wird, gewinnen durch die OCT-Methode einen neuen Stellenwert, weil die MS bedingten retinalen Veränderungen *In-vivo* und in Echtzeit visualisierbar und quantifizierbar geworden sind. Unabhängig voneinander beleuchten kürzlich veröffentlichte OCT Untersuchungen die retinalen Schichtdicken unter Berücksichtigung der MS Verlaufstypen. Es konnten wesentliche Unterschiede zwischen Subtypen, unabhängig von NNO, beobachtet werden<sup>60-63</sup>. Andere Arbeiten beobachteten mittels SD-OCT bei MS-Patienten, insbesondere nach NNO, erstmals retinale mikrozystische Ödeme, die im Zusammenhang mit der Erkrankungsprogression und der funktionellen Beeinträchtigung zu stehen scheinen<sup>64,65</sup>.

Weitere Untersuchungen vorzugsweise unter Einbeziehung von MRT-Technologien sind notwendig, um Zusammenhänge und Fragen zum möglicherweise gegenseitigen Einfluss der vorderen Sehbahn und den hinter dem Corpus geniculatum laterale (viertes Neuron) liegenden Strukturen (hintere Sehbahn) zu beobachten<sup>66,67</sup>. Untersuchungen verschiedener Gruppen und eigene Arbeiten zeigen, dass die mittels OCT quantifizierbaren retinalen Schichten Surrogate für die Hirnatrophie sein könnten (Abbildung 7). Es wurden nämlich sowohl von uns als auch von anderen Gruppen Korrelationen zwischen der mittels MRT gemessenen Atrophie der grauen und weißen Substanz und der RNFSO- bzw. MV-Abnahme ermittelt<sup>66-70</sup>. Siger et al. fanden eine stärkere Korrelation zwischen Gehirnatrophie und RNFSO bei MSO als bei MSNNO Patienten<sup>71</sup>. Solche Beobachtungen könnten den nur subtilen Verände-

rungen bei MSO große Bedeutung verleihen, da sich möglicherweise der schleichende Fortgang der Erkrankung nur bei Patienten ohne fokal-entzündliche Überlagerung der vorderen Sehbahn (NNO) überhaupt erst ablesen lässt<sup>67</sup>. Die durch NNO verursachten retinalen Schäden würden folglich die subtile, aber mittels OCT messbare globale Neurodegeneration (z.B. retrograde transsynaptische Degeneration) maskieren und subklinische Verlaufsergebnisse verdecken<sup>29,72</sup>. Da der Sehnerv eine Prädilektionsstelle bei MS ist, werden ähnliche immunvermittelte Mechanismen auch für die NNO postuliert<sup>27,73</sup>. Allerdings sind die Neurodegeneration und der Gewebeschaden nach abgelaufener NNO unverhältnismäßig größer, so dass mögliche Zusammenhänge zu höheren Regionen verdeckt werden. Letztlich führen die mit MSO einhergehende primäre Optikusneuropathie, wie auch die möglicherweise davon abzugrenzende subklinische NNO, zu Demyelinisierung des N.opticus bzw. zu retinalem Axonschaden und könnten für die NNO unabhängigen RNFS Defekte verantwortlich sein<sup>67,74</sup>.

Derzeit bleibt offen, ob in nachweisbarer Abwesenheit von NNO Veränderungen der Retina, im Sinne einer primären Optikusneuropathie, detektierbar sind oder ob die mittels OCT beobachteten retinalen Schichtverminderungen bei MS, ohne anamnestisch greifbare NNO und unauffälligem VEP, nicht auf subklinische NNOs oder auf andere mit Neurodegeneration assoziierte Mechanismen zurückzuführen sind<sup>45,75-78</sup>. Jedenfalls zeigen Post mortem Untersuchungen, dass 94-99% der MS Patienten Läsionen des N.opticus aufweisen<sup>55,79</sup>. In Zusammenbeschau der vorgenannten Arbeiten könnte der relativ homogene RNFS Verlust in MSO stärker für einen diffus ablaufenden neurodegenerativen/-inflammatorischen Prozess sprechen, welcher den zentralen Strukturschaden, möglicherweise sogar unabhängig vom Demyelinisierungsgrad widerspiegelt.

Sollten sich die beschriebenen Ergebnisse in longitudinalen Studien bestätigen, wäre eine relevante Stellung der OCT für klinische Studien abzuleiten. Die OCT könnte dann zukünftig als Instrument zur Evaluierung der Neurodegeneration und -regeneration genutzt werden. Jedenfalls bleiben die Fragen nach dem Ursprung und der Richtung einer möglicherweise als Ursache zugrunde liegenden transsynaptischen Degeneration, d.h. ob retrograd (von der hinteren Sehbahn zur vorderen ziehend) oder anterograd (von der vorderen über die hintere Sehbahn zum visuellen Kortex ziehend), bislang unbeantwortet und sind Objekt aktueller Arbeiten<sup>80</sup>. Unserer Auffassung nach sollten möglichst longitudinale Untersuchungen vor allem mit SD-

OCT Technologie in Kombination mit modernen MRT-Techniken zur exakten Beantwortung dieser Fragen durchgeführt werden. Derzeit bleibt festzuhalten, dass Veränderungen der mittels OCT analysierten vorderen Sehbahnabschnitte auch mit MR-Tomogrammen der hinteren Sehbahn (Radiatio optica) und des visuellen Kortex sowie mit normal-appearing white matter abnormalities, d.h. Läsionen der subkortikalen weißen Substanz, die auf konventionellen MRT-Sequenzen unter der Detektionsschwelle liegen, positiv korrelieren<sup>67,70,80,81</sup>.

Da die bisher untersuchten strukturellen Veränderungen der Retina untrennbar mit den funktionellen Eigenschaften des visuellen Systems verbunden sind, gingen wir in Publikation 2 der Frage nach, welchen Einfluss die RNFS und das MV auf die fKS in MS im Vergleich zu GK haben.

Aus unseren Ergebnissen zu morphologischen und funktionellen Aspekten der Retina lassen sich folgende Kernaussagen formulieren: 1. Die fKS ist in MS signifikant niedriger im Vergleich zu GK. 2. Die RNFS und das MV sind strukturelle Prädiktoren der fKS in MS, jedoch nicht bei GK. 3. Die Objektivierung der fKS in MS durch die FACT-Untersuchung ist ein neues, gut praktikables und schnelles Verfahren zur Prüfung des alltagsrelevanten visuellen Funktionszustandes Betroffener.

Der Zusammenhang zwischen fKS und Lebensqualität sowie Behinderungsgrad bei MS Betroffenen ist bisher, trotz der hohen individuellen Bedeutung, nur durch wenige Arbeiten untersucht worden<sup>82</sup>. Bereits vor 30 Jahren wurde auf den Vorteil von Niedrigkontrastmessungen mit Sinuswellenunterteilungen zur Untersuchung von MS Patienten hingewiesen<sup>83</sup>. Leider findet sich bis heute eine breite klinische Anwendung der fKS bei MS Patienten nur selten. Unsere Arbeit stimmt aber mit anderen Gruppen überein, dass die alleinige Messung des Visus cum correctione (c.c.) nur eingeschränkt aussagefähig zur Beurteilung des alltagsrelevanten visuellen Funktionszustandes ist<sup>82-84</sup>. Wir demonstrierten durch den Vergleich des Visus c.c. und bei uniformer objektiver Refraktion, dass kein signifikanter Unterschied mit den Methoden der Hochkontrasttestung, wie z.B. Landoltringe, zwischen Patienten und GK messbar war. Die Prüfung der funktionellen Sehkraft bzw. fKS mit der FACT-Methode brachte hingegen deutliche Unterschiede zu Tage. Diese Resultate sprechen für eine Unterschätzung der Sehbehinderung in MS mit entsprechend hoher Dunkelziffer von klinisch nicht erfassten, geschweige denn objektivierten funktionellen Sehstörungen. Trotzdem oder gerade deshalb fand die fKS in der

vergangenen Dekade mehr Beachtung, und es konnten von einer Arbeitsgruppe Zusammenhänge zwischen RNFSF und fKS demonstriert werden. Die Korrelationen waren gering und ließen sich für das MV nicht bestätigen. Ursächlich könnte die Verwendung von Quadrat-Wellenmustern auf Basis von Niedrigkontrast-Buchstabenreihen (Sloan Charts), anstelle von Sinuswellenmustern, mit dem niedrigen Korrelationsniveau in Verbindung stehen. Die gleiche Gruppe berichtete ferner, dass eine Erniedrigung der RNFSF um  $4\mu\text{m}$  mit einer Verschlechterung der fKS um je eine Buchstabenzeile der „Sloan Charts“ korreliert<sup>54</sup>. Jedenfalls nutzten wir für unsere Versuchsreihe Sinuswellenmuster - und unseren Ergebnissen folgend, ist die fKS bei MS bereits ab einem RNFSF Verlust von  $<1\ \mu\text{m}$  beeinträchtigt. Damit bestätigten wir diesen morphologisch-funktionellen Zusammenhang sogar auf höherem Korrelationsniveau und zusätzlich für das MV<sup>20</sup>.

Eine andere Gruppe konnte in einer prognostischen Untersuchung des Visus und der RNFSF ein weiteres strukturell-funktionelles Paradigma ausmachen. Unterhalb des Schwellenbereiches von ca.  $75\mu\text{m}$  RNFSF ist die Erholung des Visus und des Gesichtsfeldes nicht mehr vollständig möglich<sup>52,84</sup>. Dies deckt sich mit Beobachtungen, dass RNFSF- und Ganglienzellverluste um 30-50% zu nachweisbaren Gesichtsfelddefekten führen<sup>85</sup>. Ob eine zusätzliche Differenzierung bestimmter Schichten der Retina, in denen die Neurone der visuellen Reizverarbeitung eingebettet sind, Aufschluss über krankheitsspezifische Muster liefern kann, bleibt Gegenstand aktueller interdisziplinärer Forschung<sup>4,86,87</sup>.

Die von uns ermittelten Korrelationen zwischen Struktur (RNFSF/TMV) und Funktion (fKS) deuten zwar auf eine pathophysiologische Verbindung zwischen morphologischen Veränderungen retinaler Axone und dem visuellen Funktionszustand - dennoch sind die statistischen Ergebnisse dezent und Schlussfolgerungen zurückhaltend zu bewerten. Das anteriore visuelle System ist letztlich nur ein Teil des übertragenden und integrierenden neuronalen Netzwerkes. Große Bedeutung kommt den höheren Bahnen, wie Tractus opticus und Radiatio optica oder den integrativen Systemen, wie Corpus geniculatum laterale und Lobus occipitalis, mit den visuellen Kortexarealen in Bezug auf die Kontrastübertragungsfunktion bzw. -modulation zu. Diese sind an der Informationsweiterleitung und -verarbeitung tiefgreifend beteiligt, konnten aber aufgrund unseres Studiendesigns nicht identifiziert werden. Es sollte und muss bedacht werden, dass die OCT nicht alle qualitativen und quantitativen MS bedingten Veränderungen der Retina detektieren kann<sup>29</sup>.



Eine Schwäche der Publikation 2 stellt der Altersunterschied von 5 Jahren zwischen den Patienten und den GK dar, welcher aber in allen statistischen Berechnungen korrigiert wurde. Zudem liegt der altersbedingte Unterschied der funktionellen Sehkraft im Bereich von Dekaden<sup>35</sup>. Darum halten wir relevante Auswirkungen dieses Bias auf unsere Ergebnisse aber für unwahrscheinlich.

Nicht zuletzt sprechen unsere Beobachtungen für eine stärkere interdisziplinäre Zusammenarbeit zwischen Neurologen und Ophthalmologen, um den visuellen Funktionszustand bei MS Patienten mit geeigneten diagnostischen Mitteln frühzeitig zu evaluieren. Neurologische Erkrankungen mit retinaler Beteiligung wurden unseres Wissens nach bisher noch nicht mit dem transportablen Multivisionskontrasttester „Optec P6500“ analysiert, obwohl geeichte Sinuswellenmuster etwa 3- bis 5-mal sensitiver als Untersuchungen mit Quadrat-Wellenmustern auf Basis von Niedrigkontrast-Buchstabenreihen (z.B. Sloan Charts) sind<sup>88</sup>. Unsere Ergebnisse sind vergleichbar mit ophthalmologischen Arbeiten, welche die gleiche Methode in anderen Kontexten verwandten. In diesen Studien konnte eine mittlere bis hohe Reproduzierbarkeit unter konstanten mesopischen und photopischen Bedingungen ermittelt werden<sup>35,89</sup>. Unsere Beobachtungen verdeutlichen darüber hinaus, dass signifikante Verringerungen der fKS bei MS im Vergleich zu GK durch die FACT-Untersuchung objektivierbar sind und einen weiteren Aspekt zur Abschätzung des Behinderungsgrades bei MS liefern könnten.

Die FACT-Untersuchung ermöglicht Objektivierung und Kontrolle des fKS von MS-Betroffenen, deren individuelle Lebensqualität eng mit dem alltagsrelevanten Sehvermögen verknüpft ist<sup>82</sup>. Die FACT-Untersuchung könnte als quantifizierbarer funktioneller Endpunkt auch neue Perspektiven zur Verlaufskontrolle innerhalb klinischer Studien zur Evaluierung neuer Pharmakotherapien beispielsweise bei NNO oder innerhalb des Multiple Sclerosis Functional Composite bieten<sup>90</sup>.

Der letzte Teil der Diskussion nähert die Forderung, ganze Areale der Retina hochauflösend (High Definition) und in Echtzeit longitudinal beobachten zu können, an die aktuellen Möglichkeiten und Weiterentwicklungen der OCT Technologie an. Die Frage, ob bisherige mit TD-OCT detektierte retinale Strukturdaten durch die mit SD-OCT erhobenen Daten austauschbar sind, ist nämlich ein wunder Punkt longitudinaler Studien, welcher nachfolgend konkret illustriert werden soll.

Die separat mit SD- und TD-OCT erhobenen RNFSO Daten zeigten den vermuteten deutlichen Unterschied zwischen den Messgruppen. Wir beobachteten, dass die

Höhe der Messwertunterschiede in erkrankten Augen äquivalent zu denen von GK ist. Interessanterweise wiesen beide Geräte eine exzellente Korrelation zwischen den gemessenen RNFS-D auf. Unser ermittelter Regressionskoeffizient des Intergerätevergleichs ist mit den Ergebnissen von Knight et al. vereinbar<sup>91,92</sup>.

Die Überprüfung der Übereinstimmungsgrenzen durch den Bland-Altman-Plot ergab, dass SD-OCT in Regionen mit anatomisch dickeren Schichten die RNFS-D dünner detektiert und in Regionen mit anatomisch dünneren Schichten die RNFS-D dicker erfasst als die TD-OCT. Diese RNFS-D abhängigen Messunterschiede beider Geräte erklären das nicht erreichte Signifikanzniveau der RNFS-D Unterschiede im Qt bei MSNNO. Die stärkste Übereinstimmung zwischen beiden Geräten war dementsprechend in letztgenannter Region zu verzeichnen. Unsere Ergebnisse deuten auf systematische Unterschiede beider Geräte bei MS-Patienten sowie bei GK hin. Wir zeigten erstmals in MS, dass es sich bei Veränderungen der RNFS-D nicht nur um krankheitsbedingte Unterschiede handelt, sondern um technisch bedingte Verzerrungen. Dies könnte ursächlich an Hardware- und Softwarekomponenten liegen. Da OCT mit zunehmender Tendenz als Endpunkt neuroprotektiver Therapien angesehen wird, muss die Gerätetreue bei Folgeuntersuchungen für zuverlässige Ergebnisse betont werden, auch wenn die SD-OCT mit erheblich verbesserter Ausstattung (Auflösung, Bedienerfreundlichkeit und Folgeuntersuchungsgenauigkeit) die TD-OCT ablösen sollte. Weitere Vergleichsstudien sind nötig, um bei der Diversität von SD-OCT das geeignetste Gerät für neuroprotektive Verlaufsstudien bei MS herauszufinden.

## **Literaturverzeichnis**

1. Compston, A. & Coles, A. Multiple sclerosis. *Lancet* **372**, 1502–1517 (2008).
2. Noseworthy, J. H., Lucchinetti, C., Rodriguez, M. & Weinshenker, B. G. Multiple sclerosis. *N. Engl. J. Med.* **343**, 938–952 (2000).
3. Balcer, L. J. Clinical practice. Optic neuritis. *N. Engl. J. Med.* **354**, 1273–1280 (2006).
4. Shams, P. N. & Plant, G. T. Optic neuritis: a review. *Int MS J* **16**, 82–89 (2009).
5. Optic Neuritis Study Group. The clinical profile of optic neuritis. Experience of the Optic Neuritis Treatment Trial. *Arch. Ophthalmol.* **109**, 1673–1678 (1991).

6. Barkhof, F., Calabresi, P. A., Miller, D. H. & Reingold, S. C. Imaging outcomes for neuroprotection and repair in multiple sclerosis trials. *Nat Rev Neurol* **5**, 256–266 (2009).
7. McFarland, H. F. *et al.* MRI studies of multiple sclerosis: implications for the natural history of the disease and for monitoring effectiveness of experimental therapies. *Mult. Scler.* **2**, 198–205 (1996).
8. Neema, M., Stankiewicz, J., Arora, A., Guss, Z. D. & Bakshi, R. MRI in multiple sclerosis: what's inside the toolbox? *Neurotherapeutics* **4**, 602–617 (2007).
9. Barkhof, F. The clinico-radiological paradox in multiple sclerosis revisited. *Curr Opin Neurol* **15**, 239–245 (2002).
10. Vrenken, H. & Geurts, J. J. G. Gray and normal-appearing white matter in multiple sclerosis: an MRI perspective. *Expert Rev Neurother* **7**, 271–279 (2007).
11. Fercher, A. F., Mengedocht, K. & Werner, W. Eye-length measurement by interferometry with partially coherent light. *Opt Lett* **13**, 186–188 (1988).
12. Huang, D., Wang, J., Lin, C. P., Puliafito, C. A. & Fujimoto, J. G. Micron-resolution ranging of cornea anterior chamber by optical reflectometry. *Lasers Surg Med* **11**, 419–425 (1991).
13. Pasol, J. Neuro-ophthalmic disease and optical coherence tomography: glaucoma look-alikes. *Curr Opin Ophthalmol* **22**, 124–132 (2011).
14. Huang, D. *et al.* Optical coherence tomography. *Science* **254**, 1178–1181 (1991).
15. Aref, A. A. & Budenz, D. L. Spectral domain optical coherence tomography in the diagnosis and management of glaucoma. *Ophthalmic Surg Lasers Imaging* **41 Suppl**, S15–27 (2010).
16. Zangwill, L. M., Williams, J., Berry, C. C., Knauer, S. & Weinreb, R. N. A comparison of optical coherence tomography and retinal nerve fiber layer photography for detection of nerve fiber layer damage in glaucoma. *Ophthalmology* **107**, 1309–1315 (2000).
17. Parisi, V. *et al.* Correlation between morphological and functional retinal impairment in multiple sclerosis patients. *Invest Ophthalmol Vis Sci* **40**, 2520–2527 (1999).
18. Frohman, E. *et al.* Optical coherence tomography in multiple sclerosis. *Lancet Neurol* **5**, 853–863 (2006).

19. Bock, M. *et al.* Patterns of retinal nerve fiber layer loss in multiple sclerosis patients with or without optic neuritis and glaucoma patients. *Clin Neurol Neurosurg* **112**, 647–652 (2010).
20. Bock, M. *et al.* Impairment of contrast visual acuity as a functional correlate of retinal nerve fibre layer thinning and total macular volume reduction in multiple sclerosis. *Br J Ophthalmol* **96**, 62–67 (2012).
21. Lamirel, C., Newman, N. J. & Biousse, V. Optical coherence tomography (OCT) in optic neuritis and multiple sclerosis. *Rev. Neurol. (Paris)* **166**, 978–986 (2010).
22. Villoslada, P., Cuneo, A., Gelfand, J., Hauser, S. L. & Green, A. Color vision is strongly associated with retinal thinning in multiple sclerosis. *Multiple sclerosis (Houndmills, Basingstoke, England)* (2012).doi:10.1177/1352458511431972
23. Kerrison, J. B., Flynn, T. & Green, W. R. Retinal pathologic changes in multiple sclerosis. *Retina* **14**, 445–451 (1994).
24. Frisén, L. & Hoyt, W. F. Insidious atrophy of retinal nerve fibers in multiple sclerosis. Funduscopy identification in patients with and without visual complaints. *Arch Ophthalmol* **92**, 91–97 (1974).
25. GARTNER, S. Optic neuropathy in multiple sclerosis; optic neuritis. *AMA Arch Ophthalmol* **50**, 718–726 (1953).
26. Feinsod, M. & Hoyt, W. F. Subclinical optic neuropathy in multiple sclerosis. How early VEP components reflect axon loss and conduction defects in optic pathways. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatr.* **38**, 1109–1114 (1975).
27. Green, A. J., McQuaid, S., Hauser, S. L., Allen, I. V. & Lyness, R. Ocular pathology in multiple sclerosis: retinal atrophy and inflammation irrespective of disease duration. *Brain* **133**, 1591–1601 (2010).
28. Korol, S. & Babel, J. [Visual evoked potentials and ophthalmoscopy redfree light in subclinical retrobulbar neuritis of multiple sclerosis (author's transl)]. *J Fr Ophthalmol* **2**, 463–470 (1979).
29. Petzold, A. *et al.* Optical coherence tomography in multiple sclerosis: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Neurol* **9**, 921–932 (2010).
30. Rett, D. OCT overview. *Insight* **36**, 7–10; quiz 11 (2011).
31. Kardon, R. H. Role of the macular optical coherence tomography scan in neuro-ophthalmology. *J Neuroophthalmol* **31**, 353–361 (2011).
32. Puliafito, C. A. Optical coherence tomography of ocular diseases. *Thorofare* (1996).

33. Danesh-Meyer, H. V. *et al.* In vivo retinal nerve fiber layer thickness measured by optical coherence tomography predicts visual recovery after surgery for parachiasmal tumors. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* **49**, 1879–1885 (2008).
34. Bühren, J., Terzi, E., Bach, M., Wesemann, W. & Kohnen, T. Measuring contrast sensitivity under different lighting conditions: comparison of three tests. *Optom Vis Sci* **83**, 290–298 (2006).
35. Hohberger, B., Laemmer, R., Adler, W., Juenemann, A. G. M. & Horn, F. K. Measuring contrast sensitivity in normal subjects with OPTEC 6500: influence of age and glare. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* **245**, 1805–1814 (2007).
36. Polman, C. H. *et al.* Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2005 revisions to the 'McDonald Criteria'. *Ann Neurol* **58**, 840–846 (2005).
37. Fercher, A. F., Drexler, W., Hitzenberger, C. K. & Lasser, T. Optical coherence tomography - principles and applications. *Reports on Progress in Physics* **66**, 239–303 (2003).
38. Campbell, F. W. & Robson, J. G. Application of Fourier analysis to the visibility of gratings. *J. Physiol. (Lond.)* **197**, 551–566 (1968).
39. Nemani, D. Quadrant-Specific Retinal Nerve Fiber Layer Thinning by Optical Coherence Tomography (OCT) in MS. *Neurology A264* (2008).
40. Applegate R, Hilmantel G & Howland H Area under the log contrast sensitivity function: A concise method of following changes in visual performance. *OSA Technical Digest Series* **1**, 98–101 (1997).
41. Galetta, K. M., Calabresi, P. A., Frohman, E. M. & Balcer, L. J. Optical coherence tomography (OCT): imaging the visual pathway as a model for neurodegeneration. *Neurotherapeutics* **8**, 117–132 (2011).
42. Costello, F., Hodge, W., Pan, Y. I., Freedman, M. & DeMeulemeester, C. Differences in retinal nerve fiber layer atrophy between multiple sclerosis subtypes. *J Neurol Sci* **281**, 74–79 (2009).
43. Klistorner, A. *et al.* Multifocal VEP and OCT in optic neuritis: a topographical study of the structure-function relationship. *Doc Ophthalmol* **118**, 129–137 (2009).
44. Tátrai, E. *et al.* In vivo evaluation of retinal neurodegeneration in patients with multiple sclerosis. *PLoS ONE* **7**, e30922 (2012).
45. Pueyo, V. *et al.* Axonal loss in the retinal nerve fiber layer in patients with multiple sclerosis. *Mult Scler* **14**, 609–614 (2008).

46. Sepulcre, J. *et al.* Diagnostic accuracy of retinal abnormalities in predicting disease activity in MS. *Neurology* **68**, 1488–1494 (2007).
47. Lu, A. T.-H. *et al.* Combining nerve fiber layer parameters to optimize glaucoma diagnosis with optical coherence tomography. *Ophthalmology* **115**, 1352–7, 1357.e1–2 (2008).
48. Frisén, L. & Quigley, H. A. Visual acuity in optic atrophy: a quantitative clinicopathological analysis. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* **222**, 71–74 (1984).
49. Trobe, J. D., Glaser, J. S. & Cassady, J. C. Optic atrophy. Differential diagnosis by fundus observation alone. *Arch Ophthalmol* **98**, 1040–1045 (1980).
50. MacFadyen, D. J. *et al.* The retinal nerve fiber layer, neuroretinal rim area, and visual evoked potentials in MS. *Neurology* **38**, 1353–1358 (1988).
51. Rath, E. Z., Rehany, U., Linn, S. & Rumelt, S. Correlation between optic disc atrophy and aetiology: anterior ischaemic optic neuropathy vs optic neuritis. *Eye* **17**, 1019–1024 (2003).
52. Costello, F. *et al.* Quantifying axonal loss after optic neuritis with optical coherence tomography. *Ann Neurol* **59**, 963–969 (2006).
53. Trip, S. A. *et al.* Retinal nerve fiber layer axonal loss and visual dysfunction in optic neuritis. *Ann Neurol* **58**, 383–391 (2005).
54. Fisher, J. B. *et al.* Relation of visual function to retinal nerve fiber layer thickness in multiple sclerosis. *Ophthalmology* **113**, 324–332 (2006).
55. Toussaint, D., Périer, O., Verstappen, A. & Bervoets, S. Clinicopathological study of the visual pathways, eyes, and cerebral hemispheres in 32 cases of disseminated sclerosis. *J Clin Neuroophthalmol* **3**, 211–220 (1983).
56. Hood, D. C. & Kardon, R. H. A framework for comparing structural and functional measures of glaucomatous damage. *Prog Retin Eye Res* **26**, 688–710 (2007).
57. Oberwahrenbrock, T. *et al.* Retinal Damage in Multiple Sclerosis Disease Subtypes Measured by High-Resolution Optical Coherence Tomography. *Multiple Sclerosis International* **2012**, 1–10 (2012).
58. Evangelou, N. *et al.* Size-selective neuronal changes in the anterior optic pathways suggest a differential susceptibility to injury in multiple sclerosis. *Brain* **124**, 1813–1820 (2001).
59. Fjeldstad, C., Bembem, M. & Pardo, G. Reduced retinal nerve fiber layer and macular thickness in patients with multiple sclerosis with no history of optic

- neuritis identified by the use of spectral domain high-definition optical coherence tomography. *J Clin Neurosci* **18**, 1469–1472 (2011).
60. Costello, F., Hodge, W., Pan, Y. I., Eggenberger, E. & Freedman, M. S. Using retinal architecture to help characterize multiple sclerosis patients. *Can. J. Ophthalmol.* **45**, 520–526 (2010).
61. Galetta, K. M. *et al.* Visual pathway axonal loss in benign multiple sclerosis: a longitudinal study. *J Neuroophthalmol* **32**, 116–123 (2012).
62. Henderson, A. P. D. *et al.* An investigation of the retinal nerve fibre layer in progressive multiple sclerosis using optical coherence tomography. *Brain* **131**, 277–287 (2008).
63. Albrecht, P. *et al.* Degeneration of retinal layers in multiple sclerosis subtypes quantified by optical coherence tomography. *Mult. Scler.* **18**, 1422–1429 (2012).
64. Gelfand, J. M., Nolan, R., Schwartz, D. M., Graves, J. & Green, A. J. Microcystic macular oedema in multiple sclerosis is associated with disease severity. *Brain* **135**, 1786–1793 (2012).
65. Saidha, S. *et al.* Microcystic macular oedema, thickness of the inner nuclear layer of the retina, and disease characteristics in multiple sclerosis: a retrospective study. *Lancet Neurol* (2012).doi:10.1016/S1474-4422(12)70213-2
66. Pfueller, C. F. *et al.* Metabolic changes in the visual cortex are linked to retinal nerve fiber layer thinning in multiple sclerosis. *PLoS One* **6**, e18019 (2011).
67. Saidha, S. *et al.* Relationships Between Retinal Axonal and Neuronal Measures and Global Central Nervous System Pathology in Multiple Sclerosis. *Arch. Neurol.* 1–10 (2012).doi:10.1001/archneurol.2013.573
68. Dörr, J. *et al.* Association of retinal and macular damage with brain atrophy in multiple sclerosis. *PLoS One* **6**, e18132 (2011).
69. Gordon-Lipkin, E. *et al.* Retinal nerve fiber layer is associated with brain atrophy in multiple sclerosis. *Neurology* **69**, 1603–1609 (2007).
70. Frohman, E. M. *et al.* Relationship of optic nerve and brain conventional and non-conventional MRI measures and retinal nerve fiber layer thickness, as assessed by OCT and GDx: a pilot study. *J Neurol Sci* **282**, 96–105 (2009).
71. Siger, M. *et al.* Optical coherence tomography in multiple sclerosis: thickness of the retinal nerve fiber layer as a potential measure of axonal loss and brain atrophy. *J. Neurol.* **255**, 1555–1560 (2008).

72. Albrecht, P., Fröhlich, R., Hartung, H.-P., Kieseier, B. C. & Methner, A. Optical coherence tomography measures axonal loss in multiple sclerosis independently of optic neuritis. *J Neurol* **254**, 1595–1596 (2007).
73. Shindler, K. S., Ventura, E., Dutt, M. & Rostami, A. Inflammatory demyelination induces axonal injury and retinal ganglion cell apoptosis in experimental optic neuritis. *Exp. Eye Res.* **87**, 208–213 (2008).
74. Pueyo, V. *et al.* Sub-clinical atrophy of the retinal nerve fibre layer in multiple sclerosis. *Acta Ophthalmol* **88**, 748–752 (2010).
75. Imitola, J., Chitnis, T. & Khoury, S. J. Insights into the molecular pathogenesis of progression in multiple sclerosis: potential implications for future therapies. *Arch. Neurol.* **63**, 25–33 (2006).
76. Smith, K. J., Kapoor, R., Hall, S. M. & Davies, M. Electrically active axons degenerate when exposed to nitric oxide. *Ann. Neurol.* **49**, 470–476 (2001).
77. Funaki, S., Shirakashi, M., Funaki, H., Yaoeda, K. & Abe, H. Relationship between age and the thickness of the retinal nerve fiber layer in normal subjects. *Jpn. J. Ophthalmol.* **43**, 180–185 (1999).
78. Budenz, D. L. *et al.* Determinants of normal retinal nerve fiber layer thickness measured by Stratus OCT. *Ophthalmology* **114**, 1046–1052 (2007).
79. Ikuta, F. & Zimmerman, H. M. Distribution of plaques in seventy autopsy cases of multiple sclerosis in the United States. *Neurology* **26**, 26–28 (1976).
80. Reich, D. S. *et al.* Damage to the optic radiation in multiple sclerosis is associated with retinal injury and visual disability. *Arch Neurol* **66**, 998–1006 (2009).
81. Ciccarelli, O. *et al.* Optic radiation changes after optic neuritis detected by tractography-based group mapping. *Hum Brain Mapp* **25**, 308–316 (2005).
82. Mowry, E. M. *et al.* Vision related quality of life in multiple sclerosis: correlation with new measures of low and high contrast letter acuity. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatr.* **80**, 767–772 (2009).
83. Regan, D., Raymond, J., Ginsburg, A. P. & Murray, T. J. Contrast sensitivity, visual acuity and the discrimination of Snellen letters in multiple sclerosis. *Brain* **104**, 333–350 (1981).
84. Sakai, R. E., Feller, D. J., Galetta, K. M., Galetta, S. L. & Balcer, L. J. Vision in multiple sclerosis: the story, structure-function correlations, and models for neuroprotection. *J Neuroophthalmol* **31**, 362–373 (2011).



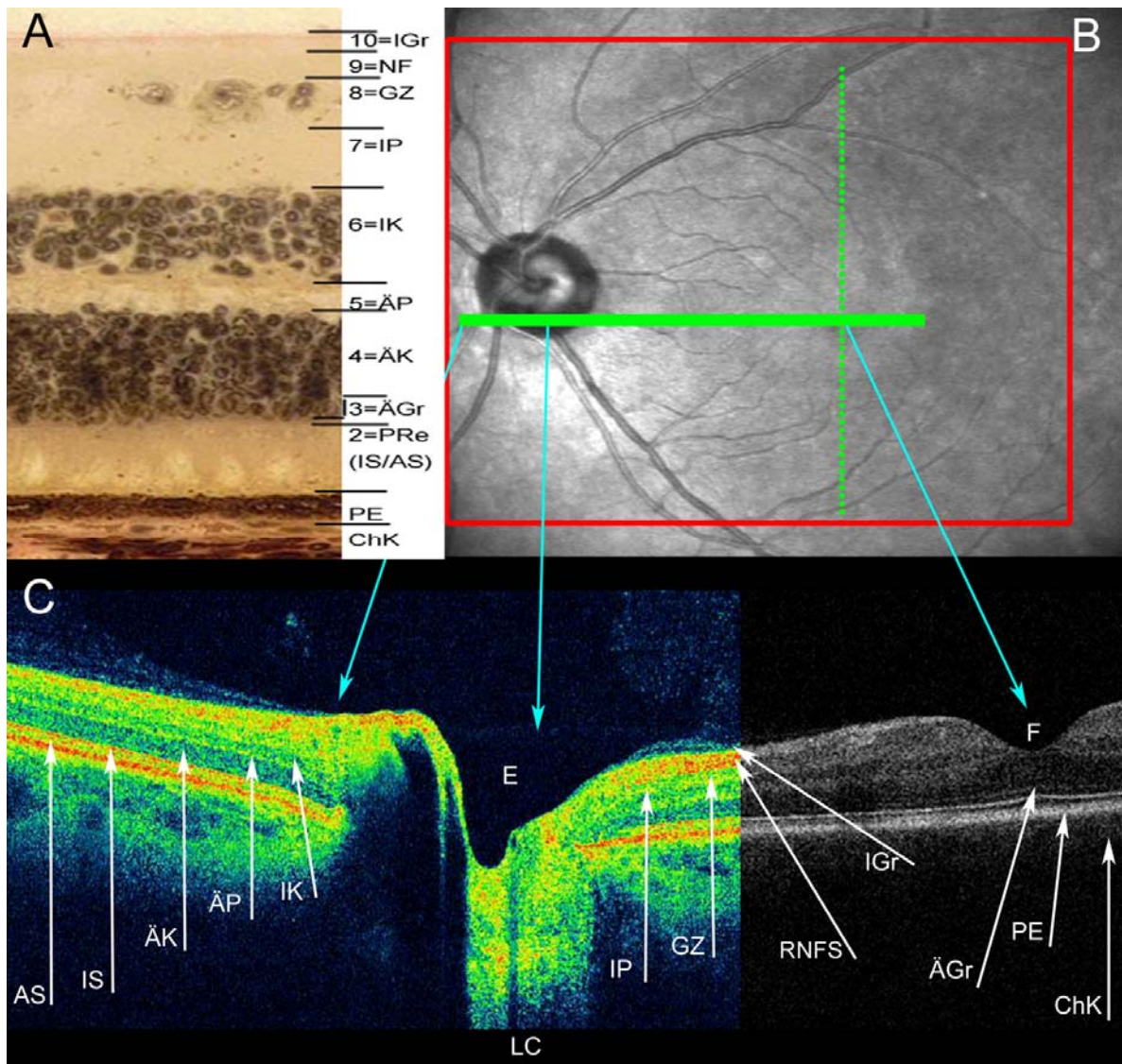
85. Kerrigan-Baumrind, L. A., Quigley, H. A., Pease, M. E., Kerrigan, D. F. & Mitchell, R. S. Number of ganglion cells in glaucoma eyes compared with threshold visual field tests in the same persons. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* **41**, 741–748 (2000).
86. Kiernan, D. F., Mieler, W. F. & Hariprasad, S. M. Spectral-domain optical coherence tomography: a comparison of modern high-resolution retinal imaging systems. *Am J Ophthalmol* **149**, 18–31 (2010).
87. Savini, G., Carbonelli, M. & Barboni, P. Spectral-domain optical coherence tomography for the diagnosis and follow-up of glaucoma. *Curr Opin Ophthalmol* **22**, 115–123 (2011).
88. Collins, J. Ophthalmic Desk Reference. *Ophthalmic Desk Reference* 645 (1991).
89. Hong, Y. T., Kim, S. W., Kim, E. K. & Kim, T. Contrast sensitivity measurement with 2 contrast sensitivity tests in normal eyes and eyes with cataract. *J Cataract Refract Surg* **36**, 547–552 (2010).
90. Baier, M. L. *et al.* Low-contrast letter acuity testing captures visual dysfunction in patients with multiple sclerosis. *Neurology* **64**, 992–995 (2005).
91. Knight, O. J., Chang, R. T., Feuer, W. J. & Budenz, D. L. Comparison of retinal nerve fiber layer measurements using time domain and spectral domain optical coherent tomography. *Ophthalmology* **116**, 1271–1277 (2009).
92. Bock, M. *et al.* Time domain and spectral domain optical coherence tomography in multiple sclerosis: a comparative cross-sectional study. *Mult. Scler.* **16**, 893–896 (2010).

## Tabellen, Abbildungen und Videomaterial

Alle Rechte der folgenden Abbildungen, sofern nicht anders gekennzeichnet, liegen bei Markus Bock.

	GK		MS						GA					
	RNFS D	SD	RNFS D	SD	CI	<i>p</i>	Diffe- renz	Verlust in %	RNFS D	SD	CI	<i>p</i>	Diffe- renz	Verlust in %
<b>mittlere RNFS D</b>	105.2	9.4	94.0	14.9	-13.4/-8.1	<b>&lt;0.0001</b>	-11.3	-10.7%	81.9	17.3	-30.5/-14.2	<b>&lt;0.0001</b>	-23.4	-22.2%
<b>Quadrant Superior</b>	128.0	14.1	115.3	19.6	-15.8/-8.7	<b>&lt;0.0001</b>	-12.7	-9.9%	94.4	24.3	-43.0/-21.9	<b>&lt;0.0001</b>	-33.6	-26.2%
<b>Quadrant Temporal</b>	75.6	14.1	64.3	17.1	-13.8/-7.5	<b>&lt;0.0001</b>	-11.3	-15.0%	60.8	15.8	-18.2/-3.2	<b>0.0051</b>	-14.8	-19.6%
<b>Quadrant Inferior</b>	130.7	16.0	118.9	21.9	-15.2/-7.2	<b>&lt;0.0001</b>	-11.7	-9.0%	105.2	27.4	-39.8/-13.0	<b>&lt;0.0001</b>	-25.4	-19.5%
<b>Quadrant Nasal</b>	84.7	16.8	75.5	16.5	-12.3/-5.6	<b>&lt;0.0001</b>	-9.2	-10.9%	67.3	16.5	-25.2/-8.6	<b>&lt;0.0001</b>	-17.4	-20.5%

**Tab. 1:** Die RNFS D (in  $\mu\text{m}$ ) von gesunden Kontrollen (GK), Multiple Sklerose Patienten (MS) and Patienten mit glaukomatöser Optikusatrophie (GA). Die Standard Abweichung (SD) ist für alle Gruppen in Bezug auf die RNFS D angegeben. Die 95% Konfidenzintervalle und die *p* Werte der alterskorrigierten GEE Analyse sind neben den absoluten RNFS D Verlusten und den relativen RNFS D Verlusten angegeben. Die fettgedruckten *p* Werte geben die signifikanten Unterschiede zwischen den Patienten und den gesunden Kontrollen an.



**Abb. 1: Anatomie der Retina**

\*A: Schichtaufbau Retina - lichtmikroskopische Aufnahme (vanGieson-Färbung)

Vergleiche die strukturelle Übereinstimmung zur OCT Aufnahme in Abb.1c.

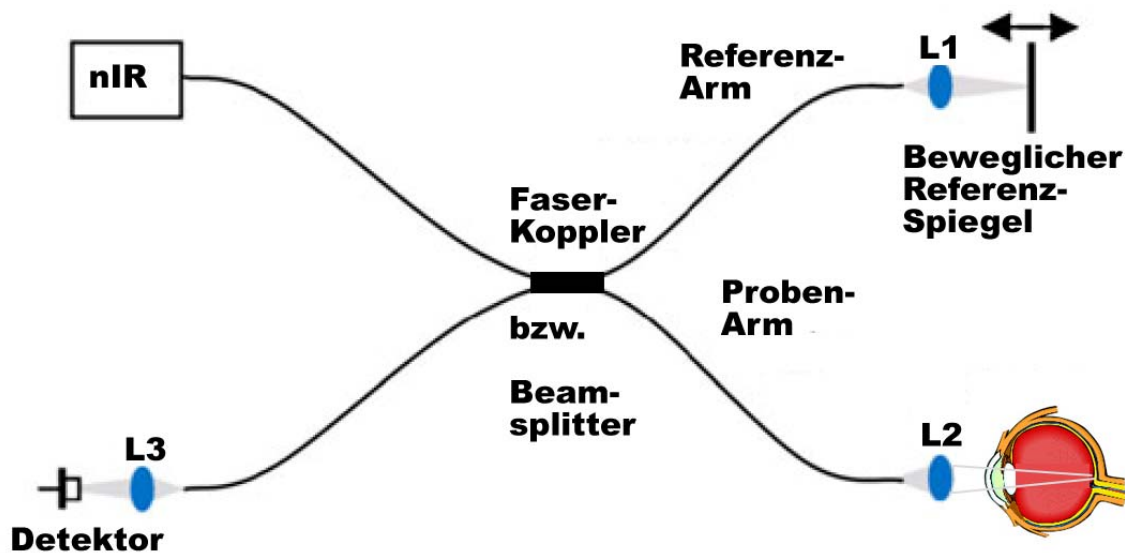
B+C: Fundus mit korrespondierendem OCT Schnittbild

Eine integrierte SW-Kamera ermöglicht die Orientierung am Fundus (oben re.). Die gesamte Fläche innerhalb des roten Rechtecks wird zeilenweise ausgelesen (grüne Linie). Die Rekonstruktion der Zeileninformationen entlang der grünen Punkte ergibt eine 3-D Volumenansicht (vgl. Abb.4). Das resultierende Schnittbild (unten) wird sofort in Falschfarbencodierung oder Grauskalierung ausgegeben.

Abkürzungen:

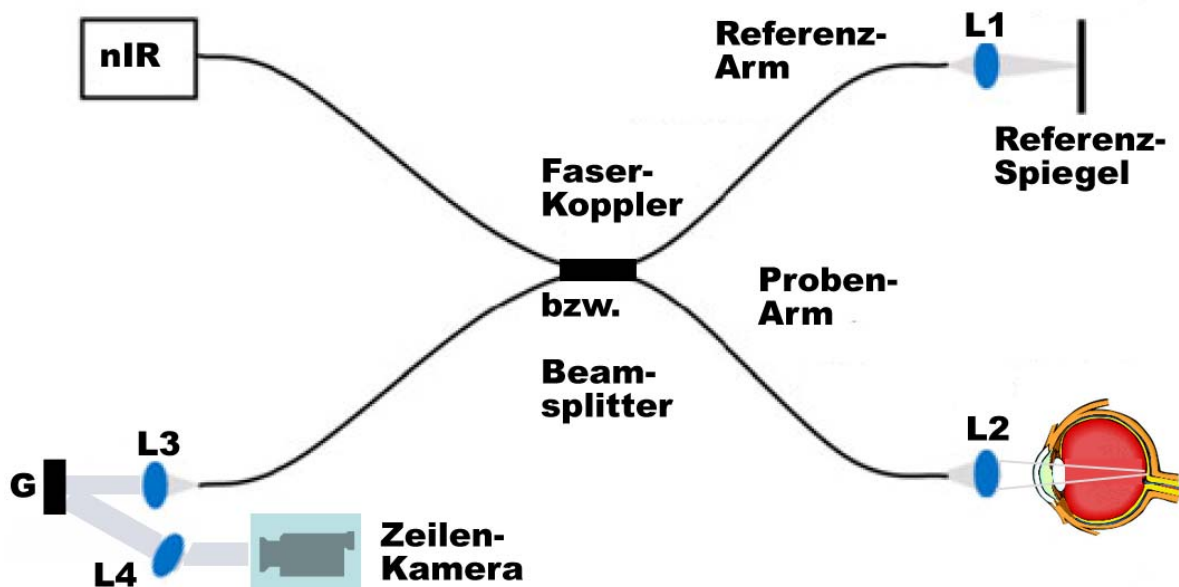
F: Foveola; E: Excavatio papillae; ChK: Choriokapillaris; PE: retinales Pigmentepithel; AS: Photorezeptoren Außensegmente; IS: Photorezeptoren Innensegmente; ÄGr: Äußere Grenzmembran; ÄK: Äußere Körnerschicht; ÄP: Äußere plexiforme Schicht; IK: Innere Körnerschicht; IP: Innere plexiforme Schicht; GZ: Ganglienzellschicht; NF: Nervenfaserschicht; IGr: Innere Grenzmembran

\*Die in Abbildung 1a verwendete histologische Darstellung der Retina wurde uns durch Dr. med. Andreas Winkelmann MSc. Institut für Vegetative Anatomie Centrum für Anatomie Campus Charité Mitte Charité - Universitätsmedizin Berlin D-10117 Berlin zur Verfügung gestellt.



**Abb. 2: Funktionsprinzip OCT**  
**A: Schema Time Domain OCT**

Das von einer nahe Infraroten - Lichtquelle (nIR) stammende Licht wird durch einen beam splitter (halbdurchlässiger Spiegel) oder einen Faserkoppler in einen Referenzarm und einen Probenarm aufgeteilt. Das reflektierte Licht aus der Probe wird mit dem definiert-variierten Referenzlicht des beweglichen Spiegels sequenziell verglichen. Die dabei entstehende Interferenz wird vom Detektor gemessen und zu einem Tomogramm verarbeitet.

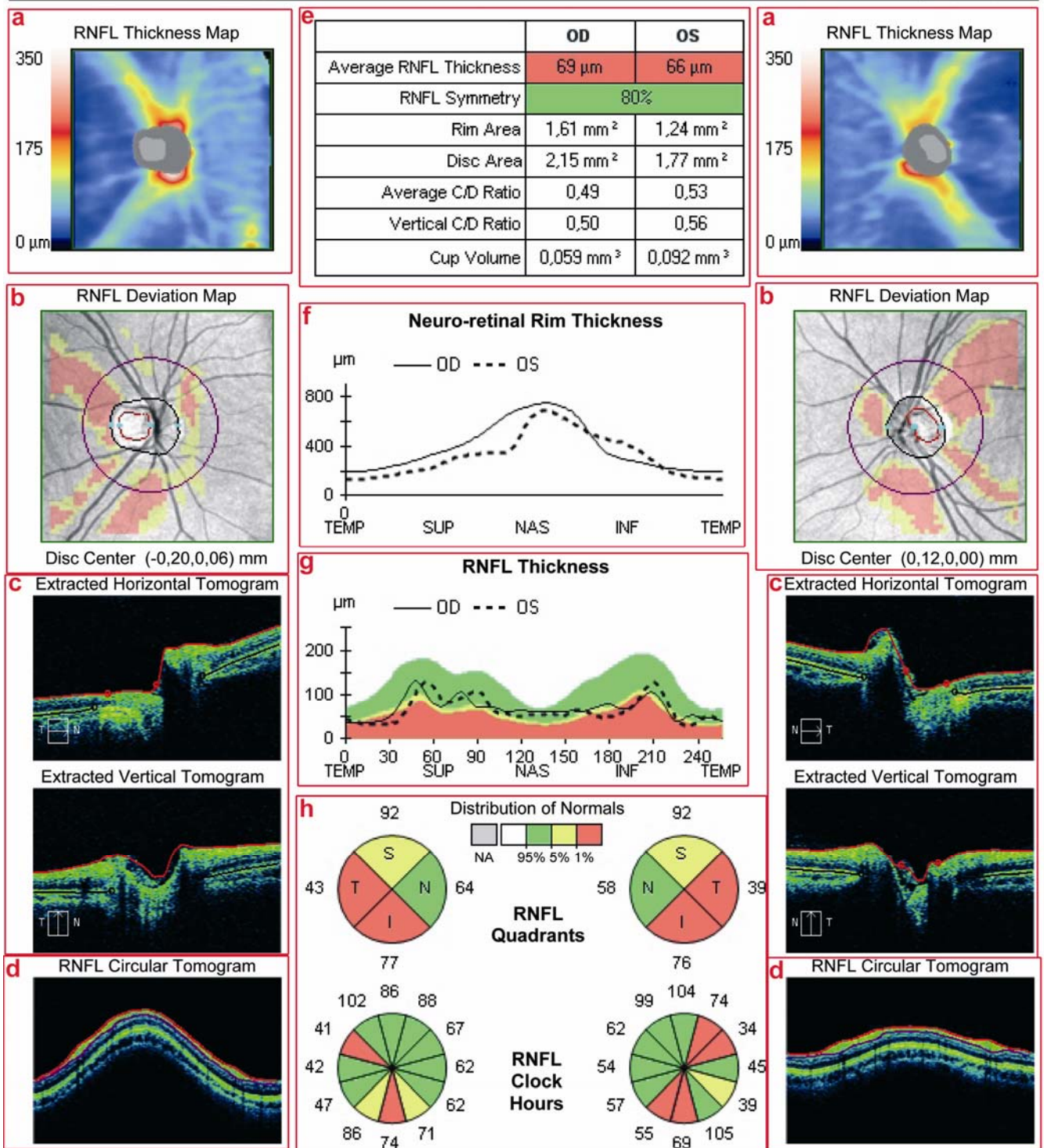


**B: Schema Spektral-Domain OCT**

Wie bei der TD-OCT wird das reflektierte Referenzlicht mit dem Probenlicht überlagert. Die interferierenden Lichtsignale werden an dem Gitter (G) unmittelbar in die spektralen Bestandteile der Tiefeninformation (A-Scan) zerlegt. Die Zeilenkamera liest das Interferenzspektrum aus, welches mit Hilfe einer Fouriertransformation in das der Probe entsprechende Reflektivitätsprofil aufgelöst wird.

rechtes Auge (OD)

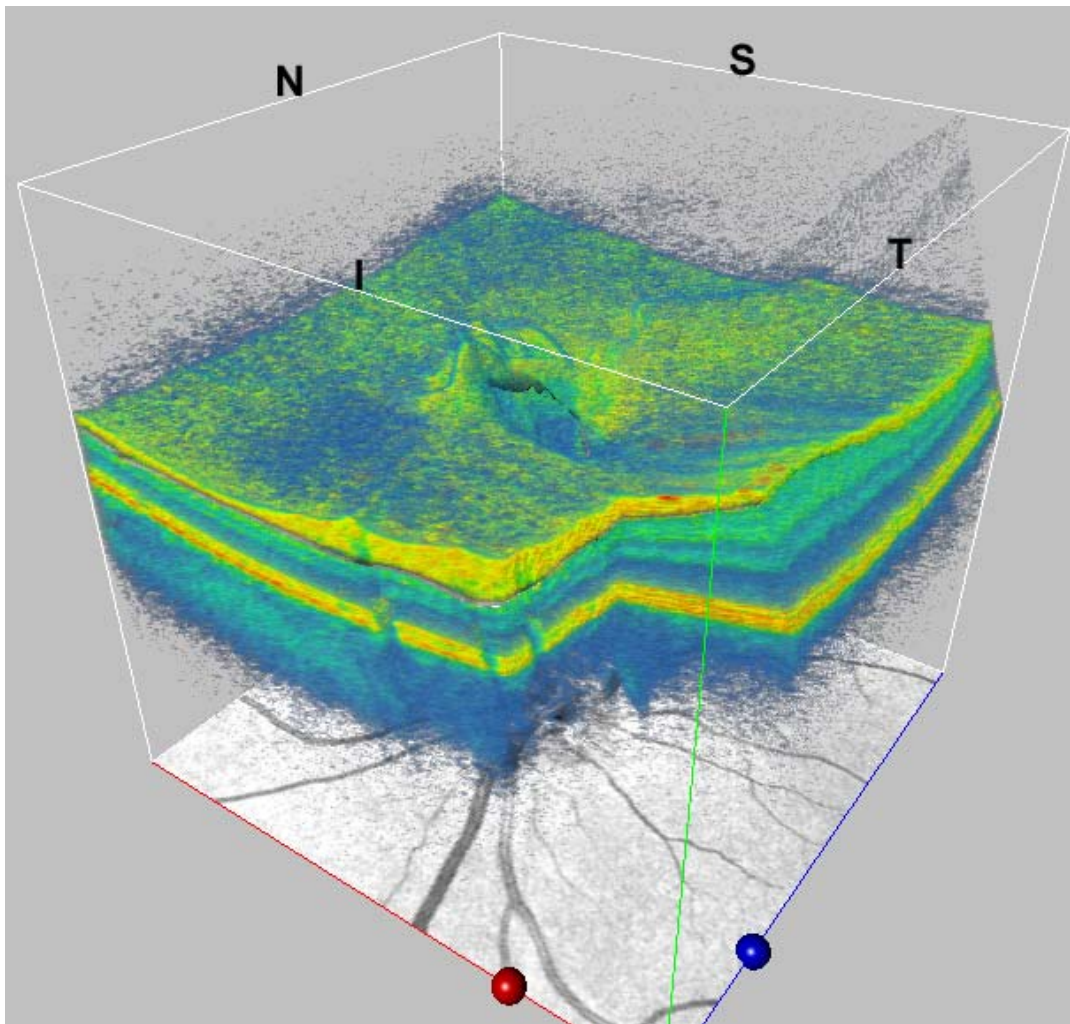
linkes Auge (OS)



**Abb. 3:** SD-OCT Ausgabeprotokoll eines 36jährigen Patienten mit RRMS - Standard-Analyse der retinalen Nervenfaserschichtdicke (RNFS) sowie der Papille

a): 6 mm Würfel-Scan mit Auftragung der RNFS in Falschfarben-Kodierung. b): OCT-Fundusaufnahme mit Papille und Umrisse der Papillenexkavation. Auf diesem Bild wird die Abweichung der RNFS von der normalen überlagert und als rote oder gelbe Superpixel hervorgehoben. Im Abstand von 1,7 mm zum Papillenzentrum erfolgt die zirkuläre Messung (lila Kreis) der RNFS. Die Axone strömen zentripetal

in die Papille ein. **c)** Fadenkreuzscan über dem Papillenzentrum zur erweiterten Darstellung der retino-papillären Übergangszone. **d)** Auftrennung des Messkreises (vgl. Abb. 3b) zum linearen Schnittbild. Zwischen den roten Segmentationslinien befindet sich die RNFS. **e)** Das Messergebnis erscheint in der ersten Zeile als RNFS-Mittelwert (MW) in  $\mu\text{m}$ . Farbliche Unterlegung als Hinweis auf die Normalverteilung. **f)** Graphische Darstellung der Dicke des neuroretinalen Randsaumes im Seitenvergleich. **g)** Graphische Darstellung der RNFS (lila Kreis Fundusbild) im Seitenvergleich. **h)** Die Quadranten und „Tortenstücke“ ermöglichen das Beobachten fokaler Veränderungen der RNFS. Die Ergebnisse sind farblich für die Normalverteilung kategorisiert. Grün: Innerhalb der 95% Percentile; gelb: Innerhalb der 5% Percentile; rot: Innerhalb der 1% Percentile.



**Abb. 4:** Peripapilläre Volumendarstellung

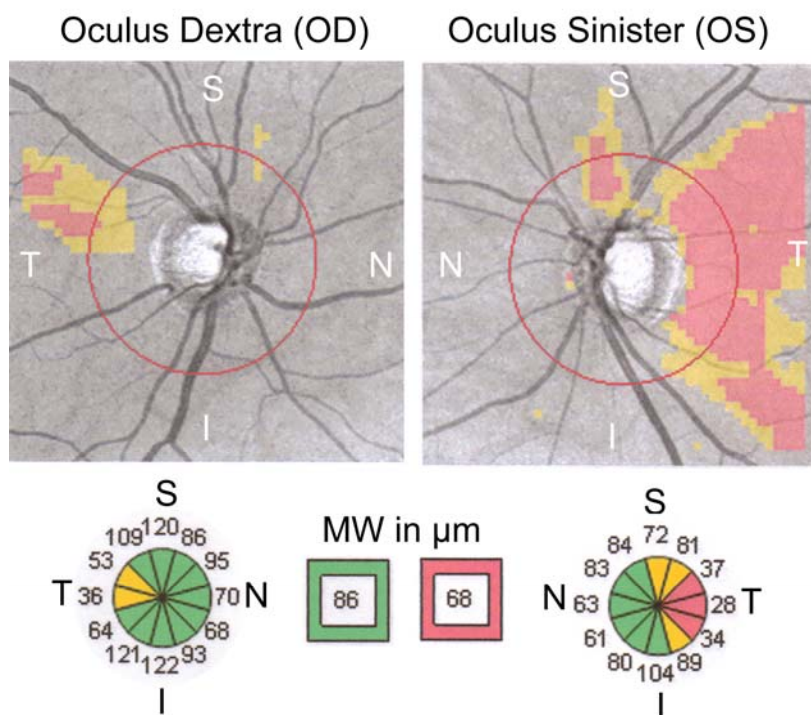
SD-OCT ermöglicht die Generierung ganzer Datenwürfel, aus denen Volumina einzelner Schichten oder der gesamten Retina errechnet werden können. Hier ist ein quadratisches 6mm Papillen-Raster abgebildet, der 200 Scanlinien erfasst und von denen sich jede aus 200 A-Scans zusammensetzt. Zentral liegt die Papille (peripapilläre Sektoren: I=inferior, T=temporal, N= nasal, S=superior).

Die RNFS und das Pigmentepithel sind hyperreflektiv (rot) und umschließen die weiteren, moderat reflektiven Retinaschichten. Die Photorezeptoren fallen als hyporeflektive Areale (dunkelblau) auf. Die in allen Schichten auffallenden Brüche sind Gefäßartefakte und stellen keine Pathologie dar (vgl. unterlegte Fundusaufnahme mit Gefäßbaum).



**Abb. 5:** Tafel zur Untersuchung der funktionellen Sehkraft

Die Abbildung zeigt den Functional Acuity Contrast Test mit allen getesteten Kontrastintensitäten (Zeilen), welche von links nach rechts um je 0,15 log abnehmen, und die fünf in Spalten angeordneten Ortsfrequenzen (A=1,5, B=3, C=6, D=12, E=18 cpd). Während der Patient in den Multivisionskontrasttester schaut, werden die Ausrichtungen der Gitterlinien nacheinander abgefragt und notiert.



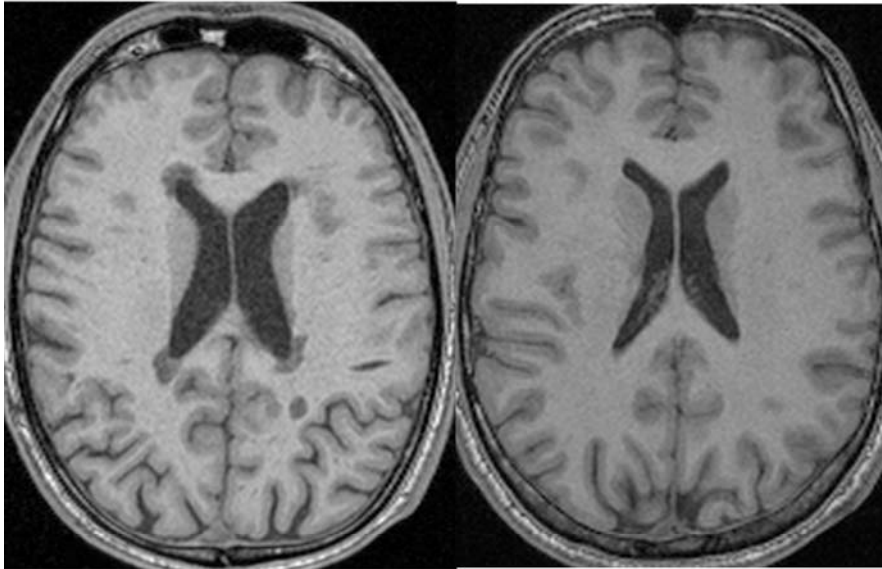
**Abb. 6:** MS Patient mit linksseitig abgelaufener Neuritis nervi optici (NNO)

Abb. 6 oben re. und li.: OCT-Fundusaufnahme mit Papille und peripapillärem Scankreis. Auf diesem Bild wird die Abweichung der gemessenen RNFS von der normierten RNFS als rote oder gelbe Superpixel hervorgehoben. I = inferior, S = superior, N = nasal, T = temporal

Abb. 6 unten: Quantifizierung der RNFS in Mikrometer ( $\mu\text{m}$ ). Die Ausgabe der zirkumferenten Messung erfolgt als Mittelwert (MW) und als lokales Ergebnis in den Uhrenpositionen bzw. Quadranten. Die mit den einzelnen Messungen verbundene Farbe geht aus der normativen Datenbank hervor: Grün: innerhalb der 95% Perzentile; gelb: innerhalb der 5% Perzentile; rot: innerhalb der 1% Perzentile.

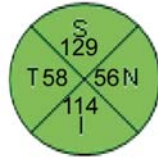
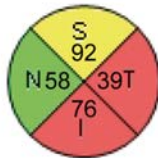
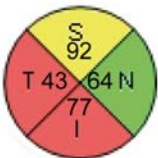
**32jähriger RRMS Patient**

**Gesunder 37jähriger**



**OD: 69 $\mu\text{m}$  OS: 66 $\mu\text{m}$**

**OD: 89 $\mu\text{m}$  OS: 88 $\mu\text{m}$**



**Abb. 7: MRT und OCT Aufnahme eines Gesunden (re.) und eines RRMS Betroffenen (li.)**

Beachtenswert ist die beginnende Hirnatrophie mit etwas verplumptem Ventrikelsystem beim MS-Patient und das zeitnah dazu aufgenommene optische Kohärenztomogramm, welches die deutliche Erniedrigung der mittleren RNFS auf 69 bzw 66  $\mu\text{m}$  zeigt. Die RNFS liegt im 1% Bereich der Normalverteilungsperzentile.

**Videomaterial: siehe compact disc anbei**

**Video 1:** En-face Scanüberlagerung des (peri)-papillären 2D-Fundusbildes mit dem korrespondierenden 3D-Würfelscan. Die Querschnittscanbilder stellen die retinalen Substrukturen entlang der z-Achse (axial) dar.

**Video 2:** Hochauflösender 3D-Würfelscan des (peri)-makulären Areals entlang der x-Achse in der schnellen B-Scan Ebene.

**Video 3:** Zwei hochauflösende 3D-Würfelscans des (peri)-papillären Areals zum Vergleich zwischen MS-Patient und Gesundem. Die Querschnittscanbilder stellen die retinalen Substrukturen entlang der y-Achse (langsame B-Scan Ebene) in temporal-nasaler Abfolge dar. Die roten Kreise deuten auf Unterschiede im Reflektivitätsgrad und der Schichtdicke.



## **Anteilerklärung**

Markus Bock hatte folgenden Anteil an den vorgelegten Publikationen:

**Publikation 1:** Bock, M.; Brandt, A. U.; Dörr, J.; Kraft, H.; Weinges-Evers, N.; Gaede, G.; Pfueller, C. F.; Herges, K.; Radbruch, H.; Ohlraun, S.; Bellmann-Strobl, J.; Kuchenbecker, J.; Zipp, F. & Paul, F. Patterns of retinal nerve fiber layer loss in multiple sclerosis patients with or without optic neuritis and glaucoma patients. Clin Neurol Neurosurg., 2010, 112, 647-652

70 Prozent

Beitrag im Einzelnen: Patientenrekrutierung, Datenacquire, Datenauswertung, Verfassen des Manuskriptes, Literaturrecherche

**Publikation 2:** Bock, M.; Brandt, A. U.; Kuchenbecker, J.; Dörr, J.; Pfueller, C. F.; Weinges-Evers, N.; Gaede, G.; Zimmermann, H.; Bellmann-Strobl, J.; Ohlraun, S.; Zipp, F. & Paul, F. Impairment of contrast visual acuity as a functional correlate of retinal nerve fibre layer thinning and total macular volume reduction in multiple sclerosis. Br J Ophthalmol, 2012, 96, 62–67

60 Prozent

Beitrag im Einzelnen: Patientenrekrutierung, Datenacquire, Datenauswertung, Verfassen des Manuskriptes, Literaturrecherche

**Publikation 3:** Bock, M.; Brandt, A. U.; Dörr, J.; Pfueller, C. F.; Ohlraun, S.; Zipp, F. & Paul, F., Time domain and spectral domain optical coherence tomography in multiple sclerosis: a comparative cross-sectional study.

Mult Scler, 2010, 16, 893-896

50 Prozent

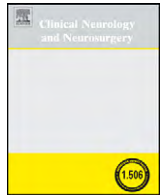
Beitrag im Einzelnen: Patientenrekrutierung, Datenacquire, Datenauswertung, Verfassen des Manuskriptes, Literaturrecherche

Prof. Dr. med. Friedemann Paul  
Betreuer der Promotion

Markus Bock  
Promotionsanwärter

## **Ausgewählte Publikationen**

1. Bock, M.; Brandt, A. U.; Dörr, J.; Kraft, H.; Weinges-Evers, N.; Gaede, G.; Pfueller, C. F.; Herges, K.; Radbruch, H.; Ohlraun, S.; Bellmann-Strobl, J.; Kuchenbecker, J.; Zipp, F. & Paul, F. Patterns of retinal nerve fiber layer loss in multiple sclerosis patients with or without optic neuritis and glaucoma patients. *Clin Neurol Neurosurg.*, 2010, 112, 647-652
2. Bock, M.; Brandt, A. U.; Kuchenbecker, J.; Dörr, J.; Pfueller, C. F.; Weinges-Evers, N.; Gaede, G.; Zimmermann, H.; Bellmann-Strobl, J.; Ohlraun, S.; Zipp, F. & Paul, F. Impairment of contrast visual acuity as a functional correlate of retinal nerve fibre layer thinning and total macular volume reduction in multiple sclerosis. *Br J Ophthalmol*, 2012, 96, 62–67
3. Bock, M.; Brandt, A. U.; Dörr, J.; Pfueller, C. F.; Ohlraun, S.; Zipp, F. & Paul, F., Time domain and spectral domain optical coherence tomography in multiple sclerosis: a comparative cross-sectional study. *Mult Scler*, 2010, 16, 893-896



## Patterns of retinal nerve fiber layer loss in multiple sclerosis patients with or without optic neuritis and glaucoma patients

Markus Bock<sup>a,b,2</sup>, Alexander U. Brandt<sup>a,b,2</sup>, Jan Dörr<sup>a,b,2</sup>, Helga Kraft<sup>c</sup>, Nicholetta Weinges-Evers<sup>a,b</sup>, Gunnar Gaede<sup>b</sup>, Caspar F. Pfueller<sup>a,b</sup>, Katja Herges<sup>a</sup>, Helena Radbruch<sup>a</sup>, Stephanie Ohlraun<sup>b</sup>, Judith Bellmann-Strobl<sup>a</sup>, Jörn Kuchenbecker<sup>c</sup>, Frauke Zipp<sup>a,1,3</sup>, Friedemann Paul<sup>a,b,\*,3</sup>

<sup>a</sup> Cecilie Vogt Clinic, Charité - Universitätsmedizin Berlin, Charitéplatz 1, 10117 Berlin, Germany

<sup>b</sup> NeuroCure Clinical Research Center, Charité - Universitätsmedizin Berlin, Charitéplatz 1, 10117 Berlin, Germany

<sup>c</sup> Department of Ophthalmology, HELIOS Klinikum Berlin-Buch, Schwanebecker Chaussee 50, 13125 Berlin, Germany

### ARTICLE INFO

#### Article history:

Received 30 July 2009

Received in revised form 14 April 2010

Accepted 18 April 2010

Available online 10 May 2010

#### Keywords:

Glaucoma

Multiple sclerosis

Neurodegeneration

Neuroprotection

Optical coherence tomography

Optic neuritis

Retinal nerve fiber layer thickness

Retinal quadrants

### ABSTRACT

**Objective:** Optical coherence tomography (OCT) has gained increasing attention in multiple sclerosis (MS) research and has been suggested as outcome measure for neuroprotective therapies. However, to date it is not clear whether patterns of retinal nerve fiber layer thickness (RNFLT) loss are different in MS compared to other diseases such as glaucoma and data on RNFLT loss in MS patients with or without optic neuritis (ON/NON) have remained inconsistent or even contradictory.

**Methods:** In this large cross-sectional study we analyzed the patterns of axonal loss of retinal ganglion cells in MS eyes ( $n=262$ ) with and without history of ON (MS/ON: 73 eyes; MS/NON: 189 eyes) and patients eyes with glaucomatous optic disc atrophy (GA:  $n=22$ ; 39 eyes) in comparison to healthy control eyes (HC:  $n=406$  eyes).

**Results:** We found that significant average and quadrant RNFLT loss is detectable by OCT in both MS and GA patients compared to healthy controls ( $p<0.01$ ). The age- and gender adjusted average and quadrant RNFLT did not differ significantly between MS and GA patients ( $p>0.05$ ). Average ( $p<0.0001$ ) and quadrant ( $p<0.05$ ) RNFL thinning is significantly more severe in MS/ON versus MS/NON eyes, and the extent of RNFL thinning varies across quadrants in MS/ON eyes with the highest degree of RNFLT loss in the temporal quadrant ( $p<0.001$ ).

**Conclusion:** RNFLT reduction across all four quadrants in MS patients as a whole as well as in MS/NON eyes argues for a diffuse neurodegenerative process. Superimposed inflammatory attacks to the optic nerve may cause additional axonal damage with a temporal preponderance. Future studies are necessary to further evaluate the capacity of OCT to depict disease specific damage patterns.

© 2010 Elsevier B.V. All rights reserved.

### 1. Introduction

Multiple sclerosis (MS) is a chronic autoimmune central nervous system (CNS) disorder characterized by focal and diffuse inflammation and demyelination as well as neuronal and axonal damage [1].

Optical coherence tomography (OCT) offers the unique opportunity to study *in vivo* unmyelinated retinal axons with a high spatial resolution [2], which has made this technique a valuable clinical

tool for the detection and monitoring of retinal nerve fiber layer (RNFL) loss in glaucoma (GA) patients with glaucomatous optic disc atrophy [3–5].

Recently, OCT has also gained increasing attention in MS research and has been suggested as a novel tool to track disease progression and as a future outcome measure for neuroprotective therapies in clinical trials [6,7]. Numerous OCT studies have shown a pronounced thinning of average retinal nerve fiber layer thickness (RNFLT) in optic neuritis (ON) and different MS subtypes [8–16] in comparison to healthy individuals. In contrast, it is to date not clear whether this RNFL thinning varies systematically across retinal quadrants. In previous studies, RNFLT changes in the four retinal quadrants (superior, temporal, inferior, nasal) were either not specifically investigated or yielded inconsistent results, presumably owing to heterogeneity in the respective study designs with differences in sample sizes, patient selection and statistical analysis [8,12,15,17–19].

\* Corresponding author at: NeuroCure Clinical Research Center, Charité - Universitätsmedizin Berlin, Charitéplatz 1, 10117 Berlin, Germany. Tel.: +49 30 450 639705; fax: +49 30 450 539921.

E-mail address: [friedemann.paul@charite.de](mailto:friedemann.paul@charite.de) (F. Paul).

<sup>1</sup> Current address: Department of Neurology, University Mainz, Germany.

<sup>2</sup> Equally contributing first authors listed in alphabetical order.

<sup>3</sup> Equally contributing senior authors.

Against the background of these reports it has still not been fully clarified whether thinning of RNFL in MS eyes is the consequence of a diffuse neurodegenerative process leading to an even RNFLT loss across the four retinal quadrants or whether there are distinct patterns of focal RNFL damage which may vary across quadrants and if so, whether these are related to previous attacks of ON. Moreover, although numerous previous OCT studies have investigated RNFL damage in GA [3,5,4] and although OCT reached clinical application in this condition several years ago, a comparative cross-sectional study on RNFL thinning in GA versus MS has not been performed in the same experimental setup.

Identifying specific disease-related thinning of the average and quadrant RNFLT might enhance the future value of OCT as an outcome measure in clinical trials and for therapeutic monitoring. The aims of this cross-sectional OCT study were (i) to distinguish RNFLT measurements between MS eyes versus GA eyes and healthy control eyes, (ii) to compare RNFLT measurements in MS/ON eyes to those in MS/NON eyes, (iii) to investigate whether RNFL thinning varies across retinal quadrants and (iv) to investigate whether there are condition-specific RNFL damage patterns in the superior, temporal, nasal and inferior quadrants.

## 2. Materials and methods

### 2.1. Study participants

RRMS patients fulfilling the current panel criteria [20] were prospectively recruited from our neurology outpatient clinic from September 2007 to December 2009. GA patients were recruited from September 2007 to June 2008 from the ophthalmology outpatient clinic. The study was approved by the local ethics committee, and all participants gave informed written consent according to the 1964 Declaration of Helsinki. Patients with MS and GA met the following criteria: age  $\geq 18$  years, spheric refractive error between  $-10$  and  $+6$  diopter, astigmatism  $<4$ , and intraocular pressure  $\geq 8$  mmHg and  $<22$  mmHg at the time of the OCT examination. MS patients were on a stable immunomodulatory therapy with either interferon-beta or glatiramer acetate for at least six months prior to inclusion. Individuals without history of neurological or ophthalmological diseases served as healthy controls (HC).

### 2.2. Clinical assessment

Medical history, particularly with respect to visual symptoms was taken from all study participants. Neurological disability in MS patients was assessed by the expanded disability status scale (EDSS) [21].

### 2.3. Optical coherence tomography

RNFLT was measured by a Stratus 3000 OCT (Carl Zeiss Meditec, Dublin, California) using the “fast RNFL 3.4” protocol (software version 4.0). Three 3.4 mm diameter circular scans were acquired over 1.92 s. A good quality image was defined as an image with generalized signal distribution, a reflectance signal from either RNFL or retinal pigment epithelium strong enough to identify either layer, no missing parts caused by eye movements, and a signal strength of  $\geq 8$  of 10 [22]. The segmentation line that defines the upper and lower border of the RNFL was required to be on the internal limiting membrane and lower border of the RNFL. Images which did not meet these criteria were excluded from analysis. The OCT A-scan data were digitally exported in a blinded fashion. The following parameters were calculated: average RNFLT in microns ( $\mu\text{m}$ ), and RNFLT in the four quadrants (superior (S):  $46\text{--}135^\circ$ , nasal (N):  $136\text{--}225^\circ$ , inferior (I):  $226\text{--}315^\circ$ , and temporal (T):  $316\text{--}45^\circ$ ).

### 2.4. Statistical analysis

Mann–Whitney *U*-tests were used to identify significance of age differences and Pearson’s Chi square analyses were used to assess significance of gender differences between subgroups. Differences of disease duration in months and EDSS between patients with a history of optic neuritis and those without a history of optic neuritis were assessed using Generalized Estimating Equations (GEE) to account for within-patient inter-eye relations and unilateral/bilateral ON.

Statistical differences of RNFLT between the different groups of study participants were calculated using GEE to account for within-subject inter-eye relations. All RNFLT GEE for comparison of healthy control eyes with MS patients’ eyes were corrected for age to adjust for differences between groups. For comparison between GA patient eyes with HC or MS eyes gender was included as an additional covariate.

To quantify RNFLT loss in different quadrants in diseased versus healthy eyes, the Mean Change to Controls (MCC) was calculated as the difference of a measurement to the mean RNFLT in the healthy control group’s respective measurement. The Relative Change to Controls (RCC) was calculated as the ratio of MCC to the mean RNFLT of the healthy control group’s respective measurement. To identify different patterns between RNFL quadrants in the different subgroups the following approach introduced by Nemani et al. was used [23]: first, repeated measurement analyses of variance (ANOVA) with each quadrant’s RNFLT as one measurement, group as factor and age as covariate were used to test if quadrants differed between and within different groups. If this comparison was significant, multiple comparisons with paired *t*-tests between all quadrants in each group were performed to identify which specific quadrants differed. For the latter approach a Bonferroni–Holm correction was applied to correct significance levels for multiple comparisons.

All statistical tests were performed using SPSS 16 (SPSS, Chicago, IL, USA). Graphical presentations were prepared using GraphPad Prism 5 (GraphPad Software, La Jolla, CA, USA) and Adobe Illustrator CS3 (Adobe Systems, Munich, Germany). For calculations, statistical significance was established at  $p < 0.05$  except when otherwise noted.

## 3. Results

### 3.1. Study participants

131 MS patients (262 eyes) and 203 healthy controls (406 eyes) underwent clinical and visual evaluation and OCT examination. Two MS patients’ left eyes were excluded due to papillary drusen and myopic conus. One left eye from the healthy control group was excluded because of myopic conus (Table 1).

MS patients were slightly but significantly older than healthy controls (HC mean age 37 years versus MS 40 years,  $p < 0.001$ , Table 1) but did not differ significantly in gender ( $p = 0.205$ ). All subsequent GEE for RNFLT comparison between healthy controls and MS patients therefore included age as covariate. Patients with MS/ON and MS/NON eyes did not differ in age (GEE,  $p = 0.875$ ), EDSS (GEE,  $p = 0.341$ ) or disease duration (GEE,  $p = 0.692$ ).

From the 22 GA patients (39 eyes), three left and one right eye were not analyzed due to blindness (Table 1). From one GA patient with single sided disease only the left eye was included. GA patients were significantly older (mean age GA 68.9 years) than healthy controls (Mann–Whitney *U*,  $p < 0.001$ ) and MS patients ( $p < 0.001$ ) and differed significantly in gender (Pearson’s Chi square test GA versus HC,  $p < 0.001$ ; GA versus MS,  $p = 0.005$ ). All GEE for RNFLT comparison between GA patients and healthy controls

**Table 1**

Description of study cohort with demographic and disease parameters. Healthy controls (HC), multiple sclerosis (MS) and Glaucoma (GA) groups are based on participants unless otherwise noted, ON and NON groups are based on eyes.

		HC	MS	NON eyes	ON eyes	GA
Subjects	n	203	131			22
Measured eyes	n	406	262	189 (72.1%)	73 (27.9%)	44
Excluded eyes	n	1	2			5
Sex	Female	143 (70.4%)	85 (64.9%)	123 (65.1%)	47 (64.4%)	8 (36.4%)
	Male	60 (29.6%)	46 (35.1%)	66 (34.9%)	26 (35.6%)	14 (63.6%)
Age (years)	Mean (SD)	37.0 (11.9)	40.0 (8.9)	40.0 (9.1)	40.0 (8.5)	68.9 (7.1)
	Range	14–79	20–59	20–59	21–59	53–79
Disease duration (months)	Mean (SD)	n/a	72.1 (58.4)	71.2(60.1)	74.6 (54.3)	135.4 (126.1)
	Range	n/a	3–269	3–269	7–193	1–473
EDSS	Median	n/a	2.0	2.0	2.0	n/a
	Range	n/a	0.0–6.0	0.0–6.0	0.0–4.5	n/a

**Table 2**

RNFLT (in  $\mu\text{m}$ ) in eyes of healthy controls (HC), multiple sclerosis (MS) and glaucoma patients (GA). For each group the mean RNFLT thickness is given with standard deviation (SD). For MS and GA patients 95% confidence intervals (CI) and *p* values from GEE corrected for age are displayed next to the Mean Change to Controls (MCC) and the Relative Change to Controls (RCC). *P* values in bold indicate significant differences in mean RNFLT between respective groups and controls.

	HC		MS			<i>p</i>	MCC	RCC	GA			<i>p</i>	MCC	RCC
	Mean	SD	Mean	SD	CI				Mean	SD	CI			
Average	105.2	9.4	94.0	14.9	–13.4/–8.1	<b>&lt;0.0001</b>	–11.3	–10.7%	81.9	17.3	–30.5/–14.2	<b>&lt;0.0001</b>	–23.4	–22.2%
Superior quadrant	128.0	14.1	115.3	19.6	–15.8/–8.7	<b>&lt;0.0001</b>	–12.7	–9.9%	94.4	24.3	–43.0/–21.9	<b>&lt;0.0001</b>	–33.6	–26.2%
Temporal quadrant	75.6	14.1	64.3	17.1	–13.8/–7.5	<b>&lt;0.0001</b>	–11.3	–15.0%	60.8	15.8	–18.2/–3.2	<b>0.0051</b>	–14.8	–19.6%
Inferior quadrant	130.7	16.0	118.9	21.9	–15.2/–7.2	<b>&lt;0.0001</b>	–11.7	–9.0%	105.2	27.4	–39.8/–13.0	<b>&lt;0.0001</b>	–25.4	–19.5%
Nasal quadrant	84.7	16.8	75.5	16.5	–12.3/–5.6	<b>&lt;0.0001</b>	–9.2	–10.9%	67.3	16.5	–25.2/–8.6	<b>&lt;0.0001</b>	–17.4	–20.5%

or MS patients therefore included age and gender as covariates.

3.2. RNFLT loss in MS and GA patients

MS patients showed significantly lower values in average RNFLT and RNFLT in all four quadrants compared to controls (GEE correcting for age, Table 2 and Fig. 1a). The absolute RNFLT loss (MCC) was most profound in the superior quadrant, whereas the highest relative change (RCC) was measured in the temporal quadrant. Compared to controls, GA patients showed a significant loss in average RNFLT and all four quadrants (GEE correcting for age and gender, Table 2 and Fig. 1a) with the highest MCC and RCC in the superior quadrant. RNFLT values did not differ between MS and GA patients after correcting for age and gender (GEE, average: *p* = 0.147, *S*: *p* = 0.131, *T*: *p* = 0.984, *I*: *p* = 0.108, *N*: *p* = 0.389).

3.3. RNFLT loss in MS eyes with or without a history of optic neuritis

When MS/ON and MS/NON eyes were analyzed separately, both groups showed a highly significant RNFLT loss when compared to healthy controls (GEE correcting for age, Table 3 and Fig. 1b). MS/NON eyes showed a less pronounced loss than MS/ON eyes, with RCC ranging from 6% in the inferior quadrant to 10% in the tem-

poral quadrant. RCC in MS/ON eyes ranged from 15% in the superior quadrant to 27% in the temporal quadrant. Mean values differed significantly between MS/ON and MS/NON eyes in average RNFLT (GEE, *p* < 0.0001) and all four quadrants (*S*: *p* = 0.0052, *T*: *p* < 0.0001, *I*: *p* < 0.0001, *N*: *p* = 0.0132). When fellow-eyes (*n* = 34) without history of ON from patients with only single sided ON were compared to eyes from patients without any history of optic neuritis in both eyes (*n* = 151), there was no significant difference in average RNFLT or RNFLT in the four quadrants (GEE; average: *p* = 0.179, *S*: *p* = 0.200, *T*: *p* = 0.117, *I*: *p* = 0.540, *N*: *p* = 0.531).

3.4. Pattern differences of RNFLT thinning

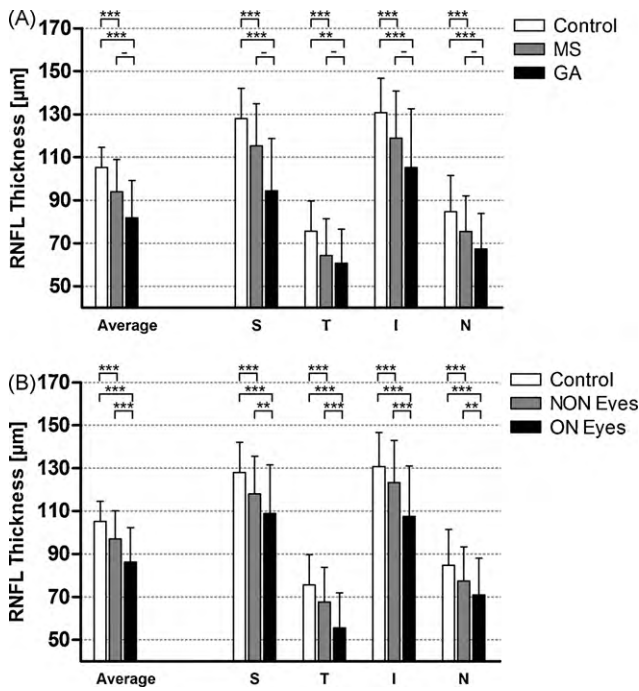
Next, we addressed whether differences in MCC and RCC between quadrants in the different subgroups were solely due to a differently severe, but evenly distributed RNFLT loss or if a different spatial distribution of loss exists in specific quadrants (Fig. 2).

The comparison between healthy controls and the mixed MS group, including both NON and ON eyes, did not show significant quadrant differences (repeated measurement ANOVA corrected for age, *p* = 0.195) (Fig. 2A, center). When MS/NON and MS/ON eyes were analyzed separately (Fig. 2B), quadrant differences in NON eyes remained insignificant (*p* = 0.347) whereas ON eyes showed significant differences (*p* < 0.001) in comparison to healthy control eyes. The direct comparison between NON eyes and ON eyes,

**Table 3**

RNFLT (in  $\mu\text{m}$ ) in MS patients' eyes with (ON) or without history of optic neuritis (NON). For each group the mean RNFLT with standard deviation (SD), 95% confidence intervals (CI), *p* values from GEE and the Mean Change to Controls (MCC) and Relative Change to Controls (RCC) are given. *P* values in bold indicate significant differences in mean RNFLT thickness between healthy controls and the respective groups.

	HC		MS NON eyes			<i>p</i>	MCC	RCC	MS ON eyes			<i>p</i>	MCC	RCC
	Mean	SD	Mean	SD	CI				Mean	SD	CI			
Average	105.2	9.4	97.0	13.1	–10.8/–5.5	<b>&lt;0.0001</b>	–8.2	–7.8%	86.2	16.2	–22.3/–14.0	<b>&lt;0.0001</b>	–19.0	–18.1%
Superior quadrant	128.0	14.1	117.9	17.7	–13.8/–6.6	<b>&lt;0.0001</b>	–10.1	–7.9%	108.8	22.7	–24.4/–12.9	<b>&lt;0.0001</b>	–19.2	–15.0%
Temporal quadrant	75.6	14.1	67.7	16.1	–11.1/–4.4	<b>&lt;0.0001</b>	–7.9	–10.4%	55.5	16.4	–23.6/–14.4	<b>&lt;0.0001</b>	–20.0	–26.5%
Inferior quadrant	130.7	16.0	123.4	19.6	–11.1/–3.0	<b>0.0007</b>	–7.3	–5.6%	107.6	23.4	–28.2/–15.6	<b>&lt;0.0001</b>	–23.0	–17.6%
Nasal quadrant	84.7	16.8	77.3	16.0	–10.8/–3.8	<b>&lt;0.0001</b>	–7.5	–8.8%	70.9	17.1	–18.0/–8.5	<b>&lt;0.0001</b>	–13.8	–16.3%



**Fig. 1.** (A) Average RNFLT and RNFLT in the four quadrants (superior (S), temporal (T), inferior (I) and nasal (N)) in  $\mu\text{m}$  in MS and GA patients' eyes and healthy control eyes. Error bars indicate standard deviation. (B) Average RNFLT and RNFLT in the four quadrants (superior (S), temporal (T), inferior (I) and nasal (N)) in  $\mu\text{m}$  in MS eyes with and without optic neuritis compared to healthy control eyes. Error bars indicate standard deviation. For A and B asterisks indicate significance level: \*\*\* for  $p < 0.001$ , \*\* for  $p < 0.01$ , - for  $p > 0.05$  (not significant).

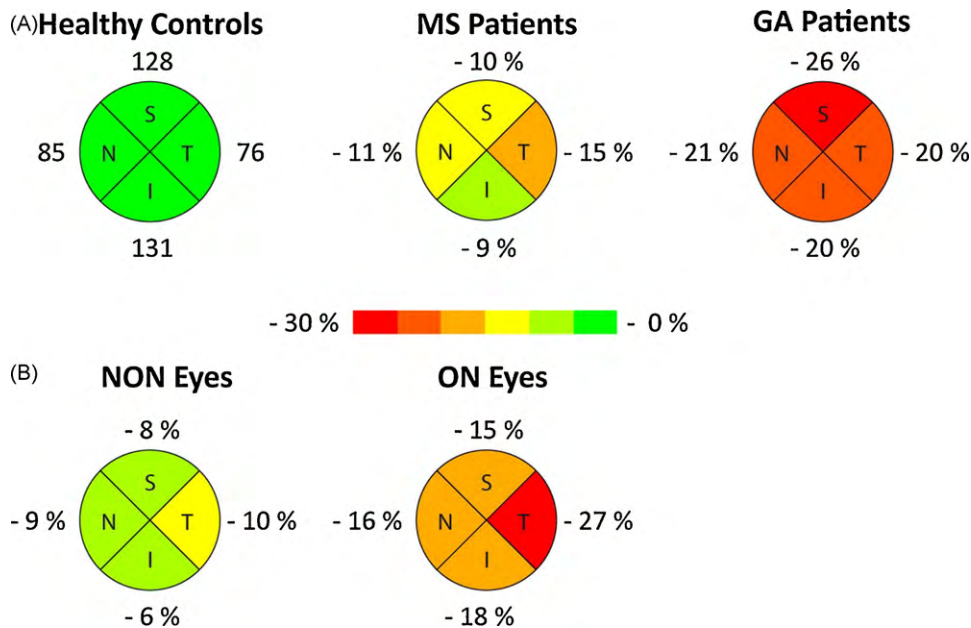
also showed a significant difference in quadrant RNFLT ( $p = 0.004$ ). In multiple comparison and Bonferroni–Holm corrected paired  $t$ -tests between each quadrant in the ON eyes group, the temporal quadrant reached a significant difference on the 0.01 level with the remaining three quadrants (S:  $p < 0.0001$ , I:  $p < 0.0001$ ; N:  $p = 0.0006$ ). In NON eyes, only the direct comparison of the infe-

rior quadrant with the temporal quadrant reached significance on the 0.001 level after Bonferroni–Holm correction (T:  $p = 0.0008$ , N:  $p = 0.0067$ ; S:  $p = 0.0279$ ).

When GA eyes were compared with healthy controls (Fig. 2A right), there was a significant difference in quadrant RNFLT ( $p = 0.006$ ), but in paired  $t$ -tests between each quadrant of GA the preponderance of the superior quadrant was statistically not significant after Bonferroni–Holm correction (I:  $p = 0.0183$ , T:  $p = 0.0212$ , N:  $p = 0.0437$ ). The comparison of quadrant differences between GA and MS eyes came short in reaching significance ( $p = 0.053$ ).

**4. Discussion**

This large comparative cross-sectional study is – to the best of our knowledge – the first to investigate RNFLT by OCT in both MS and GA patients in comparison to healthy controls in the same experimental setting which allowed us to directly compare RNFLT thinning in both conditions. By this approach, we were able to investigate whether RNFLT loss in patient subgroups followed a specific spatial distribution over the four retinal quadrants. Here, we could show that despite a comparable extent of RNFLT thinning between MS and GA eyes after correction for differences in age and gender, the RCC in MS eyes was highest in the temporal quadrant, whereas in GA eyes a not significant trend of greatest RCC compared to controls became evident in the superior quadrant. This is in line with previous OCT studies and the clinical impression that the glaucomatous optic nerve damage commences in the superotemporal or inferotemporal area [5]. The comparison of quadrant differences between GA and MS eyes came short in reaching significance ( $p = 0.053$ ). Thus, in this study OCT did not adequately discriminate between MS and GA. However, an important methodological drawback of our study is the relatively small sample size in the GA group compared to the MS group (39 versus 262 eyes) which may have precluded the detection of significant disease-related pattern differences after correcting for age. Based on these results, a study with an adequate sample size also of GA patients matched for both age and gender is underway in order to address this issue. When comparing MS/NON to MS/ON eyes,



**Fig. 2.** (A) Relative Change to Controls (RCC in %) of GA and MS patients' eyes. For control eyes, the mean RNFLT in  $\mu\text{m}$  is displayed, for MS and GA eyes the RCC in % is given. The extent of RCC is additionally coded with colors in more red meaning more pronounced RNFLT loss. Color coding was done between 0% and 30% loss with color changes every 5% steps and rounded RCC values. (B) Relative Change to Controls (RCC in %) in MS patients' eyes with (ON) and without optic neuritis (NON). The color coding is identical to A.

we found significantly lower values not only in the average RNFLT, but also in the RNFLT in all four quadrants in the latter group. This is in line with a previous report by Costello et al. [15] in a much smaller sample size than ours, but in contrast to another study which did not detect differences in RNFLT measurements between MS eyes with and without optic neuritis [12]. The RCC calculations showed that the greatest degree of RNFLT loss occurs in the temporal quadrant in both MS/NON and MS/ON eyes and that this temporal preponderance of RNFL thinning is substantially more pronounced in MS/ON eyes as compared to MS/NON eyes (RCC -27% versus -10%). These findings are comparable to those recently reported by Nemani et al. who also found a 26% temporal reduction in RNFLT versus 15–18% for the other three quadrants in MS/ON eyes [23]. It is a long-standing clinical experience of ophthalmologists and neurologists that optic disc pallor and optic nerve head atrophy are typical fundoscopic hallmarks in MS and ON eyes [25,26,24] and that these may exhibit a temporal preponderance [27,28]. Although our data on the temporal preponderance of RNFL thinning in MS/ON eyes have to be interpreted with caution owing to the relatively wide confidence intervals and thus require further investigation, our observations are supported by several clinical and histological works on MS which show a damage predominantly to temporal axons [24,26,29,30] comprising the maculopapillary bundle [31]. This could be an explanation for the predictive value of RNFLT reduction for visual acuity following optic neuritis [14,32]. The relatively homogenous RNFLT reduction across all four quadrants in MS patients as a whole as well as in MS/NON eyes may argue for a diffuse neurodegenerative process which affects the entire retinal ganglion cell layer and its axons. In an earlier study, the authors concluded that optic nerve dysfunction “is due to a more diffuse or widespread process than can be attributed to conventional “plaque” pathology” [26]. Accordingly, in another clinicopathologic study, the reduction of visual acuity correlated with the extent of axonal damage in the optic nerves but not with the amount of demyelination [29]. Inflammatory attacks to the optic nerve which are superimposed on this diffuse neurodegenerative process may cause additional axonal damage and may lead to additional RNFL thinning. The reason for the seemingly predominant affection of the temporal quadrant in MS/ON eyes which may indicate a selective vulnerability of the papillomacular bundle remains to be elucidated.

In sum, our study shows that RNFLT loss is detectable by OCT in MS and GA patients compared to healthy controls, that RNFL thinning is significantly more severe in MS/ON versus MS/NON eyes, and that the extent of RNFL thinning varies across quadrants in MS/ON eyes with the highest degree of RNFLT loss in the temporal quadrant. Ongoing studies are further evaluating the validity and reproducibility of OCT for longitudinal depiction of neurodegeneration and regeneration during the course of MS and under neuroprotective therapies.

Further research in the field should also focus on the adequacy of OCT to better discriminate between MS neurodegeneration related or unrelated to ON by making use of the distinct RNFLT patterns.

## Contributors

None of the authors has anything to disclose. Conception and Design of the study (MB, AUB, JK, FP); Analysis and interpretation (MB, AUB, JD, HK, NWE, CP, KH, HR, JBS, JK, FZ, FP); Writing the manuscript (MB, AUB, JD, FP); Critical revision of the article (MB, AUB, JD, HK, NWE, CP, KH, HR, SO, JBS, JK, FZ, FP); Data collection (MB, HK, NWE, CP, KH, HR, GG, JBS, JK, FP); Provision of materials, patients or resources (HK, CP, JK, FZ, FP); Statistical expertise (AUB, SO, JK, FP); Literature search (MB, AUB, JD, FP); Administrative, technical, or logistic support (SO, JK, GG, FZ, FP).

## Acknowledgments

This work was supported by the Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG Exc 257). We thank our study nurses Cordula Rudolph, Franziska Lipske and Antje Els for excellent technical support. We are indebted to Lena Mann for carefully revising the manuscript as a native English speaker.

## References

- [1] Compston A, Coles A. Multiple sclerosis. *Lancet* 2008;372(October (9648)):1502–17.
- [2] Ko TH, Fujimoto JG, Schuman JS, Paunescu LA, Kowalevicz AM, Hartl I, et al. Comparison of ultrahigh- and standard-resolution optical coherence tomography for imaging macular pathology. *Ophthalmology* 2005;112(November (11)). pp. 1922.e1–15.
- [3] Beltagi TAE, Bowd C, Boden C, Amini P, Sample PA, Zangwill LM, et al. Retinal nerve fiber layer thickness measured with optical coherence tomography is related to visual function in glaucomatous eyes. *Ophthalmology* 2003;110(November (11)):2185–91.
- [4] Schuman JS, Hee MR, Puliafito CA, Wong C, Pedut-Kloizman T, Lin CP, et al. Quantification of nerve fiber layer thickness in normal and glaucomatous eyes using optical coherence tomography. *Arch Ophthalmol* 1995;113(May (5)):586–96.
- [5] Lu AT, Wang M, Varma R, Schuman JS, Greenfield DS, Smith SD, et al. Combining nerve fiber layer parameters to optimize glaucoma diagnosis with optical coherence tomography. *Ophthalmology* 2008;115(August (8)). pp. 1352–7–1357.e1–2.
- [6] Barkhof F, Calabresi PA, Miller DH, Reingold SC. Imaging outcomes for neuroprotection and repair in multiple sclerosis trials. *Nat Rev Neurol* 2009;5(May (5)):256–66.
- [7] Frohman EM, Fujimoto JG, Frohman TC, Calabresi PA, Cutter G, Balcer LJ. Optical coherence tomography: a window into the mechanisms of multiple sclerosis. *Nat Clin Pract Neurol* 2008;4(December (12)):664–75.
- [8] Parisi V, Manni G, Spadaro M, Colacino G, Restuccia R, Marchi S, et al. Correlation between morphological and functional retinal impairment in multiple sclerosis patients. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999;40(October (11)):2520–7.
- [9] Fisher JB, Jacobs DA, Markowitz CE, Galetta SL, Volpe NJ, Nano-Schiavi ML, et al. Relation of visual function to retinal nerve fiber layer thickness in multiple sclerosis. *Ophthalmology* 2006;113(February (2)):324–32.
- [10] Henderson APD, Trip SA, Schlottmann PG, Altmann DR, Garway-Heath DF, Plant GT, et al. An investigation of the retinal nerve fibre layer in progressive multiple sclerosis using optical coherence tomography. *Brain* 2008;131(January (Pt. 1)):277–87.
- [11] Pueyo V, Martin J, Fernandez J, Almarcegui C, Ara J, Egea C, et al. Axonal loss in the retinal nerve fiber layer in patients with multiple sclerosis. *Mult Scler* 2008;14(June (5)):609–14.
- [12] Sepulcre J, Murie-Fernandez M, Salinas-Alaman A, García-Layana A, Bejarano B, Villoslada P. Diagnostic accuracy of retinal abnormalities in predicting disease activity in MS. *Neurology* 2007;68(May (18)):1488–94.
- [13] Toledo J, Sepulcre J, Salinas-Alaman A, García-Layana A, Murie-Fernandez M, Bejarano B, et al. Retinal nerve fiber layer atrophy is associated with physical and cognitive disability in multiple sclerosis. *Mult Scler* 2008;14(August (7)):906–12.
- [14] Trip SA, Schlottmann PG, Jones SJ, Altmann DR, Garway-Heath DF, Thompson AJ, et al. Retinal nerve fiber layer axonal loss and visual dysfunction in optic neuritis. *Ann Neurol* 2005;58(September (3)):383–91.
- [15] Costello F, Hodge W, Pan Yi, Freedman M, DeMeulemeester C. Differences in retinal nerve fiber layer atrophy between multiple sclerosis subtypes. *J Neuro Sci* 2009;281(June (1–2)):74–9.
- [16] Burkholder BM, Osborne B, Loguidice MJ, Bisker E, Frohman TC, Conger A, et al. Macular volume determined by optical coherence tomography as a measure of neuronal loss in multiple sclerosis. *Arch Neurol* 2009;66(November (11)):1366–72.
- [17] Pueyo V, Martin J, Fernandez J, Almarcegui C, Ara J, Egea C, et al. Axonal loss in the retinal nerve fiber layer in patients with multiple sclerosis. *Mult Scler* 2008;14(June (5)):609–14.
- [18] Fisher JB, Jacobs DA, Markowitz CE, Galetta SL, Volpe NJ, Nano-Schiavi ML, et al. Relation of visual function to retinal nerve fiber layer thickness in multiple sclerosis. *Ophthalmology* 2006;113(February (2)):324–32.
- [19] Henderson APD, Trip SA, Schlottmann PG, Altmann DR, Garway-Heath DF, Plant GT, et al. An investigation of the retinal nerve fibre layer in progressive multiple sclerosis using optical coherence tomography. *Brain* 2008;131(January (Pt. 1)):277–87.
- [20] Polman CH, Reingold SC, Edan G, Filippi M, Hartung H, Kappos L, et al. Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2005 revisions to the “McDonald Criteria”. *Ann Neurol* 2005;58(December (6)):840–6.
- [21] Kurtzke JF. Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: an expanded disability status scale (EDSS). *Neurology* 1983;33(November (11)):1444–52.
- [22] Cheung CYL, Leung CKS, Lin D, Pang C, Lam DSC. Relationship between retinal nerve fiber layer measurement and signal strength in optical coherence tomography. *Ophthalmology* 2008;115(August (8)), 1347–51, 1351e1–2.

- [23] Nemani D, Zaveri MS, Conger A, Salter A, Frohman T, Galetta SL, et al. Quadrant-Specific Retinal Nerve Fiber Layer Thinning by Optical Coherence Tomography (OCT) in MS. *Neurology* 2008. p. A264.
- [24] Frisén L, Hoyt WF. Insidious atrophy of retinal nerve fibers in multiple sclerosis. Funduscopic identification in patients with and without visual complaints. *Arch Ophthalmol* 1974;92(August (2)):91–7.
- [25] Trobe JD, Glaser JS, Cassady J, Herschler J, Anderson DR. Nonglaucomatous excavation of the optic disc. *Arch Ophthalmol* 1980;98(June (6)):1046–50.
- [26] MacFadyen DJ, Drance SM, Douglas GR, Airaksinen PJ, Mawson DK, Paty DW. The retinal nerve fiber layer, neuroretinal rim area, and visual evoked potentials in MS. *Neurology* 1988;38(September (9)):1353–8.
- [27] Frisén L, Quigley HA. Visual acuity in optic atrophy: a quantitative clinicopathological analysis. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1984;222(2):71–4.
- [28] Rath EZ, Rehany U, Linn S, Rumelt S. Correlation between optic disc atrophy and aetiology: anterior ischaemic optic neuropathy vs optic neuritis. *Eye* 2003;17(November (9)):1019–24.
- [29] Toussaint D, Périer O, Verstappen A, Bervoets S. Clinicopathological study of the visual pathways, eyes, and cerebral hemispheres in 32 cases of disseminated sclerosis. *J Clin Neuroophthalmol* 1983 Sep;3(3):211–20.
- [30] Kerrison JB, Flynn T, Green WR. Retinal pathologic changes in multiple sclerosis. *Retina* 1994;14(5):445–51.
- [31] Hood DC, Kardon RH. A framework for comparing structural and functional measures of glaucomatous damage. *Prog Retin Eye Res* 2007 Nov;26(6):688–710.
- [32] Costello F, Coupland S, Hodge W, Lorello GR, Koroluk J, Pan YI, et al. Quantifying axonal loss after optic neuritis with optical coherence tomography. *Ann Neurol* 2006;59(June (6)):963–9.



Bock M, Brandt AU, Kuchenbecker J, Dörr J, Pfueller CF, Weinges-Evers Na. Impairment of contrast visual acuity as a functional correlate of retinal nerve fibre layer thinning and total macular volume reduction in multiple sclerosis. *Br J Ophthalmol* 2012;96:62-67  
*doi:10.1136/bjo.2010.193581*

Direct link: <http://bjo.bmj.com/content/96/1/62.short>

Bock M, Brandt AU, Kuchenbecker J, Dörr J, Pfueller CF, Weinges-Evers Na. Impairment of contrast visual acuity as a functional correlate of retinal nerve fibre layer thinning and total macular volume reduction in multiple sclerosis. *Br J Ophthalmol* 2012;96:62-67  
*doi:10.1136/bjo.2010.193581*

Direct link: <http://bjo.bmj.com/content/96/1/62.short>

Bock M, Brandt AU, Kuchenbecker J, Dörr J, Pfueller CF, Weinges-Evers Na. Impairment of contrast visual acuity as a functional correlate of retinal nerve fibre layer thinning and total macular volume reduction in multiple sclerosis. *Br J Ophthalmol* 2012;96:62-67  
*doi:10.1136/bjo.2010.193581*

Direct link: <http://bjo.bmj.com/content/96/1/62.short>

Bock M, Brandt AU, Kuchenbecker J, Dörr J, Pfueller CF, Weinges-Evers Na. Impairment of contrast visual acuity as a functional correlate of retinal nerve fibre layer thinning and total macular volume reduction in multiple sclerosis. *Br J Ophthalmol* 2012;96:62-67  
*doi:10.1136/bjo.2010.193581*

Direct link: <http://bjo.bmj.com/content/96/1/62.short>

Bock M, Brandt AU, Kuchenbecker J, Dörr J, Pfueller CF, Weinges-Evers Na. Impairment of contrast visual acuity as a functional correlate of retinal nerve fibre layer thinning and total macular volume reduction in multiple sclerosis. *Br J Ophthalmol* 2012;96:62-67  
*doi:10.1136/bjo.2010.193581*

Direct link: <http://bjo.bmj.com/content/96/1/62.short>

Bock M, Brandt AU, Kuchenbecker J, Dörr J, Pfueller CF, Weinges-Evers Na. Impairment of contrast visual acuity as a functional correlate of retinal nerve fibre layer thinning and total macular volume reduction in multiple sclerosis. *Br J Ophthalmol* 2012;96:62-67  
*doi:10.1136/bjo.2010.193581*

Direct link: <http://bjo.bmj.com/content/96/1/62.short>

# Time domain and spectral domain optical coherence tomography in multiple sclerosis: a comparative cross-sectional study

Markus Bock<sup>1,2,\*</sup>, Alexander Ulrich Brandt<sup>3,\*</sup>, Jan Dörr<sup>1</sup>, Caspar F Pfueller<sup>1</sup>, Stephanie Ohlraun<sup>1</sup>, Frauke Zipp<sup>4</sup> and Friedemann Paul<sup>1</sup>

Multiple Sclerosis  
16(7) 893–896  
© The Author(s) 2010  
Reprints and permissions:  
sagepub.co.uk/journalsPermissions.nav  
DOI: 10.1177/1352458510365156  
msj.sagepub.com



## Abstract

Conventional time domain optical coherence tomography has been established for the in vivo assessment of retinal axonal loss in multiple sclerosis. The innovative spectral domain imaging is superior to the conventional technique with respect to data acquisition speed, resolution and reproducibility. However, until now comparability of the two techniques has not been investigated in multiple sclerosis. In this study involving 55 multiple sclerosis patients, data obtained using both techniques (Stratus time domain optical coherence tomography and Cirrus spectral domain optical coherence tomography, Carl Zeiss Meditec) showed an excellent correlation (Pearson's  $r = 0.926$ ,  $p < 0.001$ ). However, owing to considerable differences in absolute retinal nerve fibre layer measurements (mean  $\pm$  standard deviation  $8.1 \mu\text{m} \pm 6.2$ , range  $-12$  to  $23 \mu\text{m}$ ), results from the two devices are not interchangeable.

## Keywords

axonal loss, multiple sclerosis

Date received: 21st September 2009; accepted: 6th February 2010

## Introduction

Measurement of retinal nerve fibre layer thickness (RNFLT) via time domain optical coherence tomography (TD-OCT, e.g. Stratus, Zeiss Meditec) has become a valuable and cost-effective tool for assessing in vivo retinal axonal loss in multiple sclerosis (MS).<sup>1–7</sup> Next-generation OCT uses spectral domain (SD-OCT, e.g. Cirrus, Zeiss Meditec; Spectralis, Heidelberg Engineering) instead of time domain imaging, thereby increasing data acquisition speed by up to 60 times and improving reproducibility.<sup>8,9</sup> Several groups recently showed that RNFLT measurements using SD-OCT correlate well with TD-OCT in healthy controls and glaucoma patients; these studies, however, also revealed systematic differences between the two devices which limit comparability.<sup>10–12</sup> Compared with Stratus TD-OCT, Cirrus SD-OCT measures thinner RNFLT as thicker and thicker RNFLT as thinner.<sup>12</sup> A direct comparison of results from the two devices is thus dependent on the severity of RNFLT loss.<sup>12</sup> Furthermore, segmentation algorithms for detecting RNFLT differ in the two OCT generations; while

SD-OCT aims to detect the top of the ganglion cell layer, TD-OCT tries to identify the bottom of the nerve cell layer.<sup>13–15</sup> As a comparison of MS patients' eyes assessed by both TD-OCT and SD-OCT has not been performed to date, we were interested as to whether measurement differences between an SD-OCT (Cirrus, Zeiss Meditec) and a TD-OCT (Stratus, Zeiss Meditec) device in MS are comparable to those reported previously for normal and glaucomatous eyes<sup>12</sup> and comparable to those from a healthy control group investigated at our own institution.

<sup>1</sup>NeuroCure Clinical Research Center, Charité–Universitätsmedizin Berlin, Berlin, Germany.

<sup>2</sup>Cecilie Vogt Clinic, Charité–Universitätsmedizin Berlin, Berlin, Germany.

<sup>3</sup>Mediber GmbH, Berlin, Germany.

<sup>4</sup>Department of Neurology, University Medicine Mainz, Mainz, Germany.

\*Equally contributing first authors.

### Corresponding author:

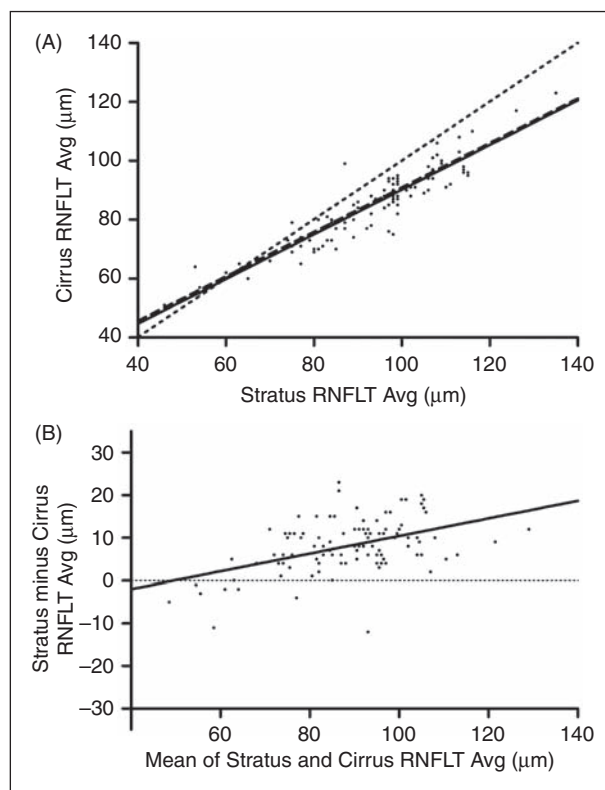
Dr Friedemann Paul, NeuroCure Clinical Research Center, Charité – Universitätsmedizin Berlin, Charitéplatz 1, 10117 Berlin, Germany  
Email: friedemann.paul@charite.de

## Material and methods

The study was approved by the local ethics committee, and all participants gave informed written consent. Fifty-five consecutive relapsing–remitting MS (RRMS) patients fulfilling the current panel criteria<sup>16</sup> were recruited from October 2008 to December 2009. Sixty-two healthy controls were additionally included in this study. All measurements were performed using an SD-OCT (Cirrus HD-OCT, Zeiss Meditec, Software version 3.0.0.64, Dublin, CA, USA) Optic Disc Cube 200\_200 protocol and a TD-OCT (Stratus OCT Model 3000, Zeiss Meditec, Software Version 4.0, Dublin, CA, USA) fast RNFL 3.4 protocol. All scans from MS patients and healthy controls were carried out by the same two skilled operators on the same day. Average RNFLT and RNFLT measurements of four quadrants were compared using paired *t*-tests. Correlation between measurements from the two devices was assessed using Pearson's correlation analysis (SPSS 16; SPSS Inc., Chicago, IL, USA). To account for inter-eye effects, all results from patients were additionally checked by testing a randomly selected single eye from each patient. A Bonferroni–Holm correction was used to adjust significance levels for multiple comparisons. Group differences between healthy controls and MS patients regarding age were analysed with a *t*-test, gender differences with a chi-square test. Differences in RNFLT between eyes from healthy controls and MS patients were assessed using Generalized Estimating Equations (GEE) accounting for inter-eye effects. Statistical significance was established at  $p < 0.05$ . A scatterplot of average RNFLT measured with Stratus vs. Cirrus and a Bland–Altman plot of agreement including linear regression analysis was made using Graphpad Prism (Graphpad Software Inc., La Jolla, CA, USA).

## Results

We measured 110 eyes from 55 RRMS patients (40 female, 15 male; mean age 42 years (range 23–61); median visual acuity as measured by Snellen charts 1.0 (range 0.6–1.6); median EDSS 2.0 (range 0.0–6.0); mean disease duration 101 months (range 13–98) with both Stratus and Cirrus devices. In two MS patients, the left eyes were excluded due to papillary drusen and myopic conus. All other measurements were analysable with a signal strength  $\geq 7$ , and no errors in layer segmentation were observed. The difference in average RNFLT measured with Cirrus as compared with Stratus ranged from  $-12$  to  $+23 \mu\text{m}$  (Stratus minus Cirrus, mean  $\pm$  standard deviation (SD)  $8.1 \mu\text{m} \pm 6.2$ ). Values from both devices correlated strongly with a Pearson coefficient for average RNFLT of 0.926



**Figure 1.** Comparison of Stratus and Cirrus average RNFLT measurements: (A) Scatterplot of average RNFLT thickness measured with Stratus OCT vs. RNFLT thickness measured with Cirrus OCT in 108 eyes of 55 multiple sclerosis patients. The linear regression line (solid) of the data corresponds closely to the one reported by Knight et al.<sup>12</sup> of  $y = 0.755x + 15.405$  (dashed). The dotted line shows a theoretical  $y = x$ . (B) Bland–Altman plot of agreement in MS patients. Cirrus measures RNFLT thinner than Stratus OCT. This effect, however, is weaker in thin RNFLT and stronger in thick RNFLT. Solid line: line of equality.

( $p < 0.001$ , Figure 1A). However, Cirrus measurements showed significantly lower average RNFLT values ( $p < 0.001$ ) in a paired *t*-test. Detailed data for average RNFLT and the four quadrants are given in Table 1. Remarkably, differences between the two devices, the correlation coefficient between the two measurements and the linear regression equation (see Figure 1A) observed in our MS patients were almost identical to those recently reported in healthy subjects and glaucoma patients.<sup>12</sup> After Bonferroni–Holm correction, all correlations and differences remained significant on the 0.001 level (not shown). In addition when randomly selecting one eye of each patient for further statistical analysis, we found a similarly high correlation between Stratus and Cirrus measurements (average RNFLT: Pearson = 0.947,  $p < 0.001$ ; inferior quadrant: Pearson = 0.923,  $p < 0.001$ ; superior quadrant: Pearson = 0.844,  $p < 0.001$ ; nasal quadrant: Pearson = 0.784,  $p < 0.001$ ; temporal quadrant:



**Table 1.** RNFLT measurement differences between time domain (TD, Stratus) and spectrum domain (SD, Cirrus) OCT in multiple sclerosis patients and healthy controls

	TD-OCT				SD-OCT				Pearson		Paired <i>t</i> <i>p</i>
	Mean	SD	Min	Max	Mean	SD	Min	Max	Corr.	<i>p</i>	
<i>Multiple sclerosis</i>											
<b>RNFLT average (μm)</b>	<b>92.9</b>	<b>15.8</b>	<b>46</b>	<b>135</b>	<b>84.8</b>	<b>12.9</b>	<b>51</b>	<b>123</b>	<b>0.926</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>&lt;0.001</b>
Inferior quadrant (μm)	117.5	21.7	63	164	109.3	21.2	57	171	0.914	<0.001	<0.001
Superior quadrant (μm)	114.2	19.2	50	162	107.8	16.7	62	149	0.829	<0.001	<0.001
Nasal quadrant (μm)	77.5	17.9	31	121	67.9	10.7	44	98	0.714	<0.001	<0.001
Temporal quadrant (μm)	60.8	17.1	27	111	54.1	13.4	30	92	0.864	<0.001	<0.001
<i>Healthy controls</i>											
<b>RNFLT average (μm)</b>	<b>102.6</b>	<b>9.2</b>	<b>70</b>	<b>125</b>	<b>94.8</b>	<b>9.1</b>	<b>69</b>	<b>115</b>	<b>0.806</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>&lt;0.001</b>
Inferior quadrant (μm)	127.4	15.2	93	166	121.6	16.8	64	173	0.741	<0.001	<0.001
Superior quadrant (μm)	125.5	14.9	73	160	120.1	16.1	73	162	0.690	<0.001	<0.001
Nasal quadrant (μm)	84.7	18.0	43	132	73.4	12.2	52	107	0.758	<0.001	<0.001
Temporal quadrant (μm)	70.9	11.3	43	106	63.8	8.7	43	98	0.636	<0.001	<0.001

Pearson = 0.874,  $p < 0.001$ ). Mean average RNFLT and RNFLT in the four quadrants differed significantly between both devices in these randomly selected eyes (data not shown). A Bland–Altman plot of agreement (Figure 1B) showed that the differences between Cirrus and Stratus measurements tend to be more pronounced in areas with thicker average RNFL.

Of the 110 eyes of MS patients measured, 37 (33.6%) had a history of optic neuritis (ON). In an assessment of device differences in eyes with and without a history of ON, the correlation between Stratus and Cirrus measurements of average RNFLT was similar to those of the whole group, and mean average RNFLT measurements differed significantly between devices in both subgroups (ON eyes: Stratus average RNFLT mean  $\pm$  SD 86.2  $\pm$  16.3  $\mu$ m, Cirrus average RNFLT mean  $\pm$  SD 78.6  $\pm$  11.6  $\mu$ m, Pearson = 0.947,  $p < 0.001$ , paired *t*-test  $p < 0.001$ ; non-ON eyes: Stratus average RNFLT mean  $\pm$  SD 96.4  $\pm$  14.4  $\mu$ m, Cirrus average RNFLT mean  $\pm$  SD 88.0  $\pm$  12.5  $\mu$ m, Pearson = 0.909,  $p < 0.001$ , paired *t*-test  $p < 0.001$ ). This remained true for RNFLT in all quadrants (data not shown) except for the temporal quadrant. Here, Stratus measured an average RNFLT of mean  $\pm$  SD 65.1  $\pm$  15.1  $\mu$ m and Cirrus an average RNFLT of mean  $\pm$  SD 56.1  $\pm$  13.0  $\mu$ m (Pearson = 0.847,  $p < 0.001$ , paired *t*-test  $p < 0.001$ ) in eyes without a history of ON. In contrast, in the temporal quadrant of eyes with a history of ON, Stratus (RNFLT mean  $\pm$  SD 52.5  $\pm$  17.7  $\mu$ m) correlated with Cirrus (RNFLT mean  $\pm$  SD 50.1  $\pm$  13.4  $\mu$ m) (Pearson = 0.892,  $p < 0.001$ ), although the mean RNFLT in this quadrant did not differ significantly between the two devices (paired *t*-test  $p = 0.085$ ).

We also measured 124 eyes from 62 healthy controls (38 female, 24 male; mean age 40 years, range 27–61) who did not differ from MS patients with regard to age and gender. The results from Cirrus and Stratus OCT are given in Table 1. In comparison with control individuals, MS patients showed a highly significant reduction of average RNFLT in both devices (GEE, both  $p < 0.001$ ). Also in the four quadrants, RNFLT was significantly lower in patients as compared with controls ( $p < 0.05$ , GEE). Similarly to MS patients, Cirrus measured significantly thinner than Stratus but measurements correlated strongly in average RNFLT and all four quadrants (Table 1). As in MS patients, a Bland–Altman plot of agreement showed that in our control group differences between the two devices tend to be more pronounced in areas with thicker average RNFL (not shown).

## Discussion

Our study shows that RNFLT measurements between TD-OCT and SD-OCT devices differ considerably in MS patients, with an excellent correlation between values obtained from both devices. Moreover, the magnitude of measurement differences between Stratus and Cirrus in diseased MS eyes is similar to those in our non-diseased healthy control eyes. These results are comparable to those recently reported for healthy subjects and glaucoma patients.<sup>10–12</sup> A Bland–Altman plot of agreement on our data showed that in thicker average RNFLT, Cirrus measures more thinly than Stratus, and in thinner average RNFLT Cirrus measures more thickly than Stratus. These thickness dependent inter-device measurement differences explain the lack

of a significant difference in RNFLT, as measured by the two devices, in the temporal quadrant in MS eyes with a history of ON: here, RNFLT values were in the range of highest agreement between the two devices.

Our data on MS and healthy control eyes are in line with Knight et al. who compared RNFLT using Stratus and Cirrus in healthy and glaucomatous eyes, and who found similar systematic differences between both devices.<sup>12</sup> The fact that such differences have now been reported by independent groups and in various conditions (healthy, glaucoma, MS) in a very similar way argues in favour of technical reasons (hardware or software of the devices) rather than for condition-related factors. For both clinical application and research purposes it is important to take these differences into account, which means that the measurement results between the two devices are not interchangeable. OCT is increasingly proposed as an endpoint in clinical trials on neuroprotective therapies in MS.<sup>17</sup> Our data suggest that longitudinal follow-up measurements in a given patient cohort in such trials should be performed on the same OCT device. As a result of its technical advances and the improved reproducibility of measurements, it is likely that Cirrus will replace Stratus in longitudinal follow-up studies.<sup>9</sup> On the other hand, Cirrus is not the only SD-OCT device available. Several other manufacturers have released devices, some of which may even be superior to Cirrus, e.g. with respect to intersession repeatability.<sup>8</sup> As the results from our study are not generalizable to other devices used to investigate MS patients, further comparative and longitudinal studies are required with other SD-OCT devices in order to investigate the optimal and most accurate OCT tool for neuroprotective clinical trials.

### Acknowledgements

This work was supported by the German Research Foundation (DFG) (Exc 257). We are indebted to Alistair Noon for his support as a native English speaker.

Mediber GmbH are not linked to any manufacturers of OCT and did not play a role in the design of the study.

### References

1. Frohman E, Costello F, Zivadinov R, et al. Optical coherence tomography in multiple sclerosis. *Lancet Neurol* 2006; 5: 853–863.
2. Fisher JB, Jacobs DA, Markowitz CE, et al. Relation of visual function to retinal nerve fiber layer thickness in multiple sclerosis. *Ophthalmology* 2006; 113: 324–332.
3. Sepulcre J, Murie-Fernandez M, Salinas-Alaman A, et al. Diagnostic accuracy of retinal abnormalities in predicting disease activity in MS. *Neurology* 2007; 68: 1488–1494.
4. Henderson APD, Trip SA, Schlottmann PG, et al. An investigation of the retinal nerve fibre layer in progressive multiple sclerosis using optical coherence tomography. *Brain* 2008; 131: 277–287.
5. Pulicken M, Gordon-Lipkin E, Balcer LJ, et al. Optical coherence tomography and disease subtype in multiple sclerosis. *Neurology* 2007; 69: 2085–2092.
6. Pueyo V, Martin J, Fernandez J, et al. Axonal loss in the retinal nerve fiber layer in patients with multiple sclerosis. *Mult Scler* 2008; 14: 609–614.
7. Toledo J, Sepulcre J, Salinas-Alaman A, et al. Retinal nerve fiber layer atrophy is associated with physical and cognitive disability in multiple sclerosis. *Mult Scler* 2008; 14: 906–912.
8. Wolf-Schnurrbusch UEK, Ceklic L, Brinkmann CK, et al. Macular thickness measurements in healthy eyes using six different optical coherence tomography instruments. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2009; 50: 3432–3437.
9. Wojtkowski M, Leitgeb R, Kowalczyk A, Bajraszewski T, Fercher AF. In vivo human retinal imaging by Fourier domain optical coherence tomography. *J Biomed Opt* 2002; 7: 457–463.
10. Vizzeri G, Weinreb RN, Gonzalez-Garcia AO, et al. Agreement between spectral-domain and time-domain OCT for measuring RNFL thickness. *Br J Ophthalmol* 2009; 93: 775–781.
11. Sung KR, Kim DY, Park SB, Kook MS. Comparison of retinal nerve fiber layer thickness measured by Cirrus HD and Stratus optical coherence tomography. *Ophthalmology* 2009; 116: 1264–1270.e1.
12. Knight OJ, Chang RT, Feuer WJ, Budenz DL. Comparison of retinal nerve fiber layer measurements using time domain and spectral domain optical coherent tomography. *Ophthalmology* 2009; 116: 1271–1277.
13. Carl Zeiss Meditec. Stratus OCT user manual. Carl Zeiss Meditec, 2002. 5160 Hacienda Drive, Dublin, California (CA), 94568, USA).
14. Carl Zeiss Meditec. *Cirrus HD-OCT user manual*. Dublin, CA, USA: Carl Zeiss Meditec, 2007.
15. Ishikawa H, Piette S, Liebmann JM, Ritch R. Detecting the inner and outer borders of the retinal nerve fiber layer using optical coherence tomography. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2002; 240: 362–371.
16. Polman CH, Reingold SC, Edan G, et al. Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2005 revisions to the ‘McDonald Criteria’. *Ann Neurol* 2005; 58: 840–846.
17. Barkhof F, Calabresi PA, Miller DH, Reingold SC. Imaging outcomes for neuroprotection and repair in multiple sclerosis trials. *Nat Rev Neurol* 2009; 5: 256–266.

## **Curriculum vitae**

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

## Publikationsliste

1. Bock, M.; Brandt, A. U.; Dörr, J.; Pfueller, C. F.; Ohlraun, S.; Zipp, F. & Paul, F. Time domain and spectral domain optical coherence tomography in multiple sclerosis: a comparative cross-sectional study. *Mult Scler*, **2010**, *16*, 893-896
2. Bock, M.; Brandt, A. U.; Dörr, J.; Kraft, H.; Weinges-Evers, N.; Gaede, G.; Pfueller, C. F.; Herges, K.; Radbruch, H.; Ohlraun, S.; Bellmann-Strobl, J.; Kuchenbecker, J.; Zipp, F. & Paul, F. Patterns of retinal nerve fiber layer loss in multiple sclerosis patients with or without optic neuritis and glaucoma patients. *Clin Neurol Neurosurg.*, **2010**, *112*, 647-652
3. Bock M, Brandt AU, Kuchenbecker J, Dörr J, Pfueller CF, Weinges-Evers N, u. a. Impairment of contrast visual acuity as a functional correlate of retinal nerve fibre layer thinning and total macular volume reduction in multiple sclerosis. *Br J Ophthalmol.* **2012** Jan, *96*, 62–7.
4. Dörr, J.; Radbruch, H.; Bock, M.; Wuerfel, J.; Brüggemann, A.; Wandinger, K. P.; Zeise, D.; Pfueller, C. F.; Zipp, F. & Paul, F. Encephalopathy, visual disturbance and hearing loss-recognizing the symptoms of Susac syndrome. *Nat Rev Neurol*, **2009**, *5*, 683-688
5. Weinges-Evers, N.; Brandt, A. U.; Bock, M.; Pfueller, C. F.; Dörr, J.; Bellmann-Strobl, J.; Scherer, P.; Urbanek, C.; Boers, C.; Ohlraun, S.; Zipp, F. & Paul, F. Correlation of self-assessed fatigue and alertness in multiple sclerosis. *Mult Scler*, **2010**, *16*, 1134-1140
6. Urbanek, C.; Weinges-Evers, N.; Bellmann-Strobl, J.; Bock, M.; Dörr, J.; Hahn, E.; Neuhaus, A. H.; Opgen-Rhein, C.; Ta, T. M. T.; Herges, K.; Pfueller, C. F.; Radbruch, H.; Wernecke, K. D.; Ohlraun, S.; Zipp, F.; Dettling, M. & Paul, F. Attention Network Test reveals alerting network dysfunction in multiple sclerosis. *Mult Scler*, **2010**, *16*, 93-99
7. Dörr, J.; Wernecke, K. D.; Bock, M.; Gaede, G.; Wuerfel, J. T.; Pfueller, C. F.; Bellmann-Strobl, J.; Freing, A.; Brandt, A. U. & Friedemann, P. Association of retinal and macular damage with brain atrophy in multiple sclerosis. *PLoS One*, **2011**, *6*, e18132
8. Pfueller, C. F.; Brandt, A. U.; Schubert, F.; Bock, M.; Walaszek, B.; Waiczies, H.; Schwentek, T.; Dörr, J.; Bellmann-Strobl, J.; Mohr, C.; Weinges-Evers, N.; Ittermann, B.; Wuerfel, J. T. & Paul, F. Metabolic changes in the visual cortex are linked to retinal nerve fiber layer thinning in multiple sclerosis. *PLoS One*, **2011**, *6*, e18019
9. Zimmermann H, Freing A, Kaufhold F, Gaede G, Bohn E, Bock M, u. a. Optic neuritis interferes with optical coherence tomography and magnetic resonance imaging correlations. *Mult. Scler.* [Internet]. **2012** Aug 30 [zitiert 2012 Sep 3]; Available von: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22936335>

10. Mähler A, Steiniger J, Bock M, Brandt AU, Haas V, Boschmann M, u. a. Is metabolic flexibility altered in multiple sclerosis patients? PLoS ONE. **2012**;7(8):e43675.
11. Bock M, Dörr J, Paul F. Diagnosis and monitoring of multiple sclerosis: the value of optical coherence tomography. Nervenarzt, 2013 Apr;84(4):483-92

### **Poster**

1. Paul F., Aktas O., Dörr J., Infante-Duarte C., Bock M., Würfel J., Zipp F. Epigallocatechin-gallate (EGCG) in relapsing-remitting multiple sclerosis (SunIMS study). ECTRIMS Congress Montreal (Quebec, Canada), **2008**
2. Bock, M. Detektion neuroretinaler Degeneration bei Multipler Sklerose in subklinischen Stadien mit und ohne Neuritis Nervi Optici mittels Optischer Kohärenztomographie. Institut für Sozialmedizin, Epidemiologie und Gesundheitsökonomie Charité-Universitätsmedizin Berlin, **2009**
3. Bock, M., Bischoff, S., Mansow-Model, S., Brandt, A.U., Paul, F. Improving Optical Coherence Tomography sensitivity and specificity in multiple sclerosis by analysis of retinal nerve fibre layer shape. Berlin Neuroscience Forum., **2010**
4. Mähler, A., Bock, M., Steiniger, J., Pommer, S., Paul, F., Boschmann, M. Unbalanced Lipid Metabolism in Multiple Sclerosis Patients. AAN annual meeting Hawaii, **2011**

### **Vorträge**

1. Bock, M. OCT - Optical Coherence Tomography (OCT) in multiple sclerosis, scientific colloquium neurowissenschaftliches Forschungszentrum (NWFZ), Berlin, 07.01.**2008**
2. Bock, M. Patterns of retinal axon degeneration in multiple sclerosis, scientific colloquium neurowissenschaftliches Forschungszentrum (NWFZ), Berlin, 15.09.**2008**
3. Bock, M. Optische Kohärenztomographie - Etablierung eines Biomarkers in der Multiplen Sklerose, Institut für Sozialmedizin, Epidemiologie und Gesundheitsökonomie Charité-Universitätsmedizin Berlin, 30.06.**2009**
4. Bock, M. Optische Kohärenz Tomographie – Neuer diagnostischer Parameter in der Neurologie?, neuroophthalmologisches Kolloquium Charité-Universitätsmedizin Berlin, 17.02.**2010**
5. Bock, M. Einfluss eines Grüntee-Extraktes auf den Stoffwechsel von Patienten mit Multipler Sklerose, scientific colloquium Neurocure Clinical Research Center (NCRC), Berlin, 19.12.**2011**

# **Selbständigkeitserklärung**

## **Erklärung**

„Ich, Markus Bock, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Quantifizierung des neurodegenerativen Status bei Patienten mit Multipler Sklerose durch optische Kohärenztomographie in Abhängigkeit zum visuellen Funktionszustand“ selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.“

29.10.2012

Markus Bock

## Danksagung

Ich möchte mich sehr herzlich bei Prof. Dr. Friedemann Paul für die unersetzbare und außerordentliche Unterstützung meines Promotionsvorhabens bedanken. Durch seinen fürsorglichen Rat und seine umfassende Expertise stiftete er ein sehr gutes wissenschaftliches und mitmenschliches Klima in dem ich mich kreativ entfalten konnte.

Ich danke Alexander Brandt für die hervorragende Anleitung und Betreuung rund um die statistische Auswertung aber auch für die wertvollen Hinweise und anregenden Diskussionen während des Verfassens der Manuskripte.

Weiter danke ich Prof. Dr. Jörn Kuchenbecker für die Möglichkeit ophthalmologische Fertigkeiten im klinischen Umfeld zu erlernen.

Mein herzlicher Dank geht an das gesamte neurologische und ophthalmologische Ambulanzteam im Heliosklinikum Berlin Buch insbesondere an Undine Vollmann, Claudia Tautz und Heike Ahrend.

Meinem Kollegen Gunnar Gäde danke ich für die Unterstützung in der praktischen Ausführung der Experimente. Hans Georg Reimer danke ich für die exzellente technische Beratung während der Videonachbearbeitung.

Ich danke Prof. Dr. Armin Geister für das kritische Lesen meiner Dissertationsschrift und der konstruktiven Kritik.

Weiterer Dank gilt Prof. Dr. Dr. Friedrich C. Luft für die tatkräftige Unterstützung meiner Studien- und Promotionsarbeit.

Schließlich danke ich Dir, liebe Leonore und Dir, lieber Albert Leander für Eure Fürsorge, Liebe und Geduld.