

Strukturelle und mikrovaskuläre Veränderungen der Netzhaut bei hereditären spastischen Paraplegien

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades

der Hohen Medizinischen Fakultät

der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität

Bonn

Gabrielle Nicole Turski

aus St. Louis, USA

2024

Angefertigt mit der Genehmigung
der Medizinischen Fakultät der Universität Bonn

1. Gutachter: Prof. Dr. med. Thomas Klockgether
2. Gutachter: PD Dr. med. Philipp Herrmann

Tag der Mündlichen Prüfung: 04.07.2024

Aus der Klinik und Poliklinik für Neurologie
Direktor: Prof. Dr. med. Thomas Klockgether

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	5
1. Deutsche Zusammenfassung	7
1.1 Einleitung	7
1.2 Material und Methoden	8
1.2.1 Standort der Studie	8
1.2.2 Ethik-Zulassung	9
1.2.3 Studienteilnehmer*innen	9
1.2.4 Bildgebung der Netzhautstruktur	10
1.2.5 Bildgebung der Mikrovaskulatur der Netzhaut	10
1.2.6 Statistische Analyse	11
1.3 Ergebnisse	12
1.3.1 Klinische Merkmale und Demographie der Kohorten	12
1.3.2 Strukturelle und mikrovaskuläre Veränderungen der Kohorten	13
1.4 Diskussion	13
1.5 Zusammenfassung	18
1.6 Literaturverzeichnis der deutschen Zusammenfassung	20
2. Veröffentlichung	23
Abstract	23
Introduction	23
Materials and Methods	24
Results	25

Discussion	26
References	32
3. Danksagung	34

Abkürzungsverzeichnis

BCVA	Bestkorrigierte Sehschärfe
cdONH	Kapillardichte innerhalb des Sehnervenkopfes
DCP	Tiefer retinaler Kapillarplexus
DZNE	Deutsches Zentrum für Neurodegenerative Erkrankungen
ETDRS	Early Treatment Diabetic Retinopathy Study
FAZ	Foveale avaskuläre Zone
HSP	Hereditäre spastische Paraplegie
GCL	Ganglienzellschicht
GeNeMove	Deutsches Netzwerk für erbliche Bewegungsstörungen
ICH-GCP	International Conference on Harmonisation of Good Clinical Practice
INL	Innere Körnerschicht
IPL	Innere plexiforme Schicht
logMAR	Logarithmus des minimalen Auflösungswinkels
nSVP	Nasaler Anteil des oberflächlichen retinalen Gefäßplexus
OCT	Optische Kohärenztomographie
OCT-A	Optische Kohärenztomographie-Angiographie
ONH	Sehnervenkopf
ONL	Äußere Körnerschicht
OPL	Äußere plexiforme Schicht
pRNFL	Peripapilläre retinale Nervenfaserschicht
RNFL	Retinale Nervenfaserschicht

RPC	Radiales peripapilläres Kapillarnetzwerk
SARA	Scale of Assessment and Rating of Ataxia
SCA	Spinozerebelläre Ataxie
SPRS	Spastic Paraplegia Rating Scale
SVP	Oberflächlicher retinaler Gefäßplexus

1. Deutsche Zusammenfassung

1.1 Einleitung

Die Hereditären Spastischen Paraplegien (HSP) sind eine Gruppe genetischer neurodegenerativer Krankheiten, die aufgrund von Degeneration distaler Axone in den langen kortikospinalen Bahnen entstehen, und klinisch durch progressive spastische Parese der Beine gekennzeichnet sind (Blackstone et al., 2011; De Souza et al., 2017; Mackay-Sim, 2021). Klinisch werden sie in „reine“ (unkomplizierte) und „komplexe“ (komplizierte) Formen unterteilt. Die „reinen“ Formen entstehen aufgrund einer isolierten Degeneration der kortikospinalen Bahnen, während bei den „komplexen“ Formen weitere Regionen des zentralen und peripheren Nervensystems mitbeeinträchtigt sind und daher mit zusätzlichen Symptomen, wie Kleinhirntaxie, peripherer Neuropathie, Demenz, Krampfanfällen, Amyotrophie, sowie psychiatrischen und extrapyramidalen Störungen einhergehen (Salinas et al., 2008; Fink, 2013; Schüle et al., 2016). Mit einer geschätzten Prävalenz von 1 bis 10 pro 100.000 (Schüle et al., 2016) werden HSP als seltene Erkrankungen eingestuft. HSP sind genetisch heterogene Krankheiten, die eine große Variabilität des Erkrankungsalters aufweisen (Tesson et al., 2015) und einer autosomal-dominanten, autosomal-rezessiven, X-chromosomal-rezessiven oder mitochondrialen Vererbung folgen. Bis dato wurden insgesamt 79 ursächliche Gene identifiziert, wobei SPG4 die häufigste Form darstellt (Shribman et al., 2019).

Zudem wurden ophthalmologische Auffälligkeiten, wie z.B. kongenitale Katarakte, Optikusatrophie und Netzhautdystrophie in HSP erwähnt (Carelli et al., 2009; de Freitas et al., 2020). Frühere Studien und Fallberichte konnten mittels optischer Kohärenztomographie (OCT) strukturelle Veränderungen der Netzhaut, eine Ausdünnung der retinalen Nervenfaserschicht (RNFL), eine Verringerung der gesamten Netzhautdicke (Wiethoff et al., 2012; Vavla et al., 2019) und eine Reduktion retinaler Ganglienzellen nachweisen (Marcotulli et al., 2014).

Obwohl in früheren Studien strukturelle Veränderungen in der Netzhaut bei HSP-Patienten charakterisiert wurden, wurde bis dato die retinale Mikrovaskulatur noch nicht untersucht. Erst kürzlich wurde das Konzept der klinischen Überschneidung zwischen

HSP und hereditären Ataxien postuliert, die auf die gemeinsame Beeinträchtigung zerebellärer und kortikospinaler Neuronen durch ähnliche pathophysiologische Prozesse hinweist (Synofzik & Schüle, 2017). Zudem wurde kürzlich eine Verringerung der retinalen mikrovaskulären Dichte bei Patienten mit degenerativen Ataxien, einschließlich autosomal-dominant vererbter spinozerebellärer Ataxien (SCAs), entdeckt (Turski et al., 2022).

Diese Befunde lassen vermuten, dass durch ophthalmologische Bildgebung mittels OCT und optischer Kohärenztomographie-Angiographie (OCT-A) potenzielle strukturelle und mikrovaskuläre Veränderungen der Netzhaut auch bei HSP detektiert werden könnten. Die OCT-A ermöglicht eine nicht-invasive, farbstofffreie, hochauflösende und dreidimensionale Bildgebung des Gefäßsystems der Netzhaut und des Sehnervenkopfes (ONH), indem die Bewegung roter Blutkörperchen als Kontrast zur Abgrenzung von Blutgefäßen von statischem Gewebe genutzt wird (Spaide et al., 2018).

Ziel dieser Studie war es, mittels OCT- und OCT-A-Bildgebung zu untersuchen, ob strukturelle und mikrovaskuläre Netzhautveränderungen bei HSP auftreten und, falls vorhanden, ob ein Zusammenhang zwischen dem Ausmaß solcher Veränderungen und dem klinischen Schweregrad besteht. Somit könnte solch eine kombinierte Bildgebung eine potentielle neuartige Methode darstellen, um HSP weiter zu charakterisieren und ihre Progression zu verfolgen.

1.2 Material und Methoden

1.2.1 Standort der Studie

Die Studie wurde am Deutschen Zentrum für Neurodegenerative Erkrankungen (DZNE) in Bonn in Zusammenarbeit mit der Klinik und Poliklinik für Neurologie und der Universitäts-Augenklinik am Universitätsklinikum Bonn durchgeführt.

1.2.2 Ethik-Zulassung

Die Studienteilnehmer*innen wurden am DZNE in Bonn rekrutiert und dort untersucht. Das Studienprotokoll wurde von der Ethikkommission an der Medizinischen Fakultät der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn genehmigt (Genehmigungs-ID: 366/17) und entsprach den Grundsätzen der Deklaration von Helsinki und der International Conference on Harmonisation of Good Clinical Practice (ICH-GCP). Eine schriftliche Einverständniserklärung wurde von jedem*r Probanden*in vor Beginn der Untersuchungen eingeholt und die Risiken als auch Vorteile der Studienteilnahme besprochen.

1.2.3 Studienteilnehmer*innen

Insgesamt wurden 15 Probanden*innen mit HSP zwischen September 2018 und März 2021 am DZNE Bonn für die Studie rekrutiert. Die Kontrollgruppe bestand aus 30 gesunden Probanden*innen gleichen Alters (± 3 Jahre) ohne okuläre oder neurologische Komorbiditäten.

Um als HSP-Proband*in aufgenommen zu werden waren folgende klinische Kriterien (Harding, 1983) und Kriterien des Deutschen Netzwerks für erbliche Bewegungsstörungen (GeNeMove) (Schüle et al., 2006) erforderlich: 1) reine spastische Paraplegie, 2) spastische Tetraparese mit größerem Schweregrad in den unteren Gliedmaßen oder 3) spastische Querschnittslähmung als Frühzeichen einer degenerativen Erkrankung, die mehrere Teile des Nervensystems betrifft.

Der Schweregrad der HSP wurde anhand der Spastic Paraplegia Rating Scale (SPRS) im Bereich von 0 bis 52 bewertet (Schüle et al., 2006), der Schweregrad der Ataxie anhand der Scale for the Assessment and Rating of Ataxia (SARA) im Bereich von 0 bis 40 beurteilt (Schmitz-Hübsch et al., 2006). Wir definierten das Erkrankungsalter als das Alter, in dem die ersten HSP-bezogenen Anzeichen und Symptome vom Betroffenen bemerkt wurden und die Krankheitsdauer als die Zeit zwischen dem Alter bei Krankheitsausbruch und dem Alter zum Zeitpunkt der Netzhautbildgebung.

Okuläre Einschlusskriterien waren eine sphärische Fehlsichtigkeit von $\leq \pm 5$ Dioptrien und eine bestkorrigierte Sehschärfe (BCVA) von $< 0,3$ Logarithmus des minimalen Auflösungswinkels (logMAR).

Ausschlusskriterien waren Augenerkrankungen, Augenoperationen in den letzten drei Monaten, unkontrollierte arterielle Hypertonie und unkontrollierter Diabetes mellitus. BCVA wurde mittels retroilluminierter ETDRS-Diagramme (Early Treatment Diabetic Retinopathy Study) aus einer Entfernung von 4 Metern (Precision Vision, Woodstock, IL) ermittelt.

1.2.4 Bildgebung der Netzhautstruktur

Die ophthalmologische Bildgebung (OCT und OCT-A) erfolgte in einem abgedunkelten Untersuchungsraum, um eine höhere Bildqualität zu gewährleisten. Die OCT und OCT-A wurde ohne Pupillenerweiterung an beiden Augen der Studienteilnehmer*innen durchgeführt. Die OCT-Bildgebung wurde mit einem Spektraldomänen-OCT-Gerät (Spectralis, Heidelberg Engineering, Heidelberg, Deutschland) durchgeführt. Es wurden Makulavolumenscans ($20 \times 20^\circ$, 1024 Scans und 97 Schnitte) von beiden Augen von jedem*er Probanden*in erfasst um addierte foveale und parafoveale Volumina der RNFL, der Ganglienzellschicht (GCL), der inneren plexiformen Schicht (IPL), der inneren Körnerschicht (INL), der äußeren plexiformen Schicht (OPL) und der äußeren Körnerschicht (ONL) zu ermitteln.

Um die peripapilläre RNFL-Dicke (pRNFL) zu bewerten, wurden peripapilläre Ringscans durchgeführt. Es erfolgte eine automatisierte Unterteilung der RNFL in globale, nasale, nasal-inferiore, temporal-inferiore, temporale, temporal-superiore und nasal-superiore Bereiche.

1.2.5 Bildgebung der Mikrovaskulatur der Netzhaut

Die OCT-A Untersuchung erfolgte mit dem Avanti Optovue OCT-A-System (AngioVue, RTVue XR Avanti SD-OCT, Optovue, Fremont, CA, USA). Automatisierte Messungen der Makula (6×6 mm) und des Sehnervenkopfes ($4,5 \times 4,5$ mm) wurden aufgezeichnet. Die

OCT-A-Bildgebung beinhaltete Messungen der parafovealen und perifovealen Gefäßdichte des oberflächlichen und tiefen Kapillarplexus, der Gefäßdichte der peripapillären Kapillarregion (RPC) und des Bereichs innerhalb des Sehnervenkopfes (cdONH) als auch der fovealen avaskulären Zone (FAZ). Die Gefäßdichte wurde als Anteil der Gefäßfläche mit Blutfluss an der gemessenen Gesamtfläche definiert.

Eine ausreichende Signalstärke (≥ 60), Scanqualität ($\geq 6/10$) und Fehlen von Bewegungsartefakten (keine oder nur minimale Streifenbildung/Quilting) der Scans waren Voraussetzungen für den Einschluss in die Auswertung (Lauermann et al., 2017; 2018). Die OCT-A- und OCT-Bildgebungen wurden von einem Untersucher auf Segmentierungsfehler überprüft und bei Bedarf manuell korrigiert. Bildaufnahmen von HSP-Probanden und gesunden Kontrollen wurden zufällig und in keiner bestimmten Reihenfolge ausgewählt, wobei dieselbe Untersucherin bezüglich der Diagnose verblindet war.

1.2.6 Statistische Analyse

Für die statistische Auswertung wurden Mixed-Effects-Modellanalysen angewendet.

Zunächst wurde die gesamte HSP-Kohorte mit der Kontrollgruppe gleichen Alters (± 3 Jahre; 1 HSP Fall zu 2 Kontrollen) verglichen. Anschließend wurde die größte Untergruppe der spastischen Paraplegie, nämlich Typ 7 (SPG7), mit einer Kontrollgruppe gleichen Alters (± 3 Jahre; 1 SPG7 Fall zu 2 Kontrollen) verglichen.

Partielle Korrelationsanalysen nach Pearson und Spearman wurden angewendet, um Korrelationen zwischen OCT-A/OCT-Parametern und klinischen Merkmalen bei HSP-Probanden zu ermitteln. Korrelationsanalysen wurden nur für das rechte Auge durchgeführt. Eine statistische Signifikanz von $p < 0,05$ wurde für alle HSP-Kohorten festgesetzt. Statistische Analysen und Grafiken wurden mit GraphPad Prism Version 9.5.0 (GraphPad Software, San Diego, Kalifornien, USA), R-Software mit der Bibliothek „lmer Test“ Version 4.2.2 (R Foundation for Statistical Computing, Wien, Österreich) und SPSS-Softwareversion 28.0.0.0 (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA) durchgeführt.

1.3 Ergebnisse

1.3.1 Klinische Merkmale und Demographie der Kohorten

Die HSP-Kohorte bestand aus insgesamt 15 Probanden*innen. Sechs hatten einen „reinen“ und neun einen „komplexen“ Phänotyp. Nach molekulargenetischen Kriterien bestand die HSP-Kohorte aus zwei Probanden*innen mit SPG4-Mutationen (einem mit klinisch „reinem“ und einer mit „komplexem“ Phänotyp), fünf mit SPG7-Mutationen (alle klinisch „komplex“), einer mit SPG8-Mutation (klinisch „rein“), einer mit SPG17-Mutation (klinisch „komplex“), einem mit SPG36-Mutation (klinisch „komplex“), einer mit POLR3A-Mutation (klinisch komplex) und vier genetisch nicht klassifizierten Formen. Das Durchschnittsalter betrug $56,6 \pm 10,3$ Jahre, davon waren acht (53,3 %) männlich. Das mittlere (\pm Standardabweichung) Erkrankungsalter und die mittlere (\pm Standardabweichung) Krankheitsdauer betrugen $31,1 \pm 15,4$ bzw. $25,5 \pm 14,3$ Jahre. Der mittlere (\pm Standardabweichung) SPRS-Score betrug $17,5 \pm 6,5$, der mittlere (\pm Standardabweichung) SARA-Score $10,1 \pm 5,7$. Der mittlere (\pm Standardabweichung) BCVA der HSP-Probanden*innen und gesunden Kontrollen betrug logMAR $0,06 \pm 0,13$ (Snellen-Äquivalent, 20/23) bzw. $-0,009 \pm 0,09$ (Snellen-Äquivalent, 20/20) ($p = 0,02$).

Die SPG7-Untergruppe bestand aus insgesamt fünf Probanden*innen, die alle einen „komplexen“ Phänotyp aufwiesen. Der mittlere (\pm Standardabweichung) SPRS-Score betrug $17,8 \pm 3,03$, der SARA-Score $14,8 \pm 3,82$. Die komplizierenden Symptome der „komplexen“ HSP-Form umfassten Ataxie, Blicknystagmus und Dysarthrie.

Eine tabellarische Zusammenfassung der klinischen und demografischen Daten der jeweiligen Kohorten sind in Tabelle 1 in der Originalpublikation dargestellt (Tabellen und Abbildungen befinden sich in der angefügten Publikation und sind mit „Table“ beziehungsweise „Figure“ bezeichnet und gleich nummeriert).

1.3.2 Strukturelle und mikrovaskuläre Veränderungen der Kohorten

Insgesamt wurden 27 Augen von 15 HSP-Probanden*innen und 60 Augen von 30 gesunden Kontrollen in die Analysen einbezogen. Die Mixed-Effects-Modellanalyse der gesamten HSP-Kohorte ($n = 15$) im Vergleich zu der gesunden Kontrollgruppe ($n = 30$) zeigte eine statistisch signifikant verringerte Gefäßdichte im parafovealen oberflächlichen Gefäßplexus ($p = 0,04$) und im nasalen oberflächlichen Gefäßplexus (nSVP, kombinierter nasaler Parafovea- und nasaler Perifovea-Durchschnitt) ($p = 0,04$), sowie ein reduziertes GCL-Volumen ($p < 0,001$), reduziertes IPL-Volumen ($p < 0,001$) und eine reduzierte temporal-inferiore pRNFL-Dicke ($p = 0,04$) (Tabelle 2, Abb. 2, 3 und 4).

Weiterhin zeigte die Subgruppenanalyse bei den SPG7-Probanden*innen ein statistisch signifikant verringertes GCL-Volumen ($p = 0,006$), ein verringertes IPL-Volumen ($p = 0,007$) und eine verringerte temporale pRNFL-Dicke ($p = 0,04$) (Tabelle 3). Bei SPG7-Probanden*innen korrelierte die Verringerung der temporalen pRNFL-Dicke mit der Abnahme der BCVA ($r = -0,9$; $p = 0,02$), während in der gesamten HSP-Kohorte die Abnahme des GCL-Volumens mit der Abnahme der BCVA signifikant korrelierte ($r_s = -0,7$; $p = 0,007$). In der gesamten HSP-Kohorte wurde auch eine signifikante Korrelation zwischen reduziertem IPL-Volumen und Abnahme der BCVA festgestellt ($r_s = -0,7$; $p = 0,01$) (Tabelle 4).

Darüber hinaus korrelierte bei den SPG7-Probanden*innen die Abnahme des GCL-Volumens signifikant mit dem Anstieg des SPRS-Scores ($r_s = -0,9$; $p = 0,04$), während in der gesamten HSP-Kohorte der Verlust des GCL-Volumens signifikant mit dem Anstieg des SARA-Scores korrelierte ($r = -0,58$; $p = 0,03$) (Tabelle 4).

1.4 Diskussion

Diese Studie konnte erstmalig zeigen, dass bei HSP-Patienten nicht nur strukturelle, sondern auch mikrovaskuläre Veränderungen der Netzhaut auftreten. HSP werden gemeinhin als neurodegenerative Krankheiten mit im Vordergrund stehender axonaler Degeneration der kortikospinalen Bahn aufgefasst. Eine vaskuläre Komponente wurde in der Pathogenese dieser Erkrankungen bisher nicht vermutet. In der aktuellen Studie

wurde das retinale Gefäßnetzwerk mittels OCT-A Bildgebung evaluiert. Hierbei konnte eine Verminderung der Gefäßdichte im oberflächlichen Gefäßplexus (SVP) der Makula im Vergleich zu gesunden Kontrollen festgestellt werden. Die verringerte Gefäßdichte erstreckte sich von der parafovealen Region bis in den nasalen perifovealen Bereich des oberflächlichen Plexus (nSVP). Strukturelle Parameter, die mittels OCT erfasst wurden und eine Verminderung aufwiesen, waren die GCL- und IPL-Volumina. Weiterhin zeigte sich eine Ausdünnung der RNFL, vor allem in der temporal-inferioren ONH-Region. Die Beeinträchtigung der inneren Netzhautschichten und des retinalen Gefäßnetzwerks könnte möglicherweise neue Erkenntnisse über die Neurodegeneration der Netzhaut bei HSP liefern, vor allem weil sich frühere Netzhautbildgebungsstudien bei HSP-Kohorten primär auf die Beeinträchtigung der RNFL fokussierten, da diese eine Degeneration von Axonen widerspiegelt (Wiethoff et al., 2012; Vavla et al., 2019).

Die aktuellen Ergebnisse zeigen vor allem eine verringerte Gefäßdichte im SVP. Der SVP ist essenziell für die Blutversorgung der inneren Netzhautschichten (Campbell et al., 2017) und verläuft unterhalb des radialen peripapillären Kapillarplexus (RPCP), oberhalb des mittleren Kapillarplexus (ICP) und des tiefen retinalen Kapillarplexus (DCP), wobei alle drei Geflechte von der zentralen Netzhautarterie ausgehen (Campbell et al., 2017; Fouquet et al., 2017). Die Blutversorgung der GCL und IPL ist von dem SVP abhängig. Dies lässt die Hypothese zu, dass die Ausdünnung dieser Netzhautschichten eine Folge der verringerten Gefäßdichte des SVP darstellt (Linsenmeier & Zhang, 2017). Die Verminderung des Volumens der inneren Netzhautschichten war jedoch sehr ausgeprägt, und zwar stärker im Vergleich zu der Beeinträchtigung der mikrovaskulären Parameter.

Die Befunde sind daher besser mit der Annahme erklärbar, dass neurodegenerative Prozesse primär einsetzen, die eine Verminderung des Stoffwechselbedarfs in den entsprechenden Regionen zur Folge haben und daraufhin zu einer sekundären Verminderung der Gefäßdichte führen. Retinale Ganglienzellen und deren Synapsen mit bipolaren Zellen im IPL könnten an Größe, Anzahl und Funktion zurückgehen, was im Verlauf zu einer Rückbildung derer versorgenden Gefäßnetzwerke führt (Aly et al., 2022). Darüber hinaus kann die Abnahme der Gefäßdichte des nSVP auch auf eine Beteiligung des naheliegenden papillomakulären Bündels durch neurodegenerative Prozesse hinweisen. Möglicherweise finden neurodegenerative Prozesse der Netzhaut bei HSP-

Patienten anfänglich hauptsächlich in den inneren Netzhautschichten der Makula statt und weiten sich im Verlauf in Richtung des papillomakulären Bündels weiter aus. Interessanterweise wurden ähnliche Befunde in Bezug auf die GCL und den nSVP bei degenerativen Ataxien beschrieben (Turski et al., 2022).

Alternativ kann nicht ausgeschlossen werden, dass zunächst eine mikrovaskuläre Ausdünnung des retinalen SVP einsetzt, die zu einer verminderten Blutzufuhr in dieser Region und anschließend zur Degeneration retinaler Ganglienzellen und deren Synapsen führt.

In der Kohorte konnte nur eine Tendenz zu einer verringerten Gefäßdichte des RPC-Netzwerks festgestellt werden. Dies unterscheidet HSP von degenerativen Ataxien, bei denen Veränderungen in diesem Gefäßnetzwerk besonders ausgeprägt sind (Turski et al., 2022). Dies könnte ein weiterer Hinweis darauf sein, dass bei HSP zunächst neurodegenerative Prozesse der Netzhaut einsetzen, woraufhin erst in einem späteren Stadium der Erkrankung eine Gefäßschädigung folgt.

Der häufigste HSP-Subtyp in der gesamten Kohorte war SPG7. SPG7 ist eine komplexe, autosomal rezessiv vererbte Form, die einen spastischen Ataxie-Phänotyp verursacht (Lallemant-Dudek & Durr, 2021). In der SPG7-Gruppe konnte eine Verminderung der GCL- und IPL-Volumen zusammen mit einer RNFL-Ausdünnung in der temporalen ONH-Region festgestellt werden, was trotz der genetischen Variabilität mit den Ergebnissen in der gesamten Kohorte übereinstimmte. Interessanterweise deuten die Ergebnisse darauf hin, dass ähnliche ausgeprägte Netzhautveränderungen auch bei anderen HSP-Subtypen auftreten können, die jedoch in weiteren Studien mit größeren Kohorten bestätigt werden müssten.

Seit der ersten klinischen und pathologischen Beschreibung von HSP durch Adolf von Strümpell und Maurice Lorrain in den Jahren 1886 und 1888 wurde die Erkrankung als distale Axonopathie der längsten myelinisierten Fasern des Rückenmarks beschrieben und akzeptiert (Faber et al., 2017). Durch die Befolgung dieses morphologischen und diagnostischen Grundsatzes wurde der Forschungsschwerpunkt auf eine vermutete Beeinträchtigung der RNFL gerichtet (Wiethoff et al., 2012; Vavla et al., 2019). Eine

Beeinträchtigung der retinalen GCL und derer Synapsen in der IPL wurde jedoch bisher nicht beschrieben oder als mögliches charakteristisches Merkmal vorgeschlagen. Zur Unterstützung dieser neuen Hypothese offenbarte die Studie neurodegenerative Veränderungen, die hauptsächlich die retinale GCL und IPL betreffen. Darüber hinaus korrelierte der Verlust des GCL-Volumens signifikant mit der Abnahme der Sehschärfe und dem Schweregrad der Ataxie. Die BCVA war in der HSP-Kohorte signifikant reduziert, was die Bedeutung des GCL-Volumens als einen potenziellen Biomarker für die Krankheitsprogression hervorhebt. Obwohl die peripapilläre RNFL-Dicke bei SPG7-Probanden mit der BCVA korrelierte, wurde bei der gesamten HSP-Kohorte keine Korrelation zwischen der peripapillären RNFL-Dicke und der BCVA oder dem klinischen Schweregrad der Erkrankung festgestellt. Dies würde die Auffassung stützen, dass HSP als axonale Degeneration nur der längsten neuronalen Projektionsfasern, nämlich der kortikospinalen Bahnen, charakterisiert wird (Wiethoff et al., 2012). Für die Gefäßparameter wurden keine signifikanten Korrelationen gefunden, was auch darauf hindeutet, dass bei HSP die Gefäßbeeinträchtigung eher eine Folge der Neurodegeneration und nicht deren Auslöser ist.

Stärken der Studie umfassen eine umfangreiche neurologische Beurteilung von Probanden*innen mit HSP als auch von gesunden Kontrollen, Ausschluss von Probanden*innen mit Augenpathologien sowie eine ophthalmologische Evaluierung mittels hochauflösender OCT und OCT-A-Bildgebung. Weiterhin wurde die Qualität der gesammelten Daten optimiert, indem die automatisierte Segmentierung bei Bedarf manuell korrigiert wurde.

Limitationen der Studie sind die geringe Probandenanzahl, das Fehlen von Langzeitdaten und die genetische Heterogenität der HSP-Kohorte. Zukünftige Langzeitstudien mit größeren Probandenzahlen sind notwendig, um retinale strukturelle und mikrovaskuläre Veränderungen in HSP weiter zu charakterisieren und mögliche zusätzliche klinische Korrelationen zu evaluieren.

Zusammenfassend stellt die Studie die erste Arbeit dar, die über mikrovaskuläre Veränderungen in der Netzhaut bei HSP berichtet. Diese Erkenntnisse sind neuartig und könnten für die Planung zukünftiger Studien und Therapieansätze bei HSP von

Bedeutung sein. In der HSP-Kohorte konnten mittels OCT- und OCT-A-Bildgebung sowohl strukturelle als auch mikrovaskuläre Veränderungen der Netzhaut festgestellt werden. Diese deuten darauf hin, dass nicht nur Zellen, sondern auch Gefäßnetzwerke der Netzhaut beeinträchtigt sind. Weiterhin unterstützen die Ergebnisse das Konzept einer klinischen Überschneidung zwischen HSP und degenerativen Ataxien (Synofzik & Schüle, 2017). Zukünftige klinische HSP-Studien sollten den Schwerpunkt nicht nur auf die axonale Degeneration, sondern auch auf die Beeinträchtigung der retinalen GCL, IPL und des vaskulären Netzwerks, vor allem des SVP legen, um zu evaluieren ob diese ophthalmologischen Parameter als strukturelle Biomarker für die Überwachung des Krankheitsverlaufs bei HSP nützlich sein könnten.

1.5 Zusammenfassung

Die hereditären spastischen Paraplegien (HSP) sind eine Gruppe neurodegenerativer Erberkrankungen, die durch eine progressive Degeneration distaler Axone der kortikospinalen Bahnen gekennzeichnet sind. Klinisch werden HSP in „reine“ (unkomplizierte) und „komplexe“ (komplizierte) Formen eingeteilt. Die Beeinträchtigung mikrovaskulärer Netzwerke der Netzhaut bei diesen Erkrankungen wurde bis heute noch nicht untersucht. Das Ziel der Studie war es, die Morphologie der Netzhautschichten und der retinalen Mikrovaskulatur in HSP zu untersuchen, um zu beurteilen, ob strukturelle oder mikrovaskuläre Veränderungen der Netzhaut vorliegen, und ob diese möglicherweise Marker für die Progression der Erkrankung darstellen könnten.

Insgesamt wurden 15 Probanden*innen mit HSP und 30 gesunde Kontrollteilnehmer*innen gleichen Alters eingeschlossen. Sechs Probanden hatten einen „reinen“ und neun einen „komplexen“ Phänotyp. Der Schweregrad der HSP wurde mithilfe der Spastic Paraplegia Rating Scale (SPRS), der Schweregrad der Ataxie mithilfe der Scale for Assessment and Rating of Ataxia (SARA) ermittelt. Die Morphologie der Netzhautschichten wurde mittels struktureller OCT und die Mikrovaskulatur der Netzhaut mittels optischer Kohärenztomographie-Angiographie (OCT-A) erfasst. Mixed-Effects-Modelle wurden zur Datenanalyse verwendet.

Die HSP-Gruppe zeigte eine statistisch signifikante Verminderung der Gefäßdichte des oberflächlichen Gefäßplexus (SVP), des Volumens der Ganglienzellschicht (GCL), des Volumens der inneren plexiformen Schicht (IPL) und der Dicke der temporal-inferioren peripapillären retinalen Nervenfaserschicht (pRNFL). Die Verringerung des GCL-Volumens korrelierte signifikant mit einer Verminderung der Sehschärfe und höheren SARA-Scores.

Die aktuelle Studie berichtet erstmals über mikrovaskuläre Veränderungen der Netzhaut bei HSP. Das Ausmaß der Beeinträchtigung der retinalen GCL, IPL und des SVP könnte bei der Diagnose und Überwachung des Krankheitsverlaufs bei HSP hilfreich sein und potentielle neue strukturelle Biomarker für zukünftige klinische Studien darstellen.

Zukünftige große klinische Langzeitstudien sind notwendig, um diese retinalen Veränderungen und deren Relevanz zu evaluieren.

1.6 Literaturverzeichnis

Aly L, Noll C, Wicklein R, Wolf E, Romahn EF, Wauschkuhn J, Hosari S, Mardin C, Berthele A, Hemmer B, Korn T, Knier B. Dynamics of retinal vessel loss after acute optic neuritis in patients with relapsing multiple sclerosis. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm* 2022; 9: e1159

Blackstone C, O'Kane CJ, Reid E. Hereditary spastic paraplegias: Membrane Traffic and the motor pathway. *Nat Rev Neurosci* 2011; 12: 31-42

Campbell JP, Zhang M, Hwang TS, Bailey ST, Wilson DJ, Jia Y, Huang D. Detailed vascular anatomy of the human retina by projection-resolved optical coherence tomography angiography. *Sci Rep* 2017; 7: 42201

Carelli V, La Morgia C, Valentino ML, Barboni P, Ross-Cisneros FN, Sadun AA. Retinal ganglion cell neurodegeneration in mitochondrial inherited disorders. *Biochim Biophys Acta* 2009; 1787: 518-528

de Freitas JL, Rezende Filho FM, Sallum JMF, França MC Jr, Pedroso JL, Barsottini OGP. Ophthalmological changes in hereditary spastic paraplegia and other genetic diseases with spastic paraplegia. *J Neurol Sci* 2020; 409: 116620

De Souza PVS, de Rezende Pinto WBV, de Rezende Batistella GN, Bortholin T, Oliveira ASB. Hereditary spastic paraplegia: Clinical and genetic hallmarks. *Cerebellum* 2017; 16: 525-551

Faber I, Pereira ER, Martinez ARM, França M Jr, Teive HAG. Hereditary spastic paraplegia from 1880 to 2017: an historical review. *Arq Neuropsiquiatr* 2017; 75: 813-818

Fink JK. Hereditary spastic paraplegia: Clinico-pathologic features and emerging molecular mechanisms. *Acta Neuropathol* 2013; 126: 307-328

Fouquet S, Vacca O, Sennlaub F, Paques M. The 3D retinal capillary circulation in pigs reveals a predominant serial organization. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2017; 58: 5754-5763

Harding AE. Classification of the hereditary ataxias and paraplegias. *Lancet* 1983; 1: 1151-1155

Lallemant-Dudek P, Durr A. Clinical and genetic update of hereditary spastic paraparesis. *Rev Neurol (Paris)* 2021; 177: 550-556

Lauermann JL, Treder M, Heiduschka P, Clemens CR, Eter N, Alten F. Impact of eye-tracking technology on OCT-angiography imaging quality in age-related macular degeneration. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2017; 255: 1535-1542

Lauermann JL, Woetzel AK, Treder M, Alnawaiseh M, Clemens CR, Eter N, Alten F. Prevalences of segmentation errors and motion artifacts in OCT-angiography differ among retinal diseases. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2018; 256: 1807-1816

Linsenmeier RA, Zhang HF. Retinal oxygen: from animals to humans. *Prog Retin Eye Res* 2017; 58: 115-151

Mackay-Sim A. Hereditary spastic paraplegia: From genes, cells and networks to novel pathways for drug discovery. *Brain Sci* 2021; 11: 403

Marcotulli C, Leonardi L, Tessa A, De Negris AM, Cornia R, Pierallini A, Haggiag S, Pierelli F, Santorelli FM, Casali C. Early-onset optic neuropathy as initial clinical presentation in SPG7. *J Neurol* 2014; 261: 1820-1821

Salinas S, Proukakis C, Crosby A, Warner TT. Hereditary spastic paraplegia: Clinical features and pathogenetic mechanisms. *Lancet Neurol* 2008; 7: 1127-1138

Schmitz-Hübsch T, du Montcel ST, Baliko L, Berciano J, Boesch S, Depondt C, Giunti P, Globas C, Infante J, Kang JS, Kremer B, Mariotti C, Melegh B, Pandolfo M, Rakowicz M, Ribai P, Rola R, Schöls L, Szymanski S, van de Warrenburg BP, Dürr A, Klockgether T, Fancellu R. Scale for the assessment and rating of ataxia: development of a new clinical scale. *Neurology* 2006; 66: 1717-1720

Schüle R, Holland-Letz T, Klimpe S, Kassubek J, Klopstock T, Mall V, Otto S, Winner B, Schöls L. The Spastic Paraplegia Rating Scale (SPRS): A reliable and valid measure of disease severity. *Neurology* 2006; 67: 430-434

Schüle R, Wiethoff S, Martus P, Karle KN, Otto S, Klebe S, Klimpe S, Gallenmüller C, Kurzwelly D, Henkel D, Rimmele F, Stolze H, Kohl Z, Kassubek J, Klockgether T, Vielhaber S, Kamm C, Klopstock T, Bauer P, Züchner S, Liepelt-Scarfone I, Schöls L.

Hereditary spastic paraplegia: Clinicogenetic lessons from 608 patients. *Ann Neurol* 2016; 79: 646-658

Shribman S, Reid E, Crosby AH, Houlden H, Warner TT. Hereditary spastic paraplegia: From diagnosis to emerging therapeutic approaches. *Lancet Neurol* 2019; 18: 1136-1146

Spaide RF, Fujimoto JG, Waheed NK, Sadda SR, Staurengi G. Optical coherence tomography angiography. *Prog Retin Eye Res* 2018; 64: 1-55

Synofzik M, Schüle R. Overcoming the divide between ataxias and spastic paraplegias: Shared phenotypes, genes, and pathways. *Mov Disord* 2017; 32: 332-345

Tesson C, Koht J, Stevanin G. Delving into the complexity of hereditary spastic paraplegias: How unexpected phenotypes and inheritance modes are revolutionizing their nosology. *Hum Genet* 2015; 134: 511-538

Turski CA, Turski GN, Faber J, Teipel SJ, Holz FG, Klockgether T, Finger RP. Microvascular breakdown due to retinal neurodegeneration in ataxias. *Mov Disord* 2022; 37: 162-170

Vavla M, Paparella G, Papayannis A, Pascuzzo R, Girardi G, Pellegrini F, Capello G, Prosdocimo G, Martinuzzi A. Optical Coherence tomography in a cohort of genetically defined hereditary spastic paraplegia: A brief research report. *Front Neurol* 2019; 10: 1193

Wiethoff S, Zhour A, Schöls L, Fischer MD. Retinal nerve fibre layer loss in hereditary spastic paraplegias is restricted to complex phenotypes. *BMC Neurol* 2012; 12: 143

2. Veröffentlichung

Restorative Neurology and Neuroscience 41 (2023) 229–239
DOI 10.3233/RNN-231380
IOS Press

229

Retinal ganglion cell and microvascular density loss in hereditary spastic paraplegia

Gabrielle N. Turski^{a,b,*}, Christopher A. Turski^{b,c}, Marcus Grobe-Einsler^{b,d}, Xenia Kobeleva^{b,e}, Jennifer S. Turski^f, Frank G. Holz^g, Robert P. Finger^g and Thomas Klockgether^{b,d}

^a*Department of Ophthalmology, University of Virginia, Charlottesville, USA*

^b*German Center for Neurodegenerative Diseases (DZNE), Bonn, Germany*

^c*Department of Ophthalmology, Duke University, Durham, USA*

^d*Department of Neurology, University of Bonn, Bonn, Germany*

^e*Department of Neurology, Ruhr University Bochum, Bochum, Germany*

^f*School of Dentistry, University of Utah, Salt Lake City, USA*

^g*Department of Ophthalmology, University of Bonn, Bonn, Germany*

Abstract.

Background: Hereditary spastic paraplegia (HSP) is characterized by progressive degeneration of distal axons in the long corticospinal tracts. Loss of retinal cells and microvascular networks has neither been suspected nor investigated. We concurrently examined the retinal microvasculature and retinal layer morphology in patients with HSP to assess whether retinal features may portray disease and its progression.

Methods: Fifteen patients with HSP and 30 healthy controls were included in this cross-sectional case-control study. Disease severity was assessed with the Spastic Paraplegia Rating Scale (SPRS). Severity of ataxia was determined by the Scale for the Assessment and Rating of Ataxia (SARA). Retinal microvasculature was measured by means of optical coherence tomography angiography (OCT-A) and morphology of retinal layers using structural OCT. Mixed-effects models were applied for data analysis.

Results: HSP patients showed significantly reduced vessel density of the superficial vascular plexus (SVP), reduced ganglion cell layer (GCL) volume, reduced inner plexiform layer (IPL) volume and reduced temporal-inferior peripapillary retinal nerve fiber layer (pRNFL) thickness versus healthy controls. GCL volume reduction correlated significantly with the worsening of visual acuity and higher SARA scores.

Conclusions: These findings demonstrate that, in HSP both cells and vascular networks of the retina are compromised. Assessment of the retinal GCL, IPL and SVP may aid in diagnosis and monitoring of disease progression as well as provide novel structural outcome measures for clinical trials.

Keywords: Hereditary spastic paraplegia, retina, vascular density, ganglion cells, superficial vascular plexus

1. Introduction

Hereditary spastic paraplegia (HSP) is an inherited progressive neurodegenerative disorder character-

ized by lower limb spasticity and weakness with degeneration of distal axons in the long corticospinal tracts (Blackstone et al., 2011; Mackay-Sim, 2021; De Souza et al., 2017). The prevalence of HSP is estimated to be between 1 and 10 per 100,000 (Schüle et al., 2016). HSP is genetically heterogenous with autosomal dominant, autosomal recessive, X-linked recessive and mitochondrial inheritance, with a large

*Corresponding author: Gabrielle N. Turski, Department of Ophthalmology, University of Virginia, 1300 Jefferson Park Ave, Charlottesville, VA, 22903, USA. Tel.: +1 434 424 1402; E-mail: ukm7nk@uvahealth.org.

variability in age of onset (Tesson et al., 2015). To date, up to 79 causative spastic paraplegia genes have been identified with SPG4 being the most common subtype (Shribman et al., 2019).

Clinically, HSP is classified into a “pure” (uncomplicated) form, which is limited to symptoms arising from degeneration of corticospinal tracts. The “complex” (complicated) form on the other hand, may present with additional clinical signs such as cerebellar ataxia, peripheral neuropathy, dementia, seizures, amyotrophy, psychiatric disorders and extrapyramidal disturbances (Fink, 2013; Salinas et al., 2008; Schüle et al., 2016).

In addition, rare instances of ophthalmological manifestations including congenital cataracts, optic atrophy and retinal dystrophy have been reported (Carelli et al., 2009; de Freitas et al., 2020).

Structural retinal changes in patients with HSP have been studied with optical coherence tomography (OCT), revealing thinning of the retinal nerve fiber layer (RNFL) and reduction of total retinal thickness (Vavla et al., 2019; Wiethoff et al., 2012). Reduction of retinal ganglion cells has been described in a subsequent case report (Marcotulli et al., 2014). However, this finding has not been followed or confirmed in OCT studies by individual retinal layer analysis in HSP cohorts. In addition, the retinal microvasculature has not yet been examined in HSP.

We recently discovered a reduction of retinal microvascular density in patients with degenerative ataxias, including autosomal dominantly inherited spinocerebellar ataxias (SCAs) (Turski et al., 2022). This is intriguing due to the fact that a concept of clinical overlap between HSP and hereditary ataxias has recently been postulated, suggesting a shared vulnerability of cerebellar and corticospinal neurons to common pathophysiological processes (Synofzik & Schüle, 2017). It could therefore be suspected that structural and microvascular retinal changes may also be detectable in HSP by a concurrent OCT- and optical coherence tomography angiography (OCT-A) imaging approach. OCT-A allows non-invasive, dye-free, high-resolution and three-dimensional imaging of the retinal and optic nerve head (ONH) vasculature. Visualization of the retinal vasculature is achieved by using the movement of red blood cells as a contrast to delineate blood vessels from static tissues (Spaide et al., 2018). In this cross-sectional study we assessed, by means of concurrent OCT and OCT-A imaging, whether structural and microvascular retinal changes occur in HSP and, if present, whether a relationship between such alterations may be deduced, potentially

guiding us towards a novel approach for characterization and monitoring of these disorders.

2. Material and methods

2.1. Study participants

Study participants were recruited and data collected from September 2018 through March 2021 from the German Center for Neurodegenerative Diseases (DZNE) in Bonn, Germany. The study design was approved by the Ethics Committee of the University of Bonn (approval ID: 366/17) and adhered to the tenets of the Declaration of Helsinki. Risks and benefits were discussed with each individual, and written informed consent was obtained before beginning the examinations.

Inclusion as a HSP case required the following clinical (Harding, 1983) and German Network of Hereditary Movement Disorders (GeNeMove) (Schüle et al., 2006) criteria: 1) pure spastic paraplegia, 2) spastic tetraparesis with greater severity in the lower limbs, or 3) spastic paraplegia as an early sign of a degenerative disease affecting several parts of the nervous system.

Ocular inclusion criteria comprised spherical ametropia of $\leq \pm 5$ diopters and best-corrected visual acuity (BCVA) of < 0.3 logarithm of the minimum angle of resolution (logMAR). Individuals with ocular disease, ocular surgery in the past three months, uncontrolled arterial hypertension and uncontrolled diabetes mellitus were excluded from the study.

After applying inclusion and exclusion criteria, we recruited 15 individuals with HSP. This cohort consisted of 2 patients with SPG4 mutations (one with clinically pure and one with complex phenotype), 5 with SPG7 mutations (all clinically complex), one with SPG8 mutation (clinically pure), one with SPG17 mutation (clinically complex), one with SPG36 mutation (clinically complex), one with POLR3A mutation (clinically complex) and 4 genetically unclassified forms. The control group consisted of 30 healthy subjects matched for age (± 3 years) without ocular or neurological comorbidities.

2.2. Study procedures

Severity of HSP was evaluated by means of the Spastic Paraplegia Rating Scale (SPRS) ranging from 0–52 (Schüle et al., 2006). Severity of complicating symptoms of ataxia was assessed by means of

the Scale for the Assessment and Rating of Ataxia (SARA) ranging from 0–40 (Schmitz-Hübsch et al., 2006). Age of onset was defined as the age when first HSP-related signs and symptoms were detected. Disease duration was defined as the time elapsed between the age at onset and the age at the timepoint of retinal imaging.

BCVA was assessed using retro-illuminated Early Treatment Diabetic Retinopathy Study (ETDRS) charts at 4-meter distance (Precision Vision, Woodstock, IL).

Retinal imaging was conducted on both eyes of each study participant without pupil dilation. The examination room was kept dark during all imaging sessions to ensure higher quality images. OCT-A was performed using the Avanti Optovue OCT-A system (AngioVue, RTVue XR Avanti SD-OCT, Optovue, Fremont, CA, USA). Automated measurements of the macula (6×6 mm macula-centered scan) and optic nerve head (4.5×4.5 mm optic disc-centered scan) were recorded using the manufacturer's software. Data outcomes collected included parafoveal and perifoveal vessel density of the superficial and deep capillary plexuses; vessel density of the peripapillary capillary region (RPC) and of the area inside the optic nerve head (cdONH); and foveal avascular zone (FAZ). Vessel density was defined as the proportion of blood flow signal detected by OCT-A to the corresponding area. To be included in the final analysis, images needed to have sufficient signal strength (≥ 60), scan quality ($\geq 6/10$) and absence of motion artifacts (no or only minimal banding/quilting) (Lauermann et al., 2017; 2018).

OCT imaging was performed with a spectral domain OCT device (Spectralis, Heidelberg Engineering, Heidelberg, Germany). Macular volume scans ($20 \times 20^\circ$, 1024 scans and 97 sections) were recorded to assess added-up foveal and parafoveal volumes of the RNFL, ganglion cell layer (GCL), inner plexiform layer (IPL), inner nuclear layer (INL), outer plexiform layer (OPL) and outer nuclear layer (ONL). In order to evaluate the peripapillary RNFL (pRNFL) thickness with all its subdivisions (global, nasal, nasal-inferior, temporal-inferior, temporal, temporal-superior, nasal-superior), circumferential peripapillary scans were captured.

OCT-A and OCT images were checked for segmentation errors by one examiner, and were manually corrected if needed. Images of HSP subjects and controls were randomly selected during this process in no particular order with the same examiner blinded to the diagnosis.

2.3. Data analysis

Mixed-effects model analyses were performed with right and left eye variables as repeated measures outcome, and diagnosis and hemisphere (right eye/left eye) as well as the interaction between diagnosis and hemisphere as independent variables with the effects blocked within subjects.

Initially, the entire HSP cohort was compared with the age-matched (± 3 years; 1 case to 2 controls) control group. Subsequently, the spastic paraplegia type 7 (SPG7) subgroup was compared with an age-matched control group (± 3 years; 1 case to 2 controls).

Pearson and Spearman's partial correlation analyses were applied to assess relationships between OCT-A/OCT parameters and clinical characteristics among HSP subjects. Correlation analyses were performed for right eyes only.

Statistical significance was established at $p < 0.05$ for all HSP cohorts. Statistical analyses and graphics were performed with GraphPad Prism version 9.5.0 (GraphPad Software, San Diego, California, USA), R software with the library "lmerTest" version 4.2.2 (R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria) and SPSS software version 28.0.0.0 (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA).

3. Results

3.1. Demographic and clinical characteristics of the study subjects

Fifteen HSP subjects were enrolled, 6 with pure and 9 with complex phenotype. The mean age was 56.6 ± 10.3 (range 28–79) years; 8 (53.3%) were male. Mean age of disease onset and duration were 31.1 ± 15.4 (range 6–54) and 25.5 ± 14.3 (range 6–53) years respectively. Severity of symptoms assessed with the SPRS was 17.5 ± 6.5 (range 7–26) and with SARA 10.1 ± 5.7 (range 1–19.5). Mean BCVA of patients with HSP and healthy controls was logMAR 0.06 ± 0.13 (Snellen equivalent, 20/23) and -0.009 ± 0.09 (Snellen equivalent, 20/20) respectively ($p = 0.02$). Clinical and demographic data are presented in Table 1.

In the SPG7 subgroup, all five subjects had complex phenotypes. The mean SPRS score was 17.8 ± 3.03 and the mean SARA score 14.8 ± 3.82 . Complicating symptoms included ataxia, gaze-evoked nystagmus and dysarthria.

Table 1
Demographic and clinical characteristics of the HSP cohort and healthy controls

	HSP (<i>n</i> = 15)	Pure HSP (<i>n</i> = 6)	Complex HSP (<i>n</i> = 9)	Controls (<i>n</i> = 30)
Age, mean (SD), y	56.6 (10.29)	58.00 (4.9)	55.67 (12.96)	56.00 (10.99)
Gender (M/F)	8 : 7	4 : 2	4 : 5	10 : 20
BCVA, mean (SD), logMAR	0.06 (0.13)	0.08 (0.13)	0.06 (0.13)	−0.009 (0.09)
Age of onset, mean (SD), y	31.07 (15.37)	39.83 (10.21)	25.22 (15.89)	NA
Disease Duration, mean (SD), y	25.53 (14.26)	18.17 (12.37)	30.44 (13.87)	NA
SPRS score, mean (SD)	17.53 (6.49)	15.5 (8.02)	18.89 (5.33)	NA
SARA score, mean (SD)	10.13 (5.67)	6.5 (3.52)	12.56 (5.66)	NA
Genotype (<i>n</i>)	SPG4 (2) SPG7 (5) SPG8 (1) SPG17 (1) SPG36 (1) POLR3A (1) Unclassified (4)	SPG4 (1) SPG8 (1) Unclassified (4)	SPG4 (1) SPG7 (5) SPG17 (1) SPG36 (1) POLR3A (1)	NA

Abbreviations: BCVA, best-corrected visual acuity; HSP, hereditary spastic paraplegia; logMAR, logarithm of the minimum angle of resolution; NA, not applicable; SARA, Scale for the Assessment and Rating of Ataxia (range 0–40); SPRS, Spastic Paraplegia Rating Scale (range 0–52).

3.2. Retinal imaging

In total, 32 eyes of 16 HSP subjects and 64 eyes of 32 healthy control subjects underwent retinal imaging (Fig. 1). Five eyes of 4 HSP subjects and 4 eyes of 2 healthy control subjects were excluded due to insufficient scan quality and motion artifact. Subsequently, a total of 27 eyes of 15 HSP subjects and 60 eyes of 30 control subjects were included in analyses.

When comparing the entire HSP cohort (*n* = 15) with the healthy control group (*n* = 30) by mixed-effects model analysis, HSP patients showed significantly reduced vessel density in the parafoveal superficial vascular plexus ($p = 0.04$), nasal superficial vascular plexus (nSVP, combined nasal parafovea and nasal perifovea average) ($p = 0.04$), reduced GCL volume ($p < 0.001$), reduced IPL volume ($p < 0.001$) and reduced temporal-inferior pRNFL thickness ($p = 0.04$) (Table 2, Fig. 2 and 3). A significant effect was detected for diagnosis for these five outcomes and no interaction between hemisphere and diagnosis on the outcome measures (Fig. 4).

When performing subgroup analysis, SPG7 subjects showed significantly reduced GCL volume ($p = 0.006$), reduced IPL volume ($p = 0.007$) and reduced temporal pRNFL thickness ($p = 0.04$) (Table 3).

In SPG7 subjects, reduction of temporal pRNFL thickness correlated significantly with decline of BCVA ($r = -0.9$; $p = 0.02$), while in the entire HSP cohort decrease of the GCL volume correlated significantly with decline of BCVA ($r = -0.7$; $p = 0.007$). In the entire HSP cohort, a significant correlation

was also detected between reduced IPL volume and decline of BCVA ($r = -0.7$; $p = 0.01$) (Table 4).

In addition, in SPG7, reduction of GCL volume correlated significantly with increase of the SPRS score ($r = -0.9$; $p = 0.04$), while in the entire HSP cohort loss of GCL volume correlated significantly with increase in the SARA score ($r = -0.58$; $p = 0.03$) (Table 4).

4. Discussion

In this study, we discovered that in HSP vessel density in the macular superficial vascular plexus (SVP) is reduced. Furthermore, a considerable reduction in GCL and IPL volumes was detected along with RNFL thinning in the temporal-inferior ONH region.

These results are both surprising and intriguing since microvascular changes have neither been documented nor suspected in HSP previously. The main focus of prior retinal imaging studies in HSP had been placed on the RNFL as it mirrors the degeneration of axons (Vavla et al., 2019; Wiethoff et al., 2012). The fact that involvement of the retinal vasculature has now been detected in addition to distinct alterations of the inner retinal layers, may provide us with new insights into retinal neurodegeneration in HSP.

The SVP provides the most important means of blood supply to the inner retinal layers (Campbell et al., 2017). This plexus is located inferior to the radial peripapillary capillary plexus (RPCP) and superior to the intermediate capillary plexus (ICP) and deep retinal capillary plexus (DCP), with all

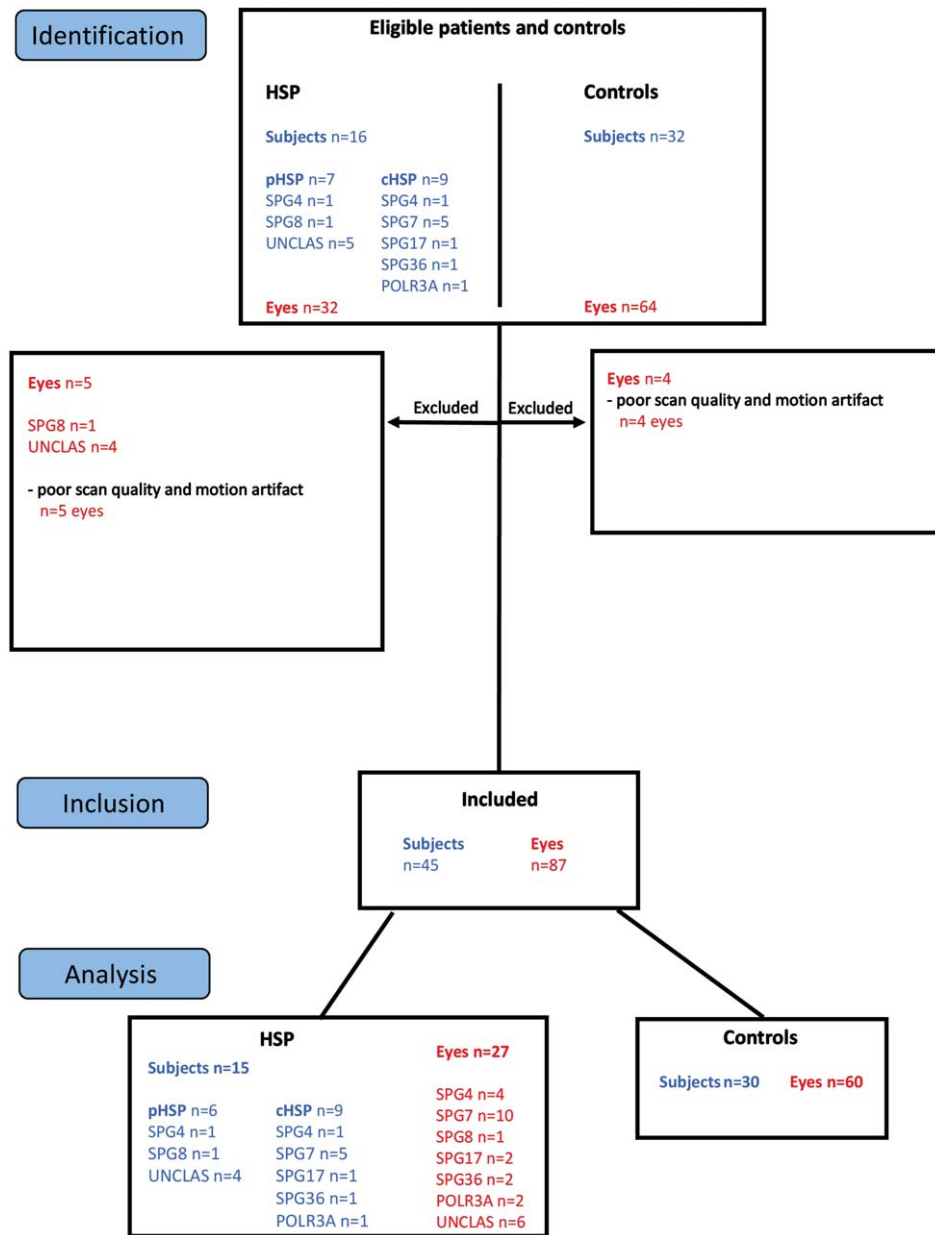


Fig. 1. Study Flow Chart. Sixteen subjects diagnosed with HSP and 32 healthy controls were enrolled in the study. Five eyes of HSP patients and 4 eyes of control subjects were excluded from the study due to poor scan quality and motion artifacts. For analyses, 27 eyes from 15 included subjects diagnosed with HSP, and 60 eyes from 30 included healthy controls were used.

plexuses originating from the central retinal artery (Campbell et al., 2017; Fouquet et al., 2017). In our cohort, the parafoveal region with extension into the nasal perifoveal area of the superficial plexus (nSVP) showed reduced vessel density. Considering that viability of the GCL and IPL is highly dependent on this vascular network, thinning of these layers would be expected to be a consequence of reduced ves-

sel density of this plexus (Linsenmeier & Zhang, 2017). However, the fact, that reduction of the inner retinal layer volumes was very pronounced in our cohort, more profoundly so than the impairment of the microvascular component, leads us to hypothesize that neurodegenerative processes set in first, followed by reduction in metabolic demand in these regions. Retinal ganglion cells and their synapses with bipo-

Table 2
Differences in OCT-A and OCT parameters between HSP and control cohorts

Parameter	HSP (n = 15)	Controls (n = 30)	HSP vs. Controls		
			Estimate	SE	p-value
OCT-A Macula	Mean (SD)	Mean (SD)			
Parafoveal VD, superficial (%)	51.34 (3.02)	53.14 (2.75)	1.988	0.954	0.04
Perifoveal VD, superficial (%)	49.66 (3.3)	50.84 (2.56)	0.871	0.92	0.35
Superficial nasal VD (nSVP) (%)	52.35 (3.21)	54.35 (2.3)	1.832	0.888	0.04
Parafoveal VD, deep (%)	56.60 (3.86)	55.56 (4.23)	-1.403	1.368	0.31
Perifoveal VD, deep (%)	55.20 (4.34)	53.78 (6.44)	-1.888	1.89	0.32
Foveal avascular zone (mm ²)	0.237 (0.08)	0.235 (0.08)	-0.006	0.027	0.82
OCT-A Optic nerve head					
Peripapillary VD (%)	50.94 (3.35)	52.33 (2.5)	1.426	0.925	0.13
Capillary VD optic nerve head (%)	51.44 (2.96)	52.00 (3.66)	-0.217	1.154	0.85
OCT Macula					
Retinal nerve fiber layer (mm ³)	0.143 (0.01)	0.144 (0.01)	0.002	0.004	0.55
Ganglion cell layer (mm ³)	0.297 (0.05)	0.341 (0.02)	0.047	0.011	<0.001
Inner plexiform layer (mm ³)	0.264 (0.03)	0.292 (0.01)	0.032	0.007	<0.001
Inner nuclear layer (mm ³)	0.258 (0.03)	0.269 (0.02)	0.012	0.008	0.15
Outer plexiform layer (mm ³)	0.225 (0.02)	0.218 (0.03)	-0.003	0.009	0.76
Outer nuclear layer (mm ³)	0.532 (0.04)	0.544 (0.05)	0.01	0.015	0.5
OCT Optic nerve head					
RNFL global (μm)	98.24 (9.23)	99.72 (8.91)	1.913	3.017	0.53
RNFL nasal (μm)	76.81 (17.15)	82.25 (11.63)	5.922	4.441	0.19
RNFL nasal-superior (μm)	115.13 (19.35)	114.16 (23.65)	-1.795	7.743	0.82
RNFL nasal-inferior (μm)	102.15 (16.62)	115.27 (24.74)	11.689	7.354	0.12
RNFL temporal (μm)	64.31 (15.49)	68.88 (9.31)	7.47	3.961	0.07
RNFL temporal-superior (μm)	138.16 (18.16)	132.42 (16.85)	-3.235	5.902	0.59
RNFL temporal-inferior (μm)	142.04 (15.44)	152.36 (18.71)	12.569	6.039	0.04

Results are reported from linear mixed-effects model analysis with left- and right-eye variables as repeated measures outcome and diagnosis and hemisphere (left/right) as well as the interaction between diagnosis and hemisphere as independent variables, with the effects blocked within subjects. Abbreviations: HSP, hereditary spastic paraplegia; nSVP, combined nasal parafovea and nasal perifovea vessel density average; OCT-A, optical coherence tomography angiography; OCT, optical coherence tomography; RNFL, retinal nerve fiber layer; SE, standard error; VD, vessel density. Significant at $p < 0.05$.

lar cells in the IPL may suffer a decrease in size, number and function, ultimately resulting in regression of their supplying vascular networks (Aly et al., 2022). Furthermore, the decline of vascular density of the nSVP might also indicate involvement of the papillomacular bundle in its vicinity. These observations may point towards a possible predilection of neurodegenerative processes in the retina of HSP patients occurring primarily in the inner retinal layers of the macula and extending towards the papillomacular bundle. Interestingly, similar findings in regards to the GCL and the nSVP have been described by us in degenerative ataxias (Turski et al., 2022).

On the other hand, even though less likely based on our findings, it cannot be ruled out that microvascular rarefaction involving the retinal SVP may set in first, resulting in a diminished metabolic supply in this particular region, subsequently leading to degeneration of retinal ganglion cells and their synapses.

Our data also document thinning of the RNFL involving the temporal-inferior ONH region. Similar findings have been reported in a previous study in

HSP (Wiethoff et al., 2012). However, we could only identify a tendency to reduced vascular density of the RPC network in our cohort. This is in contrast to our findings in degenerative ataxias, where changes in this vascular network were particularly pronounced (Turski et al., 2022). This could further indicate that retinal neurodegenerative processes likely set in first in HSP, but may still be followed by a significant vascular compromise at a later stage of the disease.

The largest HSP subtype in the entire cohort was SPG7. SPG7 is a complex primarily recessively inherited form that causes a spastic ataxia phenotype (Lallemant-Dudek & Durr, 2021). Mitochondrial defects involving the protein paraplegin, an adenosine triphosphate (ATP)-dependent zinc metalloproteinase localized in the inner mitochondrial membrane, are suspected to play a decisive role in the pathogenesis of SPG7 (Lallemant-Dudek & Durr, 2021). A reduction in GCL and IPL volumes was detected along with RNFL thinning in the temporal ONH region in subjects suffering from SPG7, which is in agreement with findings in the entire cohort



Fig. 2. OCT angiography of the macular regions affected in hereditary spastic paraplegia. Superficial parafoveal (inner circular area outside of foveal avascular zone highlighted in blue, upper en face image) and perifoveal (outer circular area, upper en face image) capillary network extending from the internal limiting membrane (red line, lower B-scan image) to the outer boundary of the inner plexiform layer (green line, lower B-scan image). Nasal region (combined parafoveal and perifoveal average) of the nasal superficial vascular plexus (nSVP) highlighted in yellow.

despite the genetic variability of the latter. Loss of retinal ganglion cells as well as optic nerve atrophy are common features of mitochondrialopathies (Carelle et al., 2009). Intriguingly, our findings indicate that similar distinct retinal changes may exist in other HSP subtypes, which needs to be confirmed in large cohorts.

Since the first clinical and pathological description of HSP by Adolf von Strümpell and Maurice Laurrain in 1886 and 1888, the disorder has been

widely understood and accepted as a distal axonopathy of the longest large myelinated fibers of the spinal tract (Faber et al., 2017). By following this morphological and diagnostic tenet, research emphasis has been directed towards a suspected compromise of the RNFL (Vavla et al., 2019; Wiethoff et al., 2012). Impairment of the retinal GCL along with its synapses in the IPL, however, has not been reported or suggested as a possible disease characterizing feature. In support of this novel hypothesis, our

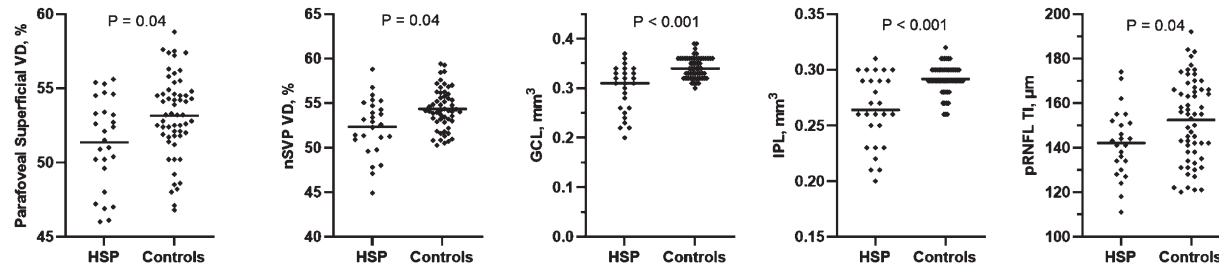


Fig. 3. Scatterplots of OCT-A and OCT data in hereditary spastic paraplegia and healthy control cohorts. Mixed-effects model analyses were conducted on 21 parameters. Significant parameters included the parafoveal superficial vessel density, the nasal superficial vascular plexus vessel density (nSVP), the ganglion cell layer volume (GCL), the inner plexiform layer volume (IPL) and the temporal-inferior peripapillary retinal nerve fiber layer thickness (pRNFL TI). Abbreviations: HSP, hereditary spastic paraplegia. Significant at $p < 0.05$.

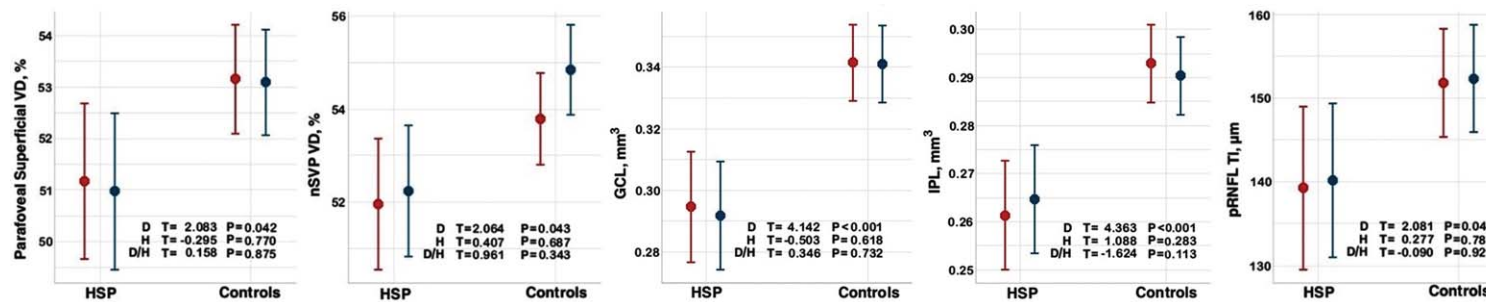


Fig. 4. Graphical representation of mixed models for OCT-A and OCT parameters in HSP and control cohorts. Mixed-effects model analysis in R using library “lmerTest” with left- and right-eye variables as repeated measures outcome and diagnosis and hemisphere (left/right) as well as the interaction between diagnosis and hemisphere as independent variables, with the effects blocked within subjects. Left eye is marked in red and right eye in blue. Abbreviations: D, diagnosis; GCL, ganglion cell layer; H, hemisphere; IPL, inner plexiform layer; nSVP, vessel density superficial nasal (combined nasal parafovea and nasal perifovea average); pRNFL TI, temporal-inferior peripapillary retinal nerve fiber layer thickness; VD, vessel density. Significant at $p < 0.05$.

Table 3
Differences in OCT-A and OCT parameters between SPG7 and control cohorts

Parameter	SPG7 (<i>n</i> = 5)	Controls (<i>n</i> = 10)	SPG7 vs. Controls		
			Estimate	SE	<i>p</i> -value
OCT-A Macula	Mean ± SD	Mean ± SD			
Parafoveal VD, superficial (%)	50.36 ± 3.03	52.87 ± 3.10	2.185	1.764	0.23
Superficial nasal VD (nSVP) (%)	51.09 ± 2.55	53.55 ± 3.10	2.065	1.538	0.2
OCT Macula					
Ganglion cell layer (mm ³)	0.261 ± 0.05	0.329 ± 0.03	0.075	0.023	0.005
Inner plexiform layer (mm ³)	0.241 ± 0.03	0.283 ± 0.02	0.047	0.015	0.007
OCT Optic nerve head					
RNFL temporal-inferior (μm)	140.25 ± 9.38	154.05 ± 18.00	16.996	9.478	0.09
RNFL temporal (μm)	57.67 ± 14.49	71.84 ± 7.84	14.121	6.047	0.04

Results are reported from linear mixed-effects model analysis with left- and right-eye variables as repeated measures outcome and diagnosis and hemisphere (left/right) as well as the interaction between diagnosis and hemisphere as independent variables, with the effects blocked within subjects. Abbreviations: nSVP, combined nasal parafovea and nasal perifovea vessel density average; OCT-A, optical coherence tomography angiography; OCT, optical coherence tomography; RNFL, retinal nerve fiber layer; SE, standard error; SPG7, spastic paraplegia type 7; VD, vessel density. Significant at *p* < 0.05.

Table 4
Correlation between OCT parameters and clinical findings in the HSP cohort (*n* = 15)

Parameter	BCVA	SARA Score	SPRS Score	Disease duration (y)
Ganglion cell layer, mm ³	<i>r</i> _s = -0.7 <i>p</i> = 0.007	<i>r</i> = -0.58 <i>p</i> = 0.03	<i>r</i> = -0.3 <i>p</i> = 0.3	<i>r</i> = -0.14 <i>p</i> = 0.63
Inner plexiform layer, mm ³	<i>r</i> _s = -0.66 <i>p</i> = 0.01	<i>r</i> = -0.4 <i>p</i> = 0.15	<i>r</i> = -0.26 <i>p</i> = 0.37	<i>r</i> = -0.09 <i>p</i> = 0.78

Correlation analyses performed for OCT/OCT-A parameters significantly different from controls as revealed by means of linear mixed-effects model analysis. No significant correlations were found for OCT-A findings (not included in table). Presented are Pearson and Spearman's partial correlation analyses performed for right eyes. Abbreviations: BCVA, Best-corrected visual acuity; OCT, optical coherence tomography; SARA, Scale for the Assessment and Rating of Ataxia; SPRS, Spastic Paraplegia Rating Scale. Significant at *p* < 0.05.

study revealed neurodegenerative changes involving primarily the retinal GCL and IPL. This finding may further enhance our understanding of this rare group of disorders. Furthermore, loss of GCL volume correlated significantly with decline in visual acuity and severity of ataxia, and BCVA was significantly reduced in the HSP cohort, further highlighting the importance of the GCL volume as a potential biomarker for disease monitoring. Although peripapillary RNFL thickness correlated with BCVA in SPG7 subjects, no correlation with BCVA or clinical severity of disease was detected in the entire HSP cohort. This would support the notion that HSP is characterized as an axonal degeneration of only the longest neuronal projection fibers, such as corticospinal tracts (Wiethoff et al., 2012). Significant correlations were not found for vascular parameters, possibly also indicating that vascular compromise may be a result of neurodegeneration rather than its culprit in HSP.

The comparison of retinal microvascular and structural findings in HSP with those recently discovered in degenerative ataxias is warranted since both conditions share not only overlapping phenotypes and

underlying genes, but possibly also common cellular pathways and disease mechanisms (Synofzik & Schüle, 2017). Neurons and their axons may therefore be exposed to common pathophysiological processes in both disorders. Subsequently, the concept of a continuous ataxia-spasticity disease spectrum has been suggested to highlight this clinical and pathophysiological overlap (Synofzik & Schüle, 2017).

Strengths of the study include the comprehensive assessment of both subjects with HSP and healthy controls with the exclusion of ocular pathology. Extensive retinal imaging was performed by employing both structural high-resolution OCT and OCT-A. The quality of collected data was enhanced by correcting automated segmentation manually if needed. Limitations of the study are the small sample size, the genetic heterogeneity of the subjects and the lack of longitudinal data. Since the study was designed as an exploratory study and subjects were included based on a clinical diagnosis of HSP (Harding, 1983; Schüle et al., 2006), further confirmatory longitudinal studies with larger sample sizes with a focus on defining specific retinal microvascular changes in addition

to morphological findings in single genetically determined HSP subtypes are warranted.

In conclusion, microvascular and structural retinal changes can be detected with OCT-A and OCT imaging in HSP, indicating that both cells and vascular networks in the retina are compromised. In addition, our findings support the concept of a clinical overlap between HSP and degenerative ataxias (Synofzik & Schüle, 2017). The future focus should be placed not solely on axonal degeneration but also particularly on the status of the retinal GCL, IPL and SVP for disease monitoring, and even as novel structural outcome measures for future clinical trials.

Acknowledgments

None.

Data availability statement

The data that support the findings of this study are available from the corresponding author upon reasonable institutional request.

Competing interests

No sponsor or funding agency had any involvement in the design or conduct of the study.

Gabrielle N. Turski and Christopher A. Turski report non-financial support from Heidelberg Engineering, Carl Zeiss Meditec, Optos and CenterVue, outside the submitted work.

Frank G. Holz reports research grant support from Acucela, Allergan, Apellis, Bayer, Bioeq/Formycon, CenterVue, Ellex, Roche/Genentech, Geuder, Kanghong, NightStarx, Novartis, Optos, and Zeiss, and consultant fees from Alexion, Acucela, Allergan, Apellis, Bayer, Boehringer Ingelheim, Roche/Genentech, Geuder, Grayburg Vision, Lin-Bioscience, Kanghong, Novartis, Pixium Vision, Oxurion, Stealth BioTherapeutics, and Zeiss, outside the submitted work.

Robert P. Finger reports consulting fees from Bayer Healthcare, Novartis, Genentech/Roche, Allergan, Alimera, Boehringer Ingelheim, and research support from Zeiss Meditec, Heidelberg Engineering, Novartis and Biogen, outside the submitted work.

Thomas Klockgether reports consultation fees from Roche, UBC, Biogen, and Vico Therapeutics, outside the submitted work.

Marcus Grobe-Einsler, Xenia Kobeleva and Jennifer S. Turski have no disclosures to report.

References

- Aly, L., Noll, C., Wicklein, R., Wolf, E., Romahn, E.F., Wauschkuhn, J., Hosari, S., Mardin, C., Berthele, A., Hemmer, B., Korn, T. & Knier, B. (2022). Dynamics of retinal vessel loss after acute optic neuritis in patients with relapsing multiple sclerosis. *Neurology Neuroimmunology Neuroinflammation*, 9(3), e1159. doi: 10.1212/NXI.0000000000001159.
- Blackstone, C., O’Kane, C. J. & Reid, E. (2011). Hereditary spastic paraplegias: Membrane Traffic and the motor pathway. *Nature Reviews Neuroscience*, 12(1), 31–42. doi: 10.1038/nrn2946.
- Campbell, J.P., Zhang, M., Hwang, T.S., Bailey, S.T., Wilson, D.J., Jia, Y. & Huang, D. (2017). Detailed vascular anatomy of the human retina by projection-resolved optical coherence tomography angiography. *Scientific Reports*, 7(2), 42201. doi: 10.1038/srep42201.
- Carelli, V., La Morgia, C., Valentino, M.L., Barboni, P., Ross-Cisneros, F.N. & Sadun, A.A. (2009). Retinal ganglion cell neurodegeneration in mitochondrial inherited disorders. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1787(5), 518–528. doi: 10.1016/j.bbabo.2009.02.024.
- de Freitas, J.L., Rezende Filho, F.M., Sallum, J.M.F., França, M.C. Jr, Pedrosa, J.L. & Barsottini, O.G.P. (2020). Ophthalmological changes in hereditary spastic paraplegia and other genetic diseases with spastic paraplegia. *Journal of Neurological Sciences*, 409(2), 116620. doi: 10.1016/j.jns.2019.116620.
- De Souza, P.V.S., de Rezende Pinto, W.B.V., de Rezende Batistella, G.N., Bortholin, T., & Oliveira, A.S.B. (2017). Hereditary spastic paraplegia: Clinical and genetic hallmarks. *Cerebellum*, 16(2), 525–551. doi: 10.1007/s12311-016-0803-z.
- Faber, I., Pereira, E.R., Martinez, A.R.M., França, M. Jr. & Teive, H.A.G. (2017). Hereditary spastic paraplegia from 1880 to 2017: an historical review. *Arquivos de Neuro-Psiquiatria*, 75(11), 813–818. doi: 10.1590/0004-282X20170160.
- Fink, J.K. (2013). Hereditary spastic paraplegia: Clinicopathologic features and emerging molecular mechanisms. *Acta Neuropathologica*, 126(3), 307–328. doi: 10.1007/s00401-013-1115-8.
- Fouquet, S., Vacca, O., Sennlaub, F. & Paques, M. (2017). The 3D retinal capillary circulation in pigs reveals a predominant serial organization. *Investigational Ophthalmology Visual Sciences*, 58(13), 5754–5763. doi: 10.1167/iovs.17-22097.
- Harding, A.E. (1983). Classification of the hereditary ataxias and paraplegias. *Lancet*, 1(8334), 1151–1155. doi: 10.1016/s0140-6736(83)92879-9.
- Lallemant-Dudek, P. & Durr, A. (2021). Clinical and genetic update of hereditary spastic paraparesis. *Revue Neurologique (Paris)*, 177(5), 550–556. doi: 10.1016/j.neurol.2020.07.001.
- Lauermann, J.L., Treder, M., Heiduschka, P., Clemens, C.R., Eter, N. & Alten, F. (2017). Impact of eye-tracking technology

- on OCT-angiography imaging quality in age-related macular degeneration. *Graefes Archives of Clinical and Experimental Ophthalmology*, 255(8), 1535-1542. doi: 10.1007/s00417-017-3684-z.
- Lauermann, J.L., Woetzel, A.K., Treder, M., Alnawaiseh, M., Clemens, C.R., Eter, N. & Alten, F. (2018). Prevalences of segmentation errors and motion artifacts in OCT-angiography differ among retinal diseases. *Graefes Archives of Clinical and Experimental Ophthalmology*, 256(10), 1807-1816. doi: 10.1007/s00417-018-4053-2.
- Linsenmeier, R.A. & Zhang, H.F. (2017). Retinal oxygen: from animals to humans. *Progress in Retina and Eye Research*, 58(5), 115-151. doi: 10.1016/j.preteyeres.2017.01.003.
- Mackay-Sim, A. (2021). Hereditary spastic paraplegia: From genes, cells and networks to novel pathways for drug discovery. *Brain Sciences*, 11(3), 403. doi: 10.3390/brainsci11030403.
- Marcotulli, C., Leonardi, L., Tessa, A., De Negrì, A.M., Cornia, R., Pierallini, A., Haggag, S., Pierelli, F., Santorelli, F.M. & Casali, C. (2014). Early-onset optic neuropathy as initial clinical presentation in SPG7. *Journal of Neurology*, 261(9), 1820-1821. doi: 10.1007/s00415-014-7432-6.
- Salinas, S., Proukakis, C., Crosby, A. & Warner, T.T. (2008). Hereditary spastic paraplegia: Clinical features and pathogenetic mechanisms. *Lancet Neurology*, 7(12), 1127-1138. doi: 10.1016/S1474-4422(08)70258-8.
- Schmitz-Hübsch, T., du Montcel, S.T., Baliko, L., Berciano, J., Boesch, S., Depondt, C., Giunti, P., Globas, C., Infante, J., Kang, J.S., Kremer, B., Mariotti, C., Melegh, B., Pandolfo, M., Rakowicz, M., Ribai, P., Rola, R., Schöls, L., Szymanski, S., van de Warrenburg, B.P., Dürr, A., Klockgether, T. & Fancellu, R. (2006). Scale for the assessment and rating of ataxia: development of a new clinical scale. *Neurology*, 66(11), 1717-1720. doi: 10.1212/01.wnl.0000219042.60538.92.
- Schüle, R., Holland-Letz, T., Klimpe, S., Kassubek, J., Klopstock, T., Mall, V., Otto, S., Winner, B. & Schöls, L. (2006). The Spastic Paraplegia Rating Scale (SPRS): A reliable and valid measure of disease severity. *Neurology*, 67(3), 430-434. doi: 10.1212/01.wnl.0000228242.53336.90.
- Schüle, R., Wiethoff, S., Martus, P., Karle, K.N., Otto, S., Klebe, S., Klimpe, S., Gallenmüller, C., Kurzweil, D., Henkel, D., Rimmmele, F., Stolze, H., Kohl, Z., Kassubek, J., Klockgether, T., Vielhaber, S., Kamm, C., Klopstock, T., Bauer, P., Züchner, S., Liepelt-Scarfone, I. & Schöls, L. (2016). Hereditary spastic paraplegia: Clinicogenetic lessons from 608 patients. *Annals of Neurology*, 79(4), 646-658. doi: 10.1002/ana.24611.
- Shribman, S., Reid, E., Crosby, A.H., Houlden, H. & Warner, T.T. (2019). Hereditary spastic paraplegia: From diagnosis to emerging therapeutic approaches. *Lancet Neurology*, 18(12), 1136-1146. doi: 10.1016/S1474-4422(19)30235-2.
- Spaide, R.F., Fujimoto, J.G., Waheed, N.K., Sadda, S.R. & Staurengi, G. (2018). Optical coherence tomography angiography. *Progress in Retina and Eye Research*, 64(5), 1-55. doi: 10.1016/j.preteyeres.2017.11.003.
- Synofzik, M. & Schüle, R. (2017). Overcoming the divide between ataxias and spastic paraplegias: Shared phenotypes, genes, and pathways. *Movement Disorders*, 32(3), 332-345. doi: 10.1002/mds.26944.
- Tesson, C., Koht, J. & Stevanin, G. (2015). Delving into the complexity of hereditary spastic paraplegias: How unexpected phenotypes and inheritance modes are revolutionizing their nosology. *Human Genetics*, 134(6), 511-538. doi: 10.1007/s00439-015-1536-7.
- Turski, C.A., Turski, G.N., Faber, J., Teipel, S.J., Holz, F.G., Klockgether, T. & Finger, R.P. (2022). Microvascular breakdown due to retinal neurodegeneration in ataxias. *Movement Disorders*, 37(1), 162-170. doi: 10.1002/mds.28791.
- Vavla, M., Paparella, G., Papayannis, A., Pascuzzo, R., Girardi, G., Pellegrini, F., Capello, G., Prosdocimo, G. & Martinuzzi, A. (2019). Optical Coherence tomography in a cohort of genetically defined hereditary spastic paraplegia: A brief research report. *Frontiers in Neurology*, 10(11), 1193. doi: 10.3389/fneur.2019.01193.
- Wiethoff, S., Zhou, A., Schöls, L. & Fischer, M.D. (2012). Retinal nerve fibre layer loss in hereditary spastic paraplegias is restricted to complex phenotypes. *BMC Neurology*, 12(11), 143. doi: 10.1186/1471-2377-12-143.

3. Danksagung

Ganz herzlich möchte ich mich bei allen bedanken, die mich während der Erstellung dieser Arbeit und dieses Projekts unterstützt haben. Ohne Sie/Euch wäre das nicht möglich gewesen!

Ich möchte mich vor allem bei Prof. Dr. Thomas Klockgether für die Möglichkeit und das Privileg bedanken, am Deutschen Zentrum für Neurodegenerative Erkrankungen in Bonn mit seinem ausgezeichneten Team der klinischen Forschung und den Probanden*innen mit diesen besonderen und seltenen Erkrankungen arbeiten zu dürfen. Es war eine bemerkenswerte, prägende und inspirierende Erfahrung, an genetisch und hoch phänotypisierten Studiengruppen diese Studie durchführen zu dürfen.

Weiterhin möchte ich mich für die langjährige Unterstützung, Ermutigung, Hilfe und Beratung bei Prof. Dr. Thomas Klockgether und Prof. Dr. Robert Finger bedanken.

Ein großes Danke auch an das wunderbare Team der Abteilung der klinischen Forschung am DZNE, das einen enormen und sehr positiven Einfluss auf diese Arbeit hatte. Es war eine wunderbare Zeit mit Euch zu arbeiten!

Abschließend möchte ich mich ganz herzlich bei Prof. Dr. Frank Holz für die Möglichkeit bedanken, an dieser Doktorarbeit an der Universitäts-Augenklinik und dem DZNE arbeiten zu dürfen, sowie für die sehr lehrreiche und positive Zeit meiner Facharztausbildung in der Augenheilkunde.