Veränderungen der inneren und äußeren Netzhautschichten bei zerebraler Mikroangiopathie in der in-vivo Bildgebung mittels Optischer Kohärenztomographie

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades

der Hohen Medizinischen Fakultät

der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität

Bonn

Susanne Magdalena Langner

aus Duisburg 2024 Angefertigt mit der Genehmigung

der Medizinischen Fakultät der Universität Bonn

- 1. Gutachter: Prof. Dr. Dr. med. Robert P. Finger
- 2. Gutachter: Prof. Dr. MUDr. Valentin Sebastian Schäfer

Tag der Mündlichen Prüfung: 23.08.2024

Aus der Augenklinik

## Inhaltsverzeichnis

	Abkürzungsverzeichnis	4
1.	Deutsche Zusammenfassung	6
1.1	Einleitung	6
1.2	Material und Methoden	8
1.3	Ergebnisse	15
1.4	Diskussion	18
1.5	Zusammenfassung	22
1.6	Literaturverzeichnis der deutschen Zusammenfassung	23
2.	Veröffentlichung	34
	Abstract	34
	Introduction	35
	Results	35
	Discussion	37
	Materials and Methods	38
	References	31
	Supplementary Material	44
3.	Danksagung	50

## Abkürzungsverzeichnis

BMO	Bruchmembranöffnung (Bruch's Membrane Opening)
CADASIL	Zerebrale autosomal-dominante Arteriopathie mit subkortikalen Infarkten und Leukenzephalopathie (Cerebral Autosomal Dominant Arteriopathy With Subcortical Infarcts And Leukoencephalopathy)
CI	Konfidenzintervall (Confidence interval)
CSVD	Zerebrale Mikroangiopathie (Cerebral Small Vessel Disease)
FLAIR	Fluid-Attenuated Inversion Recovery
GCL	Ganglienzellschicht (Ganglion Cell Layer)
INL	Innere Körnerschicht (Inner Nuclear Layer)
IPL	Innere plexiforme Schicht (Inner Plexiform Layer)
LPA	Lesion Prediction Algorithm
MoCA	Montreal Cognitive Assessment
MRW	Minimale Randsaumbreite der Bruchmembranöffnung (Bruch's Membrane Opening-Minimum Rim Width)
NOL	Anzahl der Läsionen der weißen Substanz (Number Of White Matter Lesions)
ОСТ	Optische Kohärenztomographie
ONL	Äußere Körnerschicht (Outer Nuclear Layer)
ONH	Sehnervenkopf (Optic Nerve Head)
OPL	Äußere plexiforme Schicht (Outer Plexiform Layer)
pf.	parafoveal
PMB	Papillo-Makuläres Bündel

pRNFL	Peripapilläre retinale Nervenfaserschicht (Peripapillary Retinal Nerve Fiber Layer)
RNFL	Retinale Nervenfaserschicht (Retinal Nerve Fiber Layer)
ROC	Receiver Operating Characteristic
RPE	Retinales Pigmentepithel
TIV	Intrakranielles Gesamtvolumen (Total Intracranial Volume)
WML	Läsionen der weißen Substanz (White Matter Lesions)
WMRI	Volumenverhältnis-Index der Läsionen der weißen Substanz White Matter
	Lesions Volume Ratio Index

## 1. Deutsche Zusammenfassung

## 1.1 Einleitung

Die zerebrale Mikroangiopathie (*cerebral small vessel disease*, CSVD) umfasst eine heterogene Gruppe an Erkrankungen unterschiedlicher Ätiologie und stellt eine der häufigsten neuropathologischen Prozesse dar (Shi und Wardlaw, 2016). Die wichtigsten Formen sind die amyloid- und die Hypertonie bedingten Angiopathien; außerdem können sporadische von hereditären Formen abgegrenzt werden, wobei erstere die deutliche Mehrheit der CSVD-Fälle ausmachen (Cannistraro et al., 2019).

Die CSVD ist charakterisiert durch eine Verengung des Gefäßlumens und eine Störung der Autoregulation mit konsekutiver Hypoperfusionen der nachfolgenden Hirnareale (Guo et al., 2015; Pantoni, 2010). Diese Gefäßveränderungen sind selbst so klein, dass ein direkter Nachweis mittels konventioneller Bildgebung nicht möglich ist. Vielmehr werden die durch die Hypoperfusionen verursachten pathologischen Veränderungen als diagnostische Marker verwendet (Pantoni, 2010). Hierzu gehören unter anderem periventrikuläre und subkortikale Läsionen der weißen Substanz (*white matter lesions, WML*), lakunäre Infarkte sowie Hämorrhagien, welche mittels Magnetresonanz-Tomographie (MRT) diagnostiziert und quantifiziert werden können (Li et al., 2018; Wardlaw et al., 2013). Weiterhin finden sich als diagnostische Möglichkeiten zur Beurteilung der Zirkulation die Computertomographie-Bildgebung und der transkranielle Doppler-Ultraschall (Kern et al., 2008; Li et al., 2018). Klinische Einschätzungen bezüglich der Symptomatik bzw. des Ausmaßes der kognitiven Funktionsstörungen werden mittels standardisierten kognitiven Tests wie dem Montreal Cognitive Assessment (MoCA) vorgenommen (Hachinski et al., 2006).

Die Symptomatik der CSVD ist sehr vielfältig. Es gibt klinisch völlig unauffällige Verläufe, aber gerade bei Fortschreiten der Erkrankung können kognitive Einschränkungen bis hin zum Vollbild einer Demenz auftreten, welche mehr oder weniger starke Alltagseinschränkungen mit sich bringen (Clancy et al., 2021; van der Flier et al., 2005; Groot et al., 2000). Gleichzeitig stellt die zerebrale Mikroangiopathie einen bedeutenden Risikofaktor für Schlaganfälle und Depressionen dar und trägt so erheblich zur weltweiten Sterblichkeit bei (Cannistraro et al., 2019; Fang et al., 2020; Rensma et al., 2018). Wichtige Risikofaktoren für die zerebrale Mikroangiopathie selbst sind das Alter, Nikotinabusus, Diabetes mellitus und Übergewicht sowie arterielle Hypertonie und Hypercholesterinämie (Arnoldussen et al., 2019; van Dijk et al., 2008; Kraft et al., 2017; Pantoni, 2010).

Die zunehmende Prävalenz der CSVD wird signifikant durch das steigende Lebensalter sowie den Lebensstil der Bevölkerung beeinflusst. Laut der bevölkerungsbasierten Rotterdam-Studie, zeigen sich bei über 90 % der 60-90-Jährigen CSVD-typische Veränderungen (Leeuw et al., 2001). Parallel steigt auch das Risiko von stummen Infarkten mit zunehmendem Alter (Thompson und Hakim, 2009).

Um ein Fortschreiten der CSVD zu verhindern oder wenigstens deren Verlauf zu verlangsamen, besteht somit ein großes Interesse, die Erkrankung möglichst im Frühstadium und ohne aufwendige Methoden zu diagnostizieren.

Bisherige Studien unterstützen die Überlegungen, dass neurodegenerative Erkrankungen bzw. ihre pathophysiologischen Prozesse auch Auswirkungen auf das Auge und die neuro-retinalen Strukturen haben können (Colligris et al., 2018; Doustar et al., 2017; Turski et al., 2017). Das neuronale Gewebe des Auges steht in engem Zusammenhang zu dem des Gehirns. Es bestehen sowohl Gemeinsamkeiten in der embryonalen Entwicklung, als auch in der vaskulären Versorgung über die Arteria carotis interna (Baker et al., 2008; London et al., 2013). Die Parallelen zwischen Blut-Hirn-Schranke und Blut-Retina-Schranke führen zu einer weiteren Vergleichbarkeit (Patton et al., 2005).

Es konnte gezeigt werden, dass bei Erkrankungen wie Morbus Parkinson und Morbus Alzheimer eine Verdünnung bestimmter Netzhautschichten - der Ganglienzellschicht (GCL) und der peripapillären retinalen Nervenfaserschicht (pRNFL) - besteht (Colligris et al., 2018; Cabrera DeBuc et al., 2019; Yu et al., 2014) Auch bei der "Zerebralen autosomal-dominanten Arteriopathie mit subkortikalen Infarkten und Leukenzephalopathie" (CADASIL), einer hereditären Form der CSVD, konnte eine Verdünnung der pRNFL festgestellt werden (Rufa et al., 2010; Parisi et al., 2007). Zudem zeigte sich ein Zusammenhang zwischen fundusfotographisch sichtbaren Defekten der retinalen Nervenfaserschicht (RNFL) und dem Auftreten von Läsionen der weißen Substanz (Kim et al., 2011).

Eine schnelle, nicht invasive Möglichkeit, neuronales Gewebe zu untersuchen, bietet die optische Kohärenztomographie (OCT) der Retina. Bedingt durch die hohe Auflösung und die Möglichkeit der dreidimensionalen Netzhautdarstellung kann sowohl eine qualitative, als auch quantitative Analyse einzelner Netzhautschichten erfolgen.

Innerhalb dieser Arbeit sollte explorativ untersucht werden, ob ein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Auftreten von strukturellen OCT-Veränderungen im Bereich der Makula sowie der Papille und MRT-Veränderungen in Form von WML bei Betroffenen mit CSVD besteht, mit dem Ziel potentielle okuläre Biomarker für CSVD zu detektieren.

## 1.2 Material und Methoden

## 1.2.1 Probanden

Die Rekrutierung der Probanden erfolgte aus der Datenbank der Klinik für Neurologie der Universität Bonn. Insgesamt wurden im Rahmen einer Querschnittsstudie 62 Probanden untersucht. Alle Probanden hatten zuvor aufgrund einer klinischen Indikation (Kopfschmerzen, Schwindel, Synkope, Parästhesien, Ausschluss von Metastasen und Mikroembolien) eine Bildgebung des Gehirns mittels MRT erhalten. Hierbei wurde bei den Patienten, meist nebenbefundlich, eine CSVD festgestellt. Als Kontrollen wurden Probanden aus der Datenbank rekrutiert, bei denen keine Pathologien in der MRT festgestellt werden konnten.

Für die Studie infrage kommende Probanden wurden telefonisch oder postalisch kontaktiert und über die Studie informiert. Bei Interesse wurde ein Termin in der Universitäts-Augenklinik Bonn vereinbart. Innerhalb dieses Termins haben alle Probanden schriftlich der Teilnahme an der Studie zugestimmt. Zudem erfolgten eine ausführliche Anamnese, eine kognitive Testung sowie eine ophthalmologische Untersuchung.

Folgende Kriterien führten zum Ausschluss aus der Studie: Akute okuläre Entzündungen, Brechfehler ≥5 Dioptrien, trübe Medien, ophthalmologische Operationen, die weniger als drei Monate zurücklagen, jegliche ophthalmologischen Erkrankungen wie Glaukom oder retinale Pathologien wie altersabhängige Mauladegeneration, ferner Schwangerschaft, intrakranielle Hypertension, Apoplex, maligne und bekannte neurodegenerative Erkrankungen sowie strukturelle Hirnanomalien oder größere intrakranielle Läsionen, welche die MRT-Analyse beeinträchtigen.

Alle MRT-Untersuchungen wurden zwischen Januar 2017 und Mai 2019 durchgeführt. Die letzte ophthalmologische Untersuchung fand im August 2019 statt. Der Abstand zwischen MRT-Bildgebung und ophthalmologischer Untersuchung betrug 5 Wochen bis 18 Monate. Die Studie entspricht den Vorgaben der Deklaration von Helsinki und wurde von der Ethikkommission der medizinischen Fakultät der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn bewilligt (Referenz 281/17).

1.2.2 Anamnese, kognitive und ophthalmologische Untersuchung

Die Anamnese wurde mittels eines standardisierten Fragebogens erhoben und erfasste Alter, Geschlecht, neurologische und ophthalmologische Vorerkrankungen und Medikation sowie Risikofaktoren für vaskuläre Erkrankungen.

Zur Überprüfung der kognitiven Funktion wurde der MoCA eingesetzt. Dieser weist im Vergleich zu dem im klinischen Alltag ebenfalls gebräuchlichen Mini-Mental-State-Exam eine höhere Sensitivität im Bereich milder kognitiver Einschränkungen auf (Pinto et al., 2019). Der MoCA beurteilt die Kognition auf den Ebenen visuell-räumliche Wahrnehmung, Exekutivfunktion, Gedächtnisleistung, Orientierung, Aufmerksamkeit, Konzentrationsfähigkeit, Zusammenhangsdenken, Wortflüssigkeit und Wortfindung (Nasreddine et al., 2005). Neueren Untersuchungen zufolge ist ein Grenzwert von 23 Punkten am sensitivsten (Carson et al., 2018). Wir stuften daher ein Ergebnis von ≤ 23 als "kognitiv beeinträchtigt" ein.

Im Anschluss erfolgte eine ophthalmologische Basisdiagnostik mit Bestimmung der Refraktion und Messung des intraokulären Drucks.

## 1.2.3 OCT-Bildgebung

Im Anschluss an die genannten Untersuchungsschritte erfolgte die retinale Bildgebung mittels OCT. Auf Grundlage der kurzkohärenten Interferometrie mit infrarotem Licht können bei der OCT Eindringtiefen im Gewebe von mehreren Millimetern bei einem Auflösungsvermögen von wenigen Mikrometern erreicht werden (Aumann et al.).

Verwendet wurde das Spectralis HRA + OCT des Herstellers Heidelberg Engineering (Heidelberg, Deutschland, Software Version 6.5.4.0). Hierbei wird die OCT-Technologie mit einem konfokalen Scanning-Laser-Ophthalmoskop kombiniert. Zudem ermöglicht die Automatic Real-time Funktion (ART) einen Ausgleich der Augenbewegungen und damit eine Erhöhung der Bildqualität.

Alle Patienten wurden bei Raumlicht in Miosis von zwei Untersucherinnen (Clara F. Geerling und S. Magdalena Langner) unter Verwendung desselben OCT-Gerätes untersucht. Als Studienauge wurde immer das rechte Auge ausgewählt, in Fällen, in denen aufgrund von Ausschlusskriterien das rechte Auge nicht verwendet werden konnte, wurde das linke Auge eingeschlossen.

Im Rahmen der Bilderhebung wurden ein Volumenscan der Makula (121 B-Scans, 25 Frames, 20° x 25°), sowie ein Bruch's Membrane Opening (BMO)-Scan der Papille (Kreisscans mit 3,5 mm, 4,1 mm und 4,7 mm Durchmesser mit je 100 Frames und automatischer Positionierung sowie 24 radiale B-Scans mit je 25 Frames) erstellt (Figure 2, siehe Seite 40).

## 1.2.4 OCT- Segmentierung und Analyse

Die OCT-Scans wurden im Anschluss mithilfe der im Gerät implementierten Software Heidelberg Eye Explorer (HEYEX 2, Heidelberg Engineering, Heidelberg, Deutschland) automatisch segmentiert und von drei unabhängigen Untersuchern (Jan H. Terheyden Christopher A. Turski und S. Magdalena Langner) kontrolliert und ggf. korrigiert. Der BMO-Scan bildete die Grundlage für die Segmentierung der pRNFL und der minimalen Randsaumbreite der Bruchmembranöffnung (MRW).

Die makuläre Netzhaut wurde anhand des EDTRS-Grids (Early Treatment Diabetes Retinopathy Study) in Sektoren unterteilt. Abbildung 1 zeigt schematisiert das für die Analyse verwendete zentrale Netzhautareal mit einem Durchmesser von 3 mm. Auf dieser Basis wurde für jede Netzhautschicht ein zentrales Gesamtvolumen, bestehend aus dem fovealen sowie den parafovealen (pf.) Volumina, berechnet.

Die Dicke der pRNFL wurde im Bereich des 4,7 mm-Kreisscans, die MRW anhand von 24 radialen Scans durch den Sehnervenkopf ermittelt (Figure 2B und 2C, siehe Seite 40). Die Berechnung der pRNFL-Dicke und der MRW erfolgte Sektor spezifisch. Hierbei wurden folgende Sektoren unterschieden: Nasal, nasal superior, nasal inferior, temporal, temporal superior und temporal inferior. Außerdem erfolgte eine Berechnung des Verhältnisses zwischen nasaler und temporaler Dicke sowie des Papillo-Makulären Bündels (PMB).



**Abb. 1:** Early Treatment Diabetic Retinopathy Study-grid zur Berechnung der Makulavolumina, am Beispiel eines rechten Auges.

Der rot markierte Ring (3mm Kreis) umschließt das zentrale Netzhautareal, welches die Grundlage der Volumenberechnungen darstellte.

Abkürzungen: F, foveal; S, superior; N, nasal; I, inferior; T, temporal; ONH, Sehnervenkopf

11

### 1.2.5 MRT-Bildgebung und Auswertung

Die MRT-Bildgebung erfolgte in der Klinik für Neurologie des Universitätsklinikums Bonn. Aufgrund der Bildgebung im klinischen Kontext wurden verschiedene MRT-Geräte verwendet (Philips Ingenia 1,5 T und Achieva TX 3T; Philips Healthcare, Best, Niederlande). Für die Analyse wurden axiale 2D Fluid-attenuated Inversion Recovery (FLAIR) Datensätze verwendet. Alle Patienten erhielten Aufnahmen des gesamten Gehirns mit einer Schichtdicke von 6mm, ohne Schichtlücke und mit einer Echozeit von 140 ms. Die FLAIR-Sequenz des 1,5-T-MRT-Scanners hatte eine Matrix von 352x352, eine Wiederholungszeit von 11 s und eine Inversionszeit von 2800 ms. Bei der entsprechenden Sequenz des 3-T-MRT-Scanners betrug die Matrix 512x512, mit einer Wiederholungszeit von 12 s und eine Inversionszeit von 2850 ms.

Auf Grundlage dieser Aufnahmen wurde bei allen Patienten der Fazekas-Score für mikrovaskuläre Leukenzephlopathie von zwei unabhängigen, zertifizierten Neuroradiologen bestimmt (Fazekas et al., 1987). Hiermit werden hyperintense Läsionen des Marklagers nach Größe, Anzahl und Verteilung klassifiziert. So erhält man einen Indikator für mikrovaskuläre Veränderungen im Rahmen der CSVD und damit Hinweise auf mögliche Folgekomplikationen wie kognitive Einschränkungen und Schlaganfälle. Ein Score von 0 bedeutet die Abwesenheit jeglicher periventrikulärer oder tiefer WML. Bei einem Score von 1 liegen kleine Läsionen vor. Diese bilden bei einem Score von 2 periventrikuläre "Halos" oder konfluieren. Bei einem Fazekas-Score von 3 sind die Läsionen groß, unregelmäßig, und reichen bis in die tiefe weiße Substanz.

Mithilfe der Lesion Segmentation Toolbox (LST; Version 2.0.15) für das Bildverarbeitungsprogramm Statistical Parametric Mapping 12 (SPM12) und mit dem durch die LST zur Verfügung stehenden Lesion Prediction Algorithmus (LPA) wurden die WML zusätzlich automatisch segmentiert sowie deren Anzahl und das Volumen in den 2D-FLAIR-Datensätzen berechnet (Schmidt, 2022; Friston, 1991). Der LPA wurde für die Segmentierung von Läsionen bei Multipler Sklerose entwickelt und trainiert und bereits in Studien zu Amyotropher Lateralsklerose und Diabetes mellitus verwendet (Maldjian et al., 2013; Schmidt, 2017; Schmidt et al., 2012; Wirth et al., 2019). Weitere Studien konnten zeigen, dass der LPA eine valide Messmethode zur Detektion und Analyse von WML ist (Moeskops et al., 2018; Waymont et al., 2020).

Die binäre Klassifikation in Form eines logistischen Regressionsmodells bewertet die Veränderungen der Läsionswahrscheinlichkeit für jedes einzelne Voxel. Auf der Grundlage der vorherigen Parameter des Modells und bisheriger Ergebnisse für die Läsionssegmentierung wird bei neuen Bildern die Voxel-spezifische Läsionswahrscheinlichkeit bewertet. Im Anschluss an die automatische Segmentierung erfolgte eine Überprüfung der Genauigkeit.

Zusätzlich wurden aus den 2D-Flair-Sequenzen mithilfe des Standardsegmentierungsalgorithmus von SPM12 Volumina der grauen und weißen Substanz sowie des Liquors segmentiert. Anschließend wurde das gesamte intrakranielle Volumen (*total intracrainal volume*, TIV) als Summe der drei Gewebeklassen berechnet. Das Volumen von WML wurde ins Verhältnis zum TIV gesetzt und zur besseren Übersicht mit 100 multipliziert. Hieraus ergab sich als Parameter das Volumen der WML als Prozentsatz des intrakraniellen Volumens (WMRI).

## 1.2.6 Statistische Auswertung

Die Daten wurden zunächst deskriptiv ausgewertet. Im Anschluss erfolgte eine die Analyse der Daten mittels linearer Regression und Receiver Operating Characteristic (ROC).

Für die deskriptive Statistik wurden von allen Datensätzen die Mittelwerte berechnet. Die Mittelwerte der einzelnen Gruppen (Gesamtkohorte und altersgepaarte Subkohorte) wurden mittels Mann-Whitney-U Test miteinander verglichen. Zusätzlich wurden die Kontrollprobanden und Patienten mit CSVD mithilfe von binär-logistischen CSVD-Kohorte Regressionsmodellen verglichen und die mit linearen Regressionsmodellen analysiert (siehe unten). Eine mögliche Verzerrung, durch den Einflussfaktor Alter, wurde durch Bildung einer Subkohorte reduziert. Jeweils einem Probanden mit CSVD (Fazekas-Score  $\geq$  1) wurde eine gesunde Kontrolle (Fazekas = 0) mit ähnlichem Alter (± 5 Jahre) zugeordnet.

Die nicht normalverteilten WMRI-Werte wurden logarithmisch transformiert. Alle statistischen Analysen erfolgten mittels IBM SPSS (Version 26.0). Eine statistische Signifikanz wurde bei einem p-Wert < 0,05 angenommen.

## 1.2.6.1 Lineare Regression

In die lineare-Regressionsanalyse flossen die Daten aller Patienten mit CSVD unter Berücksichtigung der oben genannten Ausschlusskriterien ein. Wir untersuchten Zusammenhänge zwischen retinalen Parametern und den MRT-Parametern NOL und WMRI. Jeder OCT-Parameter wurde zunächst einzeln, dann unter Berücksichtigung des Alters betrachtet. Im Anschluss erfolgte eine multivariable Regressionsanalyse, welche alle signifikanten OCT-Parameter aus der altersangepassten linearen Regression einschlossen. Um eine Multikollinearität zu vermeiden, wurde bei einer Pearson-Korrelation von > 0,8 nur der Parameter mit der stärkeren Korrelation in die multiple Regression eingeschlossen. Als Modell erfolgte eine multivariable Regression mit Rückwärtselimination.

## 1.2.6.2 ROC-Analyse

Zusätzlich wurde die diagnostische Vorhersagekraft der retinalen OCT-Parameter und des MoCA-Scores in Bezug auf die Vorhersage einer CSVD in unserer Kohorte mithilfe der Receiver Operating Characteristic Analyse vorgenommen. Grundlage für die Unterscheidung zwischen Erkrankten und Gesunden war der Fazekas-Score.

Diese Analyse wurde unkorrigiert und alterskorrigiert durchgeführt. Signifikante Parameter aus der altersunabhängigen Analyse wurden im Anschluss als unabhängige Parameter in die altersangepasste Analyse eingeschlossen.

Um die einzelnen Parameter vergleichen zu können, wurde zunächst die Korrelation nach Pearson zwischen WMRI und allen retinalen Parametern sowie dem MoCA-Score berechnet. Parameter mit positivem Korrelationskoeffizienten wurden nach Multiplikation mit -1 in die Analyse eingeschlossen. Dies traf auf die äußere plexiforme Schicht (outer plexiform layer, OPL) zu.

Mithilfe einer binär-logistischen Regressionsanalyse erfolgte im Anschluss die Berechnung der Korrelationskoeffizienten und der Konstanten für die Altersanpassung.

Eine Signifikanz bestand, wenn die untere Grenze des 95 %-Konfidenzintervalls der Fläche unter der Kurve über 0,5 lag.

## 1.3 Ergebnisse

## 1.3.1 Beschreibung der Gesamtkohorte

Insgesamt wurden 62 Probanden untersucht, 26 wurden von der weiteren Analyse ausgeschlossen. Gründe für den Ausschluss waren bei 18 Probanden retinale Pathologien und bei einer Probandin zerebrale Läsionen der weißen Substanz, die nicht im Zusammenhang mit einer CSVD standen, zudem wurden 7 Kontrollen aufgrund des jungen Alters ausgeschlossen. Aufgrund von schlechter Bildqualität wurden 2 OCT-Scans nicht in die Analyse eingeschlossen.

In die Analyse wurden 36 Augen von 36 Patienten eingeschlossen. Hiervon waren 27 Augen von Patienten mit CSVD, 9 Augen von gesunden Kontrollen. Anhand des MoCA-Scores wurden 19 % der Probanden als kognitiv beeinträchtigt eingestuft (Table 1, siehe Seite 35)

Ein Vergleich zwischen allen Patienten mit CSVD und den gesunden Kontrollen zeigte wie erwartet bei den CSVD-Patienten signifikant mehr WML (p < 0,001) sowie einen signifikant höheren WMRI (p < 0,0001). Die Patienten-Gruppe war mit 65 ± 11 Jahren im Durchschnitt älter als die Kontrollen mit 57 ± 5 Jahren, weswegen eine gesonderte Analyse mit altersgleichen Patienten und Kontrollen durchgeführt wurde. Beim Vergleich der retinalen Biomarker zwischen Patienten und Kontrollen zeigte sich ein signifikant geringeres GCL-Volumen in der CSVD-Gruppe (0,31 ± 0,04 versus 0,34 ± 0,02, p = 0,032). Bei allen anderen untersuchten retinalen Parametern und dem MoCA-Score

konnte kein signifikanter Unterschied im Vergleich zwischen CSVD- und Kontroll-Probanden nachgewiesen werden.

## 1.3.2 ROC-Analyse

In der Analyse der ROC konnte zwischen dem GCL-Volumen und der Diagnosestellung CSVD anhand des Fazekas-Scores ein signifikanter Zusammenhang festgestellt werden (AUC 0,743; 95 %-CI 0,578 – 0,908). Auch nach Berücksichtigung des Alters ergab die Analyse einen signifikanten Bezug des GCL-Volumens zur Diagnose CSVD (AUC 0,790; 95 %-CI 0,641 – 0,939). Die ROC-Analyse des MoCA-Scores wies keine signifikante Sensitivität bezüglich der Diagnose CSVD auf (AUC 0,506; 95 %-CI 0,302 – 0,701).

1.3.3 Vergleich der Ergebnisse retinaler Parameter in einer altersgleichen Subkohorte

Insgesamt konnten von allen in die Analyse eingeschlossenen Probanden 9 Patienten mit CSVD (Fazekas > 0) jeweils einer Kontrolle (Fazekas = 0) mit vergleichbarem Alter ( $\pm$  5 Jahre) zugeordnet werden. Auch in dieser Subkohorte konnte wie erwartet eine signifikant höhere Anzahl der WML (p = 0,031) und eine signifikant höherer WMRI (p = 0,006) festgestellt werden, wohingegen das Resultat im MoCA keinen signifikanten Unterschied aufwies (p = 0,436). In der Vergleichsanalyse der retinalen Parameter zeigte sich erneut das GCL-Volumen signifikant geringer in der CSVD-Gruppe (p = 0,008; Table 2, siehe Seite 36). In der weiteren Analyse der GCL, unterteilt nach dem EDTRS-Gitter, ergab sich ein signifikant geringeres Volumen der GCL im pf. nasalen (p = 0,014), inferioren (p = 0,019) und superioren (p = 0,011) Sektoren. Keiner der anderen untersuchten retinalen Parameter unterschied sich signifikant zwischen Patienten und Kontrollen.

## 1.3.4 Zusammenhänge zwischen OCT-Parametern und MRT-Biomarkern

In der Untersuchung der CSVD-Subkohorte mittels Regressionsanalyse zeigte sich ein signifikanter Zusammenhang zwischen einem höheren WMRI und der Reduktion des pf.

nasalen (p = 0,033) und pf. inferioren (p = 0,026) IPL-Volumens, der MRW nasal (p = 0,044), nasal inferior (p = 0,030), temporal inferior (p= 0,017), im Bereich des PMB (p = 0,033) sowie nasal superior (p = 0,018) und der pRNFL temporal (p = 0,024) und im Bereich des PMB (p = 0,042) (Table 3, siehe Seite 36; Supplementary Table 1, siehe Seite 45 – 46). Eine Zunahme des fovealen OPL-Volumens war signifikant mit einem höheren WMRI assoziiert (p = 0,001). Unter Berücksichtigung des Alters in die Regressionsanalyse hing ein vergrößertes foveales OPL-Volumen (p = 0,002), eine Reduktion der MRW im nasal inferioren (p = 0,024) und temporal inferioren (p = 0,016) Sektor sowie eine Reduktion der RNFL-Dicke temporal (p = 0,007) und im Bereich des PMB (p = 0,005) mit einem höheren WMRI zusammen. In der multivariablen Regressionsanalyse unter Einschluss des Alters verblieben mittels Rückwärtselimination das foveale OPL-Volumen ( $\beta$  = 81,799; 95 %-Cl 21,927 – 141,671; p = 0.01), die temporale pRNFL-Dicke ( $\beta$  = 0,021; 95 %-Cl -0,039 – -0,002; p = 0,033) und das Alter ( $\beta$  = 0,032; 95 %-Cl 0,017 – 0,047; p < 0,001) in einem signifikanten Modell mit Zusammenhang zum WMRI.

Weite Bereiche der MRW (p < 0.035), die pRNFL-Dicke temporal (p = 0.016) und temporal superior (p = 0.043), die pf. nasale (p = 0.014) und pf. inferiore (p = 0.020) IPL sowie die foveale (p = 0,008) und pf. superiore (p = 0,009) OPL standen in unserer Analyse in einem signifikanten Zusammenhang zur NOL (Table 4, siehe Seite 37, Supplementary Table 2, siehe Seite 46 – 47). In der alters-korrigierten Analyse konnte ein signifikanter Zusammenhang zwischen der NOL und den Volumina der gesamten (p = 0,049), fovealen (p = 0.049) und pf. nasalen (p = 0.042) GCL, der pf. nasalen (p = 0.047) und pf. inferioren (p = 0.048) IPL, der fovealen OPL (p = 0.031) und der NOL festgestellt werden. Zudem waren große Anteile der MRW (p < 0.039) und die pRNFL-Dicke im temporalen (p=007), temporal superioren (p = 0.041) Sektor, im Verhältnis nasal zu temporal (p = 0.041) und im Bereich des PMB (p = 0,021) signifikant mit der NOL assoziiert. Die Rückwärtselimination multivariablen Regressionsanalyse der ergab unter Berücksichtigung des Alters ein Modell, in welchem das foveale GCL-Volumen (ß = -1266,561; 95 %-CI -1901,908 - -631,215; p < 0,001), die temporal-inferiore MRW ( $\beta$  = 0,111; 95%-CI  $-0,159 - -0,062; p < 0.001), die temporale MRW (<math>\beta = 0,057; 95$ %-CI 0,004

- 0,109; p = 0.037) und das Alter ( $\beta$  = 0.547; 95 %-Cl 0,349 - 0,746; p < 0,001) in signifikantem Zusammenhang zur NOL standen.

## 1.4 Diskussion

Mit dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass sich mithilfe der hochauflösende optischen Kohärenztomographie, als standardisierter und im klinischen Alltag etablierter Bildgebungsmethode, eine nicht-invasive und schnelle Möglichkeit zur Detektion von pathologischen Veränderungen bei Patienten mit zerebraler Mikroangiopathie bietet.

Bisherige Studien zur retinalen Bildgebung bei nicht-hereditärer zerebralen Mikroangiopathie beschränkten sich auf die Untersuchung vaskulärer Veränderungen bzw. Veränderungen der retinalen Nervenfaserschicht mittels Fundusfotographie und optischer Kohärenztomographie (Kim et al., 2011; Lee et al., 2020).

In der vorliegenden Arbeit wurden bei Patienten mit zerebraler Mikroangiopathie alle retinalen Schichten mittels optischer Kohärenztomographie untersucht und ausgewertet. Sowohl die strukturelle Analyse der Makula als auch der Papille zeigte signifikante Zusammenhänge zwischen dem Ausmaß der Läsionen der weißen Hirnsubstanz einerseits und den retinalen OCT-Parametern andererseits. Insbesondere die Bestimmung des Volumens der Ganglienzellschicht stellte dabei einen OCT-Parameter dar, welcher sich signifikant zwischen Patienten und gesunden Kontrollen unterschied. Interessanterweise stand ein vergrößertes Volumen der äußeren plexiformen Schicht im Zusammenhang mit einer größeren Menge an Läsionen der weißen Substanz, während bei anderen Netzhautschichten ein reduziertes Volumen mit einem vermehrten Auftreten an Läsionen der weißen Substanz assoziiert war.

Im Gegensatz zu den sonst beobachteten Verdünnungen oder Volumenabnahmen von Netzhautschichten wie der GCL oder der pRNFL, zeigte sich bei der OPL in dieser Studie ein signifikanter Zusammenhang zwischen einem größeren Volumen der OPL und einer höheren NOL sowie einem größeren WMRI. Ähnliche Veränderungen konnten auch bei Morbus Parkinson festgestellt werden (Chorostecki et al., 2015; Pilat et al., 2016). Andere Studien zu OPL-Veränderungen bei neurodegenerativen Erkrankungen wie Multiple Sklerose und Alzheimer zeigten eine Verdünnung oder keine Veränderung bei Patienten

im Vergleich zu Kontrollen (Petzold et al., 2010; Salobrar-García et al., 2019). Hingegen konnte gezeigt werden, dass sich bei Patienten mit neurodegenerativen Erkrankungen die innere und äußere Körnerschicht signifikant dicker darstellt als bei Kontrollen (Lambe et al., 2018). Die Autoren führen als mögliche Begründung entzündliche Prozesse an welche zur Schwellung dieser Schichten führen könnten. Weitere mögliche Erklärung wären ischämische Vorgänge, zelluläre Bewegung und Proteinablagerung (Chorostecki et al., 2015; Pilat et al., 2016; Salobrar-García et al., 2019). So konnte unter anderem bei diabetischer Retinopathie bedingt durch Ischämien eine signifikante Verdickung der OPL gezeigt werden (Reznicek et al., 2011).

Zwischen Patienten und Kontrollen konnte in unserer Studie kein Unterschied in der Dicke der peripapillären retinalen Nervenfaserschicht festgestellt werden. Dies stimmt mit den Ergebnissen von Lee et al. überein, welche ebenfalls keinen signifikanten Unterschied in der pRNFL-Dicke zwischen Patienten mit CSVD und Kontrollen fanden (Lee et al., 2020).

Bei Patienten mit zerebraler autosomal dominanter Arteriopathie mit subkortikalen Infarkten und Leukenzephalopathie (CADASIL), einer hereditären Form konnte eine Reduktion der RNFL-Dicke im Vergleich zu den Kontrollen nachgewiesen werden (Parisi et al., 2007; Rufa et al., 2010). Eine mögliche Erklärung für die unterschiedlichen Ergebnisse wäre, dass einige der eingeschlossenen CADASIL-Patienten schwerwiegendere Symptome wie migräneartige Episoden mit Aphasie oder auch Hemiparesen aufwiesen, welche mit deutlicheren pRNFL-Veränderungen einhergehen könnten. Die Probanden in unserer Studie waren hingegen weitgehend klinisch unauffällig und kognitiv nicht beeinträchtigt waren.

Zusätzlich zum Vergleich zwischen Patienten und Kontrollen haben wir einen Zusammenhang sowohl zwischen Läsionsanzahl, als auch Läsionsvolumen im Vergleich zum Hirnvolumen mittels Regressionsanalyse untersucht. Bei dieser Analyse zeigte sich ein signifikanter Zusammenhang zwischen der Abnahme der pRNFL-Dicke und einer Zunahme der WML. Kim et al. konnten Vergleichbares in einer großen koreanischen Populationsstudie feststellen. Hierbei wurden RNFL-Defekte mittels Fundusfotographie untersucht und ein signifikanter Zusammenhang zu Läsionen der weißen Substanz gefunden (Kim et al., 2011).

Eine Besonderheit unserer Studie war die Untersuchung der minimalen Randsaumbreite der Bruchmembranöffnung. Diese im Gerät implementierte Analysemethode guantifiziert objektiv den neuroretinalen Randsaum anhand des minimalsten Abstands zwischen dem Ende der Bruch'schen Membran und der Membrana limitans interna. Die Analyse erfolgt Berücksichtigung individueller anatomischer Gegebenheiten, indem unter ein Positionierungssystem die Lokalisation der Fovea und der Mitte der Bruchmembranöffnung erfasst und die Scans in Relation zur Achse zwischen diesen beiden Punkten setzt (Chen, 2009; Povazay et al., 2007). In der Glaukom-Diagnostik kommt dieser Analysemethode des Sehnervenkopfs immer mehr Bedeutung zu, da sie sich durch eine hohe Reproduzierbarkeit, gerade auch im Vergleich zur Bestimmung der pRNFL-Dicke, auszeichnet (Enders et al., 2018).

In dieser Studie fand sich ein signifikanter Zusammenhang zwischen der MRW und sowohl dem WMRI als auch der NOL. Da der Parameter der MRW in den bisherigen Studien für neurodegenerative Erkrankungen nicht etabliert ist, kann eine genauere Beurteilung der Ergebnisse nur über einen Vergleich zur pRNFL gezogen werden. Hier zeigte sich eine gute Vergleichbarkeit unserer Ergebnisse mit bisherigen Ergebnissen zu pRNFL-Veränderungen bei Multiple Sklerose, Alzheimer und Parkinson (Petzold et al., 2017; Thomson et al., 2015; Yu et al., 2014). Weitere Studien sind nötig, um diesen Parameter weiter zu prüfen und zu etablieren.

Sowohl im direkten Vergleich zwischen Patienten und Kontrollen, als auch im Zusammenhang mit dem Ausmaß der MRT-Veränderungen konnte eine Volumenreduktion der Ganglienzellschicht festgestellt werden. Diese steht im Einklang zu Beobachtungen bei anderen Ischämie-assoziierten Erkrankungen. So beschreibt die Arbeit von Aggarwal et al. eine signifikante Reduktion der Ganglienzellen bei Patienten mit chronischer nicht-arterieller anteriorer ischämischer Optikusneuropathie (Aggarwal et al., 2012). Ähnliche Ergebnisse zeigten Studien bei Diabetes mellitus und retinalem Venenverschluss (Lange et al., 2018; Shin et al., 2019). Der Rolle vaskulärer Faktoren in der Pathogenese vieler neurodegenerativer Erkrankungen wie Multiple Sklerose, Alzheimer und Parkinson konnte in den letzten Jahren immer mehr Bedeutung beigemessen werden (Fernández-Seara et al., 2012; Di Marco et al., 2015; Minagar und Alexander, 2003; Nelson et al., 2016; Ortiz et al., 2014; Syrimi et al., 2017). Auch hier zeigten sich in Studien signifikante Unterschiede in der GCL zwischen Patienten und Kontrollpersonen (Colligris et al., 2018; Doustar et al., 2017; Satue et al., 2018; Syc et al., 2012; Walter et al., 2012).

Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigten keine Unterschiede innerhalb des MoCA -Tests zwischen kranken und gesunden. Auch zeigten Patienten mit CSVD keine signifikanten kognitiven Beeinträchtigungen. Hier stellt sich die Frage, ob die von uns festgestellten Veränderungen in der optischen Kohärenztomographie noch vor kognitiven Veränderungen auftreten und so die OCT eine Möglichkeit der Früherkennung bieten könnte. Weitere Studien mit größerer Stichprobe und prospektivem Design sind nötig, um diesen Punkt zu prüfen.

Bislang ist diese Studie die erste, in der bei Patienten mit CSVD mittels OCT alle Netzhautschichten auf Veränderungen untersucht wurden. Weitere Besonderheiten unserer Studie waren das interdisziplinäre Setting mit gründlichem Screening auf gleichzeitig neurologische und okuläre Komorbiditäten, die Verwendung einer hochauflösenden MRT, eine vollständige ophthalmologische Beurteilung, die Verwendung modernster hochauflösender SD-OCT-Technologie, einschließlich neuartiger, für die Augenanatomie korrigierter Messwerte wie MRW, und die Verwendung einer standardisierten und veröffentlichten automatischen Bildanalyse sowohl für die MRT als auch für die OCT, welche eine hohe Reliabilität ermöglicht. Die Präsentation der Methodik orientiert sich an den ,APOSTEL 2.0 Recommendations for Reporting Quantitative Optical Coherence Tomography Studies', um eine weitere Vergleichbarkeit der Ergebnisse mit anderen Studien zu gewährleisten (Aytulun et al., 2021).

Unsere Studie basiert auf einer relativ kleinen Stichprobengröße, ohne Korrektur für multiples Testen, was als Einschränkung zu sehen ist. Der bestehende, jedoch nicht signifikante Altersunterschied zwischen Patienten und Kontrollen wurde mithilfe von Bildung altersadjustierter Paare ausgeglichen. Bedingt durch das klinische Setting, in welchem unsere MRT-Aufnahmen entstanden sind, wurden verschiedene MRT-Geräte und Sequenzen zur Quantifizierung der MRT-Läsionen verwendet. Dies könnte einen Einfluss auf die Vergleichbarkeit der einzelnen Volumina haben. Die Methode des Lesion Segmentation Tools in Kombination mit dem Lesion Prediction Algorithmus zur

21

Segmentierung von Läsionen der weißen Substanz zeigte in einer Studie mit multizentrischem Datensatz jedoch für genau solche Fälle gute Ergebnisse (Heinen et al., 2019).

Zwar könnten Ungenauigkeiten durch die Verwendung von 2D- statt 3D-Datensätzen für den LST-LPA entstanden sein, doch hat sich der LST-LPA bereits in 2D-Datensätzen als gültig und zuverlässig erwiesen (Guo et al., 2019; Gwo et al., 2019).

Eine weitere Einschränkung ist die zeitliche Verzögerung zwischen MR- und OCT-Aufnahmen, die zu einer Unterschätzung der Effektgröße geführt haben könnte, da die zerebralen CVSD-Läsionen in der Zwischenzeit zugenommen haben könnten.

Nicht-neurologische und nicht-okulare Komorbiditäten, die unsere Ergebnisse beeinflusst haben könnten, wurden nicht erfasst. Ein Patient hatte ein Meningeom, das keinen Einfluss auf die Auswertung des Fazekas-Scores oder auf die Segmentierung der Läsion hatte und vermutlich auch die OCT-Messungen aufgrund seiner Lokalisierung nicht beeinflusste. Der explorative Charakter unserer Studie legt nahe, die Ergebnisse in weiteren konfirmatorischen Studien mit größerer Probandenzahl und prospektivem Design, zu erhärten.

## 1.5 Zusammenfassung

In die Ergebnisse dieser Studie wurden 36 Augen von 27 Patienten mit zerebraler Mikroangiopathie und 9 Kontrollen eingeschlossen. Bei allen Probanden erfolgte eine Darstellung der Netzhautschichten mittels optischer Kohärenztomographie.

Es konnte gezeigt werden, dass - unabhängig vom Alter - signifikante Zusammenhänge zwischen strukturellen Parametern der optischen Kohärenztomograpie und bildgebungstechnischen Korrelaten der Erkrankung in der Magnetresonanztomographie bestehen. Diese Parameter könnten somit in Zukunft helfen, die Progression der Erkrankung zu beurteilen. Patienten mit zerebraler Mikroangiopathie zeigten zudem insbesondere eine signifikante Verdünnung der Ganglienzellschicht im Vergleich zu gesunden Kontrollen. Der hier erhobene Parameter der Ganglienzellschicht-Dicke bietet somit in Zukunft die Möglichkeit, als einfache, schnelle und nicht-invasive die Diagnostik und Verlaufskontrolle der zerebralen Mikroangiopathie zu unterstützen.

1.6 Literaturverzeichnis der deutschen Zusammenfassung

Aggarwal D, Tan O, Huang D, Sadun AA. Patterns of ganglion cell complex and nerve fiber layer loss in nonarteritic ischemic optic neuropathy by fourier-domain optical coherence tomography. Invest Ophthalmol Vis Sci 2012; 53: 4539–4545

Arnoldussen IA, Gustafson DR, Leijsen EM, Leeuw FE de, Kiliaan AJ. Adiposity is related to cerebrovascular and brain volumetry outcomes in the RUN DMC study. Neurology 2019; 93: e864-e878

Aumann S, Donner S, Fischer J, Müller F. Optical Coherence Tomography (OCT): Principle and Technical Realization. in: Bille, JF, Hrsg. High Resolution Imaging in Microscopy and Ophthalmology: New Frontiers in Biomedical Optics. Cham: Springer, 2019: 59-85

Aytulun A, Cruz-Herranz A, Aktas O, Balcer LJ, Balk L, Barboni P, Blanco AA, Calabresi PA, Costello F, Sanchez-Dalmau B, Debuc DC, Feltgen N, Finger RP, Frederiksen JL, Frohman E, Frohman T, Garway-Heath D, Gabilondo I, Graves JS, Green AJ, Hartung H-P, Havla J, Holz FG, Imitola J, Kenney R, Klistorner A, Knier B, Korn T, Kolbe S, Krämer J, Lagrèze WA, Leocani L, Maier O, Martínez-Lapiscina EH, Meuth S, Outteryck O, Paul F, Petzold A, Pihl-Jensen G, Preiningerova JL, Rebolleda G, Ringelstein M, Saidha S, Schippling S, Schuman JS, Sergott RC, Toosy A, Villoslada P, Wolf S, Yeh EA, Yu-Wai-Man P, Zimmermann HG, Brandt AU, Albrecht P. APOSTEL 2.0 Recommendations for Reporting Quantitative Optical Coherence Tomography Studies. Neurology 2021; 97: 68–79

Baker ML, Hand PJ, Wang JJ, Wong TY. Retinal signs and stroke: revisiting the link between the eye and brain. Stroke 2008; 39: 1371–1379

Cabrera DeBuc D, Gaca-Wysocka M, Grzybowski A, Kanclerz P. Identification of Retinal Biomarkers in Alzheimer's Disease Using Optical Coherence Tomography: Recent Insights, Challenges, and Opportunities. Journal of clinical medicine 2019; 8: 996

Cannistraro RJ, Badi M, Eidelman BH, Dickson DW, Middlebrooks EH, Meschia JF. CNS small vessel disease: A clinical review. Neurology 2019; 92: 1146–1156

Carson N, Leach L, Murphy KJ. A re-examination of Montreal Cognitive Assessment (MoCA) cutoff scores. Int J Geriatr Psychiatry 2018; 33: 379–388

Chen TC. Spectral Domain Optical Coherence Tomography in Glaucoma: Qualitative and Quantitative Analysis of the Optic Nerve Head and Retinal Nerve Fiber Layer (An AOS Thesis). Trans Am Ophthalmol Soc 2009; 107: 254–281

Chorostecki J, Seraji-Bozorgzad N, Shah A, Bao F, Bao G, George E, Gorden V, Caon C, Frohman E, Bhatti MT, Khan O. Characterization of retinal architecture in Parkinson's disease. J Neurol Sci 2015; 355: 44–48

Clancy U, Gilmartin D, Jochems ACC, Knox L, Doubal FN, Wardlaw JM. Neuropsychiatric symptoms associated with cerebral small vessel disease: a systematic review and metaanalysis. Lancet Psychiatry 2021; 8: 225–236

Colligris P, Jesus Perez De Lara, Maria, Colligris B, Pintor J. Ocular Manifestations of Alzheimer's and Other Neurodegenerative Diseases: The Prospect of the Eye as a Tool for the Early Diagnosis of Alzheimer's Disease. J Ophthalmol 2018; 2018: 8538573 Di Marco LY, Venneri A, Farkas E, Evans PC, Marzo A, Frangi AF. Vascular dysfunction in the pathogenesis of Alzheimer's disease - A review of endothelium-mediated mechanisms and ensuing vicious circles. Neurobiol Dis 2015; 82: 593–606

Doustar J, Torbati T, Black KL, Koronyo Y, Koronyo-Hamaoui M. Optical coherence tomography in Alzheimer's disease and other neurodegenerative diseases. Front Neurol. 2017; 8: 701

Enders P, Schaub F, Adler W, Hermann MM, Dletlein TS, Cursiefen C, Heindl LM. Bruch's membrane opening-based optical coherence tomography of the optic nerve head: A useful diagnostic tool to detect glaucoma in macrodiscs. Eye (Lond) 2018; 32: 314–323

Fang Y, Qin T, Liu W, Ran L, Yang Y, Huang H, Pan D, Wang M. Cerebral Small-Vessel Disease and Risk of Incidence of Depression: A Meta-Analysis of Longitudinal Cohort Studies. J Am Heart Assoc 2020; 9: e016512

Fazekas F, Chawluk JB, Alavi A, Hurtig HI, Zimmerman RA. MR signal abnormalities at 1.5 T in Alzheimer's dementia and normal aging. AJR Am J Roentgenol 1987; 149: 351–356

Fernández-Seara MA, Mengual E, Vidorreta M, Aznárez-Sanado M, Loayza FR, Villagra F, Irigoyen J, Pastor MA. Cortical hypoperfusion in Parkinson's disease assessed using arterial spin labeled perfusion MRI. NeuroImage 2012; 59: 2743–2750

Friston K. 1991. SPM - Statistical Parametric Mapping. Verfügbar unter https://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm/ (Zugriffsdatum: 17.06.2023)

Groot JC de, Leeuw F-E de, Oudkerk M, van Gijn J, Hofman A, Jolles J, Breteler MMB. Cerebral white matter lesions and cognitive function: The Rotterdam scan study. Ann Neurol 2000; 47: 145–151

Guo C, Niu K, Luo Y, Shi L, Wang Z, Zhao M, Wang D, Zhu W, Zhang H, Sun L. Intrascanner and inter-scanner reproducibility of automatic white matter hyperintensities quantification. Front Neurosci 2019; 13

Guo Z-N, Xing Y, Wang S, Ma H, Liu J, Yang Y. Characteristics of dynamic cerebral autoregulation in cerebral small vessel disease: Diffuse and sustained. Sci Rep 2015; 5: 15269

Gwo C-Y, Zhu DC, Zhang R. Brain White Matter Hyperintensity Lesion Characterization in T2 Fluid-Attenuated Inversion Recovery Magnetic Resonance Images: Shape, Texture, and Potential Growth. Front Neurosci 2019; 13: 353

Hachinski V, ladecola C, Petersen RC, Breteler MM, Nyenhuis DL, Black SE, Powers WJ, DeCarli C, Merino JG, Kalaria RN, Vinters HV, Holtzman DM, Rosenberg GA, Dichgans M, Marler JR, Leblanc GG. National Institute of Neurological Disorders and Stroke-Canadian Stroke Network vascular cognitive impairment harmonization standards. Stroke 2006; 37: 2220–2241

Heinen R, Steenwijk MD, Barkhof F, Biesbroek JM, van der Flier WM, Kuijf HJ, Prins ND, Vrenken H, Biessels GJ, Bresser J de, van den Berg E, Biessels GJ, Boomsma JM, Exalto LG, Ferro DA, Frijns CJ, Groeneveld ON, Heinen R, van Kalsbeek NM, Verwer JH, Kuijf HJ, Emmelot-Vonk ME, Koek HL, Benedictus MR, Bremer J, van der Flier WM, Leeuwis AE, Leijenaar J, Prins ND, Scheltens P, Tijms BM, Barkhof F, Wattjes MP, Teunissen CE, Koene T, Weinstein HC, Hamaker M, Faaij R, Pleizier M, Prins M, Vriens E. Performance of five automated white matter hyperintensity segmentation methods in a multicenter dataset. Sci Rep 2019; 9: 16742 Kern R, Kablau M, Sallustio F, Fatar M, Stroick M, Hennerici MG, Meairs S. Improved detection of intracerebral hemorrhage with transcranial ultrasound perfusion imaging. Cerebrovasc Dis 2008; 26: 277–283

Kim M, Park KH, Kwon JW, Jeoung JW, Kim TW, Kim DM. Retinal nerve fiber layer defect and cerebral small vessel disease. Invest Ophthalmol Vis Sci 2011; 52: 6882–6886

Kraft P, Schuhmann MK, Garz C, Jandke S, Urlaub D, Mencl S, Zernecke A, Heinze HJ, Carare RO, Kleinschnitz C, Schreiber S. Hypercholesterolemia induced cerebral small vessel disease. PLoS ONE 2017; 12: e0182822

Lambe J, Murphy OC, Saidha S. Can Optical Coherence Tomography Be Used to Guide Treatment Decisions in Adult or Pediatric Multiple Sclerosis? Curr Treat Options Neurol 2018; 20: 9

Lange J, Hadziahmetovic M, Zhang J, Li W. Region-specific ischemia, neovascularization and macular oedema in treatment-naïve proliferative diabetic retinopathy. Clin Exp Ophthalmol 2018; 46: 757–766

Lee JJY, Kim, Jaeho Jun Pyo Ji Sun, Jang H, Kang SH, Jung YH, Na DL, Seo SW, Oh SY, Kim HJ. Optical coherence tomography angiography as a potential screening tool for cerebral small vessel diseases. Alzheimers Res Ther 2020; 12: 73

Leeuw FE de, Groot JC de, Achten E, Oudkerk M, Ramos LM, Heijboer R, Hofman A, Jolles J, van Gijn J, Breteler MM. Prevalence of cerebral white matter lesions in elderly people: A population based magnetic resonance imaging study. The Rotterdam Scan Study. J Neurol Neurosurg Psychiatry 2001; 70: 9–14

Li Q, Yang Y, Reis C, Tao T, Li W, Li X, Zhang JH. Cerebral Small Vessel Disease. Cell Transplant 2018; 27: 1711–1722

London A, Benhar I, Schwartz M. The retina as a window to the brain - From eye research to CNS disorders. Nat Rev Neurol 2013; 9: 44–53

Maldjian JA, Whitlow CT, Saha BN, Kota G, Vandergriff C, Davenport EM, Divers J, Freedman BI, Bowden DW. Automated white matter total lesion volume segmentation in diabetes. AJNR Am J Neuroradiol 2013; 34: 2265–2270

Minagar A, Alexander JS. Blood-brain barrier disruption in multiple sclerosis. Mult Scler 2003; 9: 540–549

Moeskops P, Bresser J de, Kuijf HJ, Mendrik AM, Biessels GJ, Pluim JPW, Išgum I. Evaluation of a deep learning approach for the segmentation of brain tissues and white matter hyperintensities of presumed vascular origin in MRI. Neuroimage Clin 2018; 17: 251–262

Nasreddine ZS, Phillips NA, BÃÃ\textcopyrightrie, Charbonneau S, Whitehead V, Collin I, Cummings JL, Chertkow H. The Montreal Cognitive Assessment, MoCA: A Brief Screening Tool For Mild Cognitive Impairment. J Am Geriatr Soc 2005; 53: 695–699

Nelson AR, Sweeney MD, Sagare AP, Zlokovic BV. Neurovascular dysfunction and neurodegeneration in dementia and Alzheimer's disease. Biochim Biophys Acta 2016; 1862: 887–900

Ortiz GG, Pacheco-Moisés FP, Macías-Islas MÁ, Flores-Alvarado LJ, Mireles-Ramírez MA, González-Renovato ED, Hernández-Navarro VE, Sánchez-López AL, Alatorre-

Jiménez MA. Role of the Blood-Brain Barrier in Multiple Sclerosis. Arch Med Res 2014; 45: 687–697

Pantoni L. Cerebral small vessel disease: from pathogenesis and clinical characteristics to therapeutic challenges. Lancet Neurol 2010; 9: 689–701

Parisi V, Pierelli F, Coppola G, Restuccia R, Ferrazzoli D, Scassa C, Bianco F, Parisi L, Fattapposta F. Reduction of optic nerve fiber layer thickness in CADASIL. Eur J Neurol 2007; 14: 627–631

Patton N, Aslam T, MacGillivray T, Pattie A, Deary IJ, Dhillon B. Retinal vascular image analysis as a potential screening tool for cerebrovascular disease: A rationale based on homology between cerebral and retinal microvasculatures. J Anat 2005; 206: 319–348

Petzold A, Balcer L, Calabresi PA, Costello F, Frohman T, Frohman E, Martinez-Lapiscina EH, Green A, Kardon R, Outteryck O, Paul F, Schippling S, Vermersch P, Villoslada P, Balk L, Aktas O, Albrecht P, Ashworth J, Asgari N, Black G, Boehringer D, Behbehani R, Benson L, Bermel R, Bernard J, Brandt A, Burton J, Calkwood J, Cordano C, Courtney A, Cruz-Herranz A, Diem R, Daly A, Dollfus H, Fasser C, Finke C, Frederiksen J, Garcia-Martin E, Suárez IG, Pihl-Jensen G, Graves J, Havla J, Hemmer B, Huang SC, Imitola J, Jiang H, Keegan D, Kildebeck E, Klistorner A, Knier B, Kolbe S, Korn T, LeRoy B, Leocani L, Leroux D, Levin N, Liskova P, Lorenz B, Preiningerova JL, Martínez-Lapiscina EH, Mikolajczak J, Montalban X, Morrow M, Nolan R, Oberwahrenbrock T, Oertel FC, Oreja-Guevara C, Osborne B, Papadopoulou A, Ringelstein M, Saidha S, Sanchez-Dalmau B, Sastre-Garriga J, Shin R, Shuey N, Soelberg K, Toosy A, Torres R, Vidal-Jordana A, Waldman A, White O, Yeh A, Wong S, Zimmermann H. Retinal layer segmentation in multiple sclerosis: a systematic review and meta-analysis. Lancet Neurol 2017; 16: 797–812

Petzold A, Boer JF de, Schippling S, Vermersch P, Kardon R, Green A, Calabresi PA, Polman C. Optical coherence tomography in multiple sclerosis: A systematic review and meta-analysis. Lancet Neurol 2010; 9: 921–932

Pilat A, McLean RJ, Proudlock FA, Maconachie GDE, Sheth V, Rajabally YA, Gottlob I. In Vivo Morphology of the Optic Nerve and Retina in Patients With Parkinson's Disease. Invest Ophthalmol Vis Sci 2016; 57: 4420–4427

Pinto TCC, Machado L, Bulgacov TM, Rodrigues-Júnior AL, Costa MLG, Ximenes RCC, Sougey EB. Is the Montreal Cognitive Assessment (MoCA) screening superior to the Mini-Mental State Examination (MMSE) in the detection of mild cognitive impairment (MCI) and Alzheimer's Disease (AD) in the elderly? Int Psychogeriatr 2019; 31: 491–504

Povazay B, Hofer B, Hermann B, Unterhuber A, Morgan JE, Glittenberg C, Binder S, Drexler W. Minimum distance mapping using three-dimensional optical coherence tomography for glaucoma diagnosis. J Biomed Opt 2007; 12: 41204

Rensma SP, van Sloten TT, Launer LJ, Stehouwer CD. Cerebral small vessel disease and risk of incident stroke, dementia and depression, and all-cause mortality: A systematic review and meta-analysis. Neurosci Biobehav Rev 2018; 90: 164–173

Reznicek L, Kernt M, Haritoglou C, Kampik A, Ulbig M, Neubauer AS. In vivo characterization of ischemic retina in diabetic retinopathy. Clin Ophthalmol 2011; 5: 31–35

Rufa A, Pretegiani E, Frezzotti P, Stefano N de, Cevenini G, Dotti MT, Federico A. Retinal nerve fiber layer thinning in CADASIL: An optical coherence tomography and MRI study. Cerebrovasc Dis 2010; 31: 77–82

Salobrar-García E, Hoz R de, Ramírez AI, López-Cuenca I, Rojas P, Vazirani R, Amarante C, Yubero R, Gil P, Pinazo-Durán MD, Salazar JJ, Ramírez JM. Changes in visual function and retinal structure in the progression of Alzheimer's disease. PLoS ONE 2019; 14

Satue M, Obis J, Alarcia R, Orduna E, Rodrigo MJ, Vilades E, Gracia H, Otin S, Fuertes MI, Polo V, Larrosa JM, Pablo LE, Garcia-Martin E. Retinal and Choroidal Changes in Patients with Parkinson's Disease Detected by Swept-Source Optical Coherence Tomography. Curr Eye Res 2018; 43: 109–115

Schmidt P. 2017. Bayesian inference for structured additive regression models for largescale problems with applications to medical imaging. Verfügbar unter https://edoc.ub.unimuenchen.de/20373/1/Schmidt\_Paul.pdf (Zugriffsdatum: 03.09.2023)

Schmidt P. 2022. LST : A lesion segmentation tool for SPM. Verfügbar unter https://www.statistical-modelling.de/lst.html (Zugriffsdatum: 17.06.2023)

Schmidt P, Gaser C, Arsic M, Buck D, Förschler A, Berthele A, Hoshi M, Ilg R, Schmid VJ, Zimmer C, Hemmer B, Mühlau M. An automated tool for detection of FLAIRhyperintense white-matter lesions in Multiple Sclerosis. NeuroImage 2012; 59: 3774–3783

Shi Y, Wardlaw JM. Update on cerebral small vessel disease: a dynamic whole-brain disease. Stroke Vasc Neurol 2016; 1: 83–92

Shin YI, Nam KY, Lee SE, Lim HB, Lee MW, Jo YJ, Kim JY. Changes in peripapillary microvasculature and retinal thickness in the fellow eyes of patients with unilateral retinal vein occlusion: An OCTA study. Invest Ophthalmol Vis Sci 2019; 60: 823–829

Syc SB, Saidha S, Newsome SD, Ratchford JN, Levy M, Ford E, Crainiceanu CM, Durbin MK, Oakley JD, Meyer SA, Frohman EM, Calabresi PA. Optical coherence tomography

segmentation reveals ganglion cell layer pathology after optic neuritis. Brain 2012; 135: 521–533

Syrimi ZJ, Vojtisek L, Eliasova I, Viskova J, Svatkova A, Vanicek J, Rektorova I. Arterial spin labelling detects posterior cortical hypoperfusion in non-demented patients with Parkinson's disease. J Neural Transm (Vienna) 2017; 124: 551–557

Thompson CS, Hakim AM. Living beyond our physiological means: Small vessel disease of the brain is an expression of a systemic failure in arteriolar function: A unifying hypothesis. Stroke 2009; 40: e322-e330

Thomson KL, Yeo JM, Waddell B, Cameron JR, Pal S. A systematic review and metaanalysis of retinal nerve fiber layer change in dementia, using optical coherence tomography. Alzheimers Dement (Amst) 2015; 1: 136–143

Turski GN, Schmitz-Valckenberg S, Holz FG, Finger RP. Retinal imaging of the macula and optic disc in neurodegenerative diseases. Ophthalmologe 2017; 114: 114–119

van der Flier WM, van Straaten EC, Barkhof F, Verdelho A, Madureira S, Pantoni L, Inzitari D, Erkinjuntti T, Crisby M, Waldemar G, Schmidt R, Fazekas F, Scheltens P. Small vessel disease and general cognitive function in nondisabled elderly: The LADIS study. Stroke 2005; 36: 2116–2120

van Dijk EJ, Prins ND, Vrooman HA, Hofman A, Koudstaal PJ, Breteler MM. Progression of cerebral small vessel disease in relation to risk factors and cognitive consequences: Rotterdam scan study. Stroke 2008; 39: 2712–2719

Walter SD, Ishikawa H, Galetta KM, Sakai RE, Feller DJ, Henderson SB, Wilson JA, Maguire MG, Galetta SL, Frohman E, Calabresi PA, Schuman JS, Balcer LJ. Ganglion

cell loss in relation to visual disability in multiple sclerosis. Ophthalmology 2012; 119: 1250–1257

Wardlaw JM, Smith C, Dichgans M. Mechanisms of sporadic cerebral small vessel disease: Insights from neuroimaging. Lancet Neurol 2013; 12: 483–497

Waymont JMJ, Petsa C, McNeil CJ, Murray AD, Waiter GD. Validation and comparison of two automated methods for quantifying brain white matter hyperintensities of presumed vascular origin. J Int Med Res 2020; 48: 300060519880053

Wirth AM, Johannesen S, Khomenko A, Baldaranov D, Bruun TH, Wendl C, Schuierer G, Greenlee MW, Bogdahn U. Value of fluid-attenuated inversion recovery MRI data analyzed by the lesion segmentation toolbox in amyotrophic lateral sclerosis. J Magn Reson Imaging 2019; 50: 552–559

Yu JG, Feng YF, Xiang Y, Huang JH, Savini G, Parisi V, Yang WJ, Fu X an. Retinal nerve fiber layer thickness changes in Parkinson disease: A meta-analysis. PLoS ONE 2014; 9: e85718

# scientific reports



# OPEN Structural retinal changes in cerebral small vessel disease

S. Magdalena Langner<sup>1,7</sup>, Jan H. Terheyden<sup>1,7</sup>, Clara F. Geerling<sup>1</sup>, Christine Kindler<sup>2,3</sup>, Vera C. W. Keil<sup>4</sup>, Christopher A. Turski<sup>1,3</sup>, Gabrielle N. Turski<sup>1,3</sup>, Charlotte Behning<sup>5</sup>, Maximilian W. M. Wintergerst<sup>1</sup>, Gabor C. Petzold<sup>2,3,6,8</sup> & Robert P. Finger<sup>1,8</sup>

Cerebral small vessel disease (CSVD) is an important contributor to cognitive impairment and stroke. Previous research has suggested associations with alterations in single retinal layers. We have assessed changes of all individual retinal layers in CSVD using high-resolution optical coherence tomography (OCT) for the first time. Subjects with recent magnetic resonance imaging (MRI) underwent macular and peripapillary retinal imaging using OCT for this case–control study. Number and volume ratio index (WMRI) of white matter lesions (WML) were determined on MRI. Data were analyzed using multiple linear regression models. 27 CSVD patients and 9 control participants were included. Ganglion cell layer (GCL) volume was significantly reduced in patients with CSVD compared to age-matched controls (p = 0.008). In patients with CSVD, larger foveal outer plexiform layer (OPL) volume and decreased temporal peripapillary retinal nerve fiber layer (RNFL) thickness were significantly associated with a higher WMRI in linear regression when controlling for age ( $p \le 0.033$ ). Decreased foveal GCL volume and temporal-inferior RNFL thickness at Bruch's membrane opening (MRW), and increased temporal MRW were associated with a higher WML burden ( $p \le 0.037$ ). Thus, we identified alterations in several OCT layers in individuals with CSVD (GCL, OPL, MRW and RNFL). Their potential diagnostic value merits further study.

#### Abbreviations

BMO	Bruch's membrane opening
CADASIL	Cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy
CSVD	Cerebral small vessel disease
FLAIR	Fluid-attenuated inversion recovery
GCL	Ganglion cell layer
INL	Inner nuclear layer
IPL	Inner plexiform layer
LPA	Lesion prediction algorithm
MoCA	Montreal cognitive assessment
MRW	Bruch's membrane opening-minimum rim width
NOL	Number of white matter lesions
OCT	Optical coherence tomography
ONL	Outer nuclear layer
OPL	Outer plexiform layer
PMB	Papillo-macular bundle
pRNFL	Peripapillary retinal nerve fiber layer
ROC	Receiver operating characteristic
RPE	Retinal pigment epithelium
TIV	Total intracranial volume
WML	White matter lesions
WMRI	White matter lesions volume ratio index

<sup>1</sup>Department of Ophthalmology, University Hospital Bonn, Ernst-Abbe-Str. 2, 53127 Bonn, Germany. <sup>2</sup>Department of Neurology, University Hospital Bonn, Bonn, Germany. <sup>3</sup>German Center for Neurodegenerative Diseases (DZNE), Bonn, Germany. <sup>4</sup>Department of Radiology, Amsterdam UMC, Location VUmc, De Boelelaan 1117, 1081 HV Amsterdam, The Netherlands. <sup>5</sup>Institute of Biomedical Statistics, Computer Science and Epidemiology, University Hospital Bonn, Bonn, Germany. <sup>6</sup>Division of Vascular Neurology, University Hospital Bonn, Bonn, Germany. <sup>7</sup>These authors contributed equally: S. Magdalena Langner and Jan H. Terheyden. <sup>8</sup>These authors jointly supervised this work: Gabor C. Petzold and Robert P. Finger. <sup>ESE</sup>email: robert.finger@ukbonn.de

	Total	CSVD	controls	Age matched CSVD	P1*	P2*
Gender (m/f)	15/21	12/15	3/6	4/5	0.641	0.730
MRI (1.5 T/3 T)	22/14	17/10	5/4	6/3	0.747	0.730
Fazekas (score 0/1/2/3)	9/14/10/3	0/14/10/3	9/0/0/0	0/5/4/0		
Fazekas (median; IQR)	1; 2	1;1	0;0	1; 1	< 0.001	< 0.001
Age (years)	63±10	65±11	57±5	$57\pm4$	0.073	1.000
MoCA	25±4	25±4	25±3	26±3	0.971	0.436
Cognitively impaired <sup>49</sup>	19%	22%	11%	11%		
WMRI	$0.408 \pm 0.663$	$0.536 \pm 0.724$	$0.025 \pm 0.027$	$0.232 \pm 0.292$	< 0.001	0.006
NOL	14±9	17±9	6±6	13±9	< 0.001	0.031
Total retina volume (mm <sup>3</sup> )	$2.32\pm0.01$	$2.31 \pm 0.11$	$2.36\pm0.07$	$2.31 \pm 0.08$	0.101	0.136

35

**Table 1.** Demographic variables and imaging parameters of patients and controls. Values are mean  $\pm$  SD and the volume of the retina corresponds to the foveal and parafoveal volumes (3-mm-circle). \*Mann–Whitney-Utest was performed to compare the groups. P1, comparison between all patients and controls; P2, comparison between age matched patients and control. Significant results (p < 0.05) are displayed in bold. CSVD, patients with cerebral small vessel disease; MRI, device used for MRI imaging; 1.5 T, Philips Ingenia 1.5 T; 3 T, Achieva TX 3 T, m, male; f, female; Fazekas, Fazekas score; IQR, interquartile range; MoCA, Montreal Cognitive Assessment; WMRI, white matter lesions volume ratio index; NOL, number of white matter lesions.

.....

Cerebral small vessel disease (CSVD) is associated with hypertension, hypercholesterolemia and obesity and a risk factor for stroke, vascular cognitive impairment and depression, thus contributing considerably to global mortality<sup>1-3</sup>. It is characterized by narrowing of the vessel lumen and failure of vascular autoregulation<sup>3</sup>. CSVD can be clinically silent, but is commonly associated with a decline in cognitive function with disease progression<sup>4-6</sup>. The lifetime probability to develop CSVD is substantial. For example, only 8% of the elderly general population in the Rotterdam study had no magnetic resonance imaging (MRI) changes suggestive of CSVD<sup>2</sup>. Prevalence data from other sources are similarly high<sup>7</sup>.

Cerebral small vessels are difficult to assess using even high-resolution MRI. Thus, diagnostic markers used are downstream cerebral changes caused by the resulting ischemia including periventricular and subcortical white matter lesions (WML) which can be detected and quantified on MRI<sup>8,9</sup>. Further diagnostic procedures include neuropsychological and neurological tests, doppler-sonography and computer tomography which are primarily used to evaluate the clinical impact of CSVD<sup>6,8,10</sup>. In addition, several contraindications preclude MRI in a considerable number of patients.

The retina is much easier accessible for imaging and allows for the non-invasive, high-resolution assessment of neuronal tissue using e.g. optical coherence tomography (OCT)<sup>11,12</sup>. Given the common embryological origin and the common blood supply of both organs through the internal carotid artery, one might expect changes in the retina in CSVD and in fact, peripapillary retinal nerve fiber layer (pRNFL) thickness was found to be decreased in patients with a hereditary form of CSVD<sup>13,14</sup>. Furthermore, defects of the RNFL appeared to be associated with WML on fundus photographs<sup>15</sup>.

Therefore, we here assessed the association of WML on MRI with structural OCT parameters and provide information on the extend and characteristics of macular and optic disc changes in all retinal layers in CSVD to identify markers, which might help to detect this disease at an earlier stage.

#### Results

36 eyes of 36 participants (27 participants with CSVD and 9 controls) were included in the analysis (Table 1). After screening of 62 individuals initially, 26 subjects were excluded due to retinal pathology (n = 18 subjects), age (n = 7 controls could not be age-matched within 5 years to patients), cerebral WML other than CSVD (n = 1) and poor OCT image quality (n = 2 scans). 19% of our participants were classified as cognitively impaired. 14 participants (39%) were imaged with a 1.5 T MRI device and 22 participants (61%) with 3 T MRI device (Table 1).

As expected, patients with CSVD had significantly more WML (p < 0.001) and higher WML volume ratio index (WMRI) (p < 0.0001) compared to control participants. However, the patient group was noticeably older than the control group which is why we performed an age-matched subgroup analysis (see below). The ganglion cell layer (GCL) volume was significantly lower in patients with CSVD compared to controls ( $0.31 \pm 0.04$  versus  $0.34 \pm 0.02$ , p = 0.032). Neither the other OCT parameters nor the Montreal Cognitive Assessment (MoCA) score were significantly different between patients and controls. In the receiver operating characteristic (ROC) analysis, the GCL volume was significantly associated with CSVD disease status (AUC 0.743; 95%-CI 0.578, 0.908; after adjusting for age: AUC 0.790; 95%-CI 0.641, 0.939). The MoCA-score was not associated with presence of CSVD (AUC 0.506; 95%-CI, 0.302, 0.701).

**Age-matched cases and controls.** In a subgroup analysis of age-matched CSVD cases (Fazekas > 0) with controls (Fazekas = 0; see Table 1) we found that GCL volume was significantly reduced in patients with CSVD compared to age-matched controls (Table 2). In the analysis of the individual retinal sectors, the parafoveal nasal, inferior and superior volumes of the GCL were significantly reduced in CSVD compared to controls (Table 2).

#### www.nature.com/scientificreports/

Parameter	Controls	CSVD	P*
GCL (mm <sup>3</sup> )	$0.34 \pm 0.02$	$0.30 \pm 0.02$	0.008
Foveal	$0.01 \pm 0.00$	$0.01 \pm 0.00$	0.730
Pf. nasal	$0.08 \pm 0.01$	$\boldsymbol{0.07\pm0.00}$	0.014
Pf. inferior	$0.08 \pm 0.01$	$0.07 \pm 0.01$	0.019
Pf. temporal	$0.08 \pm 0.00$	$0.07 \pm 0.01$	0.063
Pf. superior	$0.08 \pm 0.00$	$0.07 \pm 0.01$	0.011
IPL (mm <sup>3</sup> )	$0.28 \pm 0.02$	$0.27 \pm 0.02$	0.094
INL (mm <sup>3</sup> )	$0.27 \pm 0.02$	$0.27 \pm 0.02$	1.00
OPL (mm <sup>3</sup> )	$0.22 \pm 0.06$	$0.20 \pm 0.02$	0.340
ONL (mm <sup>3</sup> )	$0.51 \pm 0.06$	$0.55 \pm 0.03$	0.094
RPE (mm <sup>3</sup> )	$0.11 \pm 0.02$	$0.10 \pm 0.02$	0.387
pRNFL (µm)	75±6	72±4	0.222
MRW (µm)	$341\pm 66$	$333 \pm 65$	0.796

**Table 2.** Comparison of structural retinal parameters between patients with cerebral small vessel disease and age-matched controls. Values are mean  $\pm$  SD and the volumes of the macular layers correspond to the foveal and parafoveal volumes (3-mm-circle). \*Mann–Whitney-U-test was performed to compare the two groups. Significant results (p < 0.05) are displayed in bold. CSVD, patients with cerebral small vessel disease; GCL, ganglion cell layer; pf., parafoveal; IPL, inner plexiform layer; INL, inner nuclear layer; OPL, outer plexiform layer; ONL, outer nuclear layer; RPE, retinal pigment epithelium; pRNFL, peripapillary retinal nerve fiber layer; MRW, Bruch's membrane opening-minimum rim width.

	WMRI association		WMRI association, age adju	WMRI association, age adjusted		
Structural retinal parameter	β [95%-CI]	p	β [95%-CI]	p		
IPL						
Pf. nasal	-45.261 [-86.436, -4.085]	0.033	-27.364 [-61.017, 6.289]	0.106		
Pf. inferior	-31.918 [-59.769, -4.068]	0.026	-21.373 [-43.621, 0.874]	0.059		
OPL						
Foveal	137.950 [62.956, 212.944]	0.001	101.841 [40.874, 162.808]	0.002		
pRNFL						
Temporal	-0.032 [-0.060, -0.005]	0.024	-0.029 [-0.049, -0.009]	0.007		
РМВ	-0.038 [-0.075, -0.001]	0.042	-0.039 [-0.064, -0.013]	0.005		
MRW						
Nasal	-0.003 [-0.007, 0.000]	0.044	-0.002 [-0.005, 0.001]	0.234		
Nasal inferior	-0.004 [-0.007, 0.000]	0.030	-0.003 [-0.005, 0.000]	0.024		
Temporal inferior	-0.004 [-0.008, -0.001]	0.017	-0.003 [-0.006, -0.001]	0.016		
РМВ	-0.004 [-0.007, 0.000]	0.033	-0.002 [-0.005, 0.001]	0.209		
Nasal superior	-0.004 [-0.007, -0.001]	0.018	-0.002 [-0.005, 0.000]	0.087		

**Table 3.** Results of linear regression of structural retinal parameters and white matter lesions volume ratio index in patients with cerebral small vessel disease. Associations between retinal parameters and WMRI were assessed using linear regression. Model 1: univariate regression, Model 2: multivariable regression adjusted for age. Significant associations (p < 0.05) are displayed in bold. In this table, only parameters are listed with a p value < 0.05 in at least one linear regression model. Further results are listed in the supplement. The volumes of the macular layers correspond to the foveal and parafoveal volumes (3-mm-circle). WMRI, white matter lesions volume ratio index;  $\beta$ , standardized coefficient; CI, confidence interval; IPL, inner plexiform layer; pf., parafoveal; OPL, outer plexiform layer; pRNFL, peripapillary retinal nerve fiber layer; PMB, papillo-macular bundle; MRW, Bruch's membrane opening-minimum rim width.

Associations of MRI biomarkers with OCT parameters. In a subgroup analysis of CSVD cases only, the WMRI was associated with an increase in volume of the foveal outer plexiform layer (OPL). A decrease of the inner plexiform layer (IPL), the pRNFL and Bruch's membrane opening-minimum rim width (MRW) were significantly associated with a higher WMRI (Table 3 and Supplementary Table 1). After adjusting for age, an increase in the foveal OPL and a decrease in the peripapillary MRW and pRNFL were significantly associated with a higher WMRI (Table 3 and Supplementary Table 1). In age-adjusted multivariable linear regression using backward elimination, foveal OPL volume ( $\beta$  = 81.799; 95%-CI 21.927, 141.671; *p* = 0.01), temporal pRNFL

	NOL association	NOL association, age adjusted		
Structural retinal parameter	β [95%-CI]	p	β [95%-CI]	p
Total retina				
Pf. superior	-159.270 [-316.458, -2.082]	0.047	-99.825 [-243.197, 43.547]	0.164
GCL				
Total volume	-72.052 [-159.997, 15.894]	0.104	-72.245 [-144.055, -0.435]	0.049
Foveal	- 591.667 [- 1671.649, 488.315]	0.270	-874.843 [-1743.724, -5.961]	0.049
Pf. nasal	-269.435 [-635.884, 97.014]	0.142	- 306.899 [- 602.325, - 11.473]	0.042
IPL				
Pf. nasal	-693.590 [-1237.220, -149.959]	0.014	-500.646 [-993.331, -7.961]	0.047
Pf. inferior	-452.976 [-827.535, -78.417]	0.020	-336.222 [-668.912, -3.533]	0.048
OPL				
Foveal	1550.000 [442.428, 2657.572]	0.008	1129.675 [112.316, 2147.033]	0.031
Pf. superior	412.534[110.271, 714.797]	0.009	268.754 [-25.311, 562.819]	0.071
ONL	·			
Pf. superior	-325.122 [-557.611, -92.634]	0.008	-173.958 [-433.211, 85.294]	0.179
pRNFL				
N/T	15.701 [-2.940, 34.341]	0.095	15.711 [0.737, 30.685]	0.041
Temporal	-0.475 [-0.853, -0.097]	0.016	-0.432 [-0.736, -0.128]	0.007
РМВ	-0.481 [-0.993, 0.030]	0.064	-0.487 [-0.893, -0.081]	0.021
Temporal superior	-0.226 [-0.443, -0.008]	0.043	-0.189 [-0.371, -0.008]	0.041
MRW	·			
Total	-0.074 [-0.128, -0.020]	0.009	-0.055 [-0.103, -0.007]	0.027
Nasal	-0.068 [-0.110, -0.026]	0.003	-0.050 [-0.089, -0.010]	0.016
Nasal inferior	-0.067 [-0.108, -0.026]	0.002	-0.059 [-0.092, -0.026]	0.001
Temporal inferior	-0.076 [-0.120, -0.031]	0.002	-0.065 [-0.101, -0.028]	0.001
Temporal	-0.067 [-0.116, -0.019]	0.009	-0.048 [-0.092, -0.003]	0.039
РМВ	-0.063 [-0.107, -0.018]	0.008	-0.042 [-0.085, 0.000]	0.050
Temporal superior	-0.054 [-0.105, -0.004]	0.035	-0.039 [-0.083, 0.006]	0.085
Nasal superior	-0.065 [-0.109, -0.020]	0.006	-0.046 [-0.087, -0.005]	0.029

**Table 4.** Results of linear regression of structural retinal parameters and number of white matter lesions in patients with cerebral small vessel disease. Associations between retinal parameters and NOL were assessed using linear regression. Model 1: univariate regression, Model 2: multivariable regression adjusted for age; significant associations (p < 0.05) are displayed in bold. In this table, only parameters are listed with a p value < 0.05 in at least one linear regression model. Further results are listed in the supplement. The volumes of the macular layers correspond to the foveal and parafoveal volumes (3-mm-circle). NOL, number of white matter lesions;  $\beta$ , standardized coefficient; CI, confidence interval; pf., parafoveal; GCL, ganglion cell layer; IPL, inner plexiform layer; OPL, outer plexiform layer; ONL, outer nuclear layer; pRNFL, peripapillary retinal nerve fiber layer; N/T, ratio nasal to temporal; PMB, papillo-macular bundle; MRW, Bruch's membrane opening-minimum rim width.

thickness ( $\beta$ =-0.021; 95%-CI -0.039, -0.002; *p*=0.033) and age ( $\beta$ =0.032; 95%-CI 0.017, 0.047; *p*<0.001) remained associated with WMRI.

Most of the peripapillary MRW-locations and both peripapillary (pRNFL) and macular layers (IPL, outer nuclear layer, OPL) were significantly associated with the number of WML (NOL) (Table 4 and Supplementary Table 2). After adjusting for age, GCL, IPL and OPL volumes as well as MRW and pRNFL thickness were significantly associated with NOL (Table 4 and Supplementary Table 2). In stepwise multivariate linear regression foveal GCL volume ( $\beta = -1266.561$ ; 95%-CI – 1901.908, -631.215; p < 0.001), temporal inferior MRW ( $\beta = -0.111$ ; 95%-CI – 0.062; p < 0.001), temporal MRW ( $\beta = 0.057$ ; 95%-CI 0.004, 0.109; p = 0.037) and age ( $\beta = 0.547$ ; 95%-CI 0.349, 0.746; p < 0.001) remained associated with NOL.

#### Discussion

In this study we found that peripapillary and macular OCT parameters, most prominently the GCL, were associated with both the extent of CSVD lesions on MRI as well as reduced in comparison to controls without CSVD. These results support a relationship of retinal structural parameters and cerebral changes in CSVD and may be useful in the detection and staging of CSVD. Further studies are needed to better characterize this relationship.

Our findings are in agreement with published studies. Aggarwal et al. reported a significant reduction of ganglion cells in patients with chronic non-arteritic anterior ischemic optic neuropathy<sup>16</sup>. This is consistent with the observation of GCL reduction in other diseases associated with ischemia like diabetes and retinal vein

occlusion<sup>17,18</sup>. Vascular factors also play an important role in the pathogenesis of many neurodegenerative diseases such as multiple sclerosis, Alzheimer's disease and Parkinson's disease, in all of which a significant GCL difference between cases and controls has been described<sup>19–29</sup>. Nevertheless, the use of retinal GCL volume as a biomarker in CSVD needs to be investigated in further studies.

Interestingly, we found an OPL volume increase in association with a higher WMRI and a higher NOL. OPL thickening could be found as well in two studies which compared patients with Parkinson's disease to controls<sup>30,31</sup>. Other studies could not confirm this finding<sup>32,33</sup>. In multiple sclerosis and Alzheimer's disease, the OPL has been reported to be decreased or unchanged in patients compared to controls, whereas other layers like the inner and outer nuclear layer have been reported to be significantly thicker in patients with neurodegenerative disease<sup>34–36</sup>. Explanations offered for increases in thickness or volume include local inflammation, ischemia and cellular movements<sup>35</sup>. Ischemia has been demonstrated to lead to a significantly thickened OPL in diabetic retinopathy<sup>37</sup>.

The absence of any difference in pRNFL thickness between patients and controls in our study is in contrast to two studies which investigated patients with Cerebral Autosomal Dominant Arteriopathy with Subcortical Infarcts and Leukoencephalopathy (CADASIL) and reported RNFL thickness to be reduced compared to controls<sup>13,14</sup>. Some of the included CADASIL-patients showed more severe symptoms such as migraine-like episodes with aphasia and hemiparesis<sup>13</sup>. This may explain our different results as patients and controls were largely clinically silent and not cognitively affected in our study. However our results on pRNFL measurements are in agreement with a recent study of Lee et al. on vascular changes in CSVD patients who did not find any differences between cases and controls<sup>38</sup>. In addition to Lee et al., we also investigated structural retinal parameters and found a significant association between the decrease of pRNFL thickness and an increase of WML. Similar results were obtained in a Korean study, which could demonstrate associations between white matter lesions and RNFL defects visible on fundus photographs in a large population<sup>15</sup>. Using MRW, which quantifies pRNFL thickness whilst taking local anatomic conditions (i.e. Bruch's Membrane Opening, BMO) into account, we found significant associations with both WMRI and the NOL which were in keeping with expectations for pRNFL thickness based on published literature<sup>36,39,40</sup>. MRW is not widely used yet, but promises to be a useful parameter with theoretically better reproducibility compared to pRNFL thickness<sup>41</sup>.

The strengths of this study include the thorough screening for concurrent neurological or ocular comorbidities, the use of high-resolution MRI, a complete ophthalmic assessment, the use of state-of-the-art high-resolution SD-OCT imaging including novel read-outs corrected for ocular anatomy such as MRW and the use of standardized and published automated image analysis for both MRI and OCT. To date, this study is the first to investigate structural retinal changes considering all layers assessed by OCT in patients with CSVD after few studies assessed single-layer structural changes or structural and flow changes within the retinal vasculature<sup>38,42-44</sup>. The limitations of our study include foremost its relatively small sample size. As our study was designed as an exploratory study, confirmatory studies with larger sample sizes are needed. Different MRI devices and sequences were used in a clinical routine setting due to different medical indications for MRI imaging which could have an influence on the comparability and applicability to a population-based setting. In order to ensure comparability we used the LST- lesion prediction algorithm (LPA) segmentation method, which has proven good performances within and across scanners for white matter hyperintensity segmentation in a multicenter dataset<sup>45</sup>. Inaccuracies may have occurred due to the use of 2D instead of 3D data sets for the LST-LPA<sup>46</sup>. Nevertheless, the LST-LPA has already been demonstrated to be valid and reliable in 2D data sets<sup>47</sup>.

Non-neurological and non-ocular comorbidities were not assessed which might have affected our findings. One patient had a meningioma which had no influence on the evaluation of the Fazekas score or on the lesion segmentation and assumingly did not affect OCT measurements based on its localization. A further limitation is the time lag between MR-and OCT-imaging which might have led to an underestimation of effect size as cerebral CVSD lesions might have progressed in the meantime. We did not correct for multiple testing as this was an exploratory study, which might lead to spurious associations. Thus, any findings need confirmation in additional studies.

In conclusion, several retinal structural changes are present in CSVD patients, related to the extent of the cerebral changes and independent of their age. Many of these changes are unspecific in isolation but future studies may succeed in identifying a specific profile of retinal changes able to aid in the detection and monitoring of CSVD.

#### Methods

**Participants.** A total of 62 subjects (44 patients with CSVD and 18 control participants without CSVD or ocular diseases) were recruited from a database of the Department of Neurology at the University Hospital Bonn for this case–control study. All subjects had undergone cerebral MRI for clinical indications. The study followed the tenets of the Declaration of Helsinki and was approved by the Ethics Committee of the University Hospital Bonn (consecutive Number: 281/17). Written informed consent was obtained from all participants.

Potential participants were identified using an internal MRI database. The search algorithm included "MRI obtained between 01/01/2017 and 05/31/2019", as well as the keywords "headache," "dizziness," "syncope," "paresthesia," "exclusion of microembolization," and "exclusion of metastases".

Exclusion criteria were any eye diseases including glaucoma and retinal diseases, any opacity of the optical media interfering with retinal imaging, malignancy, major stroke, larger intracranial lesions or structural anomalies affecting the MRI analysis.

All participants underwent cognitive testing using the MoCA<sup>48</sup>. A result of 23 or more points was classified as cognitively normal<sup>49</sup>.

#### www.nature.com/scientificreports/



**Figure 1.** T2 FLAIR images from a 75-year old participant with hyperintense lesions (Fazekas 3) due to cerebral small vessel disease. (**A**) T2 FLAIR image showing multiple hyperintense white matter lesions. (**B**) Results of the white matter lesions segmentation using the lesion prediction algorithm. The white matter lesions detected by the algorithm are presented in red-yellow.

**MRI imaging.** For the clinically indicated 1.5 or 3 T MRI-Imaging (Philips Ingenia 1.5 T and Achieva TX 3 T; Philips Healthcare, Best/The Netherlands) an 8-channel head coil was used.

Axial whole-brain 2D fluid-attenuated inversion recovery (FLAIR) images with a slice thickness of 6 mm, no gap and an echo time of 140 ms were evaluated for all patients. The FLAIR sequence of the 1.5 T MRI scanner had a matrix of  $352 \times 352$ , a repetition time of 11 s and an inversion time of 2800 ms. The corresponding sequence of the 3 T MRI scanner had a matrix of  $512 \times 512$ , a repetition time of 12 s and an inversion time of 2850 ms.

All patients and controls were independently evaluated and clinically diagnosed by two board certified neuroradiologists, based on the microvascular leukoencephalopathy score according to Fazekas et al.<sup>50</sup> The score describes the quantity of white matter T2 hyperintense lesions. A score of 0 refers to the absence of periventricular or deep WML, a score of 1 to punctate foci or pencil thin lesions. The lesions form a smooth periventricular "halo" or become confluent at a score of 2. A Fazekas score of 3 describes large confluent and irregular lesion areas, which extend periventricular into the deep white matter.

The lesions were automatically segmented with the LST Toolbox (version 2.0.15 for SPM12)<sup>51</sup>. LPA was used to calculate NOL and volume of the WML in the 2D data sets. The algorithm was developed for and trained on the segmentation of lesions in multiple sclerosis<sup>52,53</sup>. Further studies have already used the LST for other diseases like Amyotrophic Lateral Sclerosis and diabetes mellitus<sup>54,55</sup>. The algorithm only needs FLAIR sequences for the analysis. It consists of a binary classifier in the form of a logistic regression model and uses a lesion belief map and a spatial covariate, which assesses the changes in lesion probability for each voxel. In new images, the algorithm evaluates the voxel specific lesion probability, based on the previous parameters of the model, and uses the results for the lesion segmentation (Fig. 1)<sup>53</sup>. The automated segmentation of volume and NOL was manually checked for accuracy. Following this, the degree of lesions of each subject was related to the total intracranial volume (TIV). The 2D FLAIR images were also used to calculate the TIV. First, the LST toolbox was used to annotate the WML. The subsequent calculation of the TIV was performed with SPM12. We used the standard segmentation algorithm for automatic segmentation of WML was calculated from the ratio of lesion volume to TIV. To get a better overview, the results were multiplied by 100, which gave the volume of WML as a percentage of the intracranial volume (WMRI).

**Ophthalmic assessment and OCT Imaging.** All participants underwent a complete ophthalmic assessment including retinal and optic nerve head imaging using spectral domain OCT-imaging. The time interval between MRI and ophthalmic assessment was 9,5 months at median (range: 6 weeks to 20 months). Participants were imaged with non-dilated pupils, using the same OCT-device (Spectralis HRA+OCT, version 6.5.4.0, Heidelberg Engineering, Heidelberg, Germany). Reporting of OCT imaging followed the APOSTEL 2.0 guidelines<sup>56</sup>. OCT-imaging was performed by two trained operators (SML, CFG).

A macular volume scan (121 horizontal B-Scans, 25 frames,  $20^{\circ} \times 25^{\circ}$ ), and a BMO scan (3.5 mm, 4.1 mm, and 4.7 mm diameter circular scans with 100 frames and automatic placement and 24 radial scans with 25 frames each) of the optic nerve head were acquired (Fig. 2). The integrated automatic real-time function adjusts for eye movement and offers a high resolution and reproducibility<sup>57,58</sup>. The BMO-scan combines the imaging of pRNFL (Fig. 2B) and the MRW (Fig. 2C). The MRW describes the anatomy of the optic nerve head and quantifies the minimum distance between the inner limiting membrane and the BMO (Fig. 2)<sup>59</sup>. It has been most widely used to capture pathological changes of the optic nerve head in e.g. glaucoma<sup>41,60</sup>.



40

**Figure 2.** Optical coherence tomography-images of 75-year old participant. (**A**) Macular scan—different macular layers are segmented; (**B**) RNFL-scan—the peripapillary retinal nerve fiber layer (pRNFL) is segmented; (**C**) BMO-scan—the arrows show the Bruch's membrane opening-minimum rim width (MRW). *RNFL* retinal nerve fiber layer, *GCL* ganglion cell layer, *IPL* inner plexiform layer, *INL* inner nuclear layer, *OPL* outer plexiform layer, *ONL* outer nuclear layer, *RPE* retinal pigment epithelium.

The right eye of each patient was chosen for analysis except cases in whom any of the exclusion criteria applied for the right eye. In those cases, the left eye was chosen. OCT images with poor quality (i.e. < 20 dB single strength) or motion artifacts were excluded, as assessed by three graders (SML, JHT, CAT). Automated segmentation was performed, using the Heidelberg Eye Explorer (HEYEX 2, Heidelberg Engineering, Heidelberg, Germany). The automated segmentation boundaries of the individual layers (Fig. 2A), the pRNFL (Fig. 2B) and the MRW (Fig. 2C) were manually verified for accuracy and corrected if needed. The volumes were measured using the Early Treatment Diabetic Retinopathy Study grid<sup>61</sup>. We added the foveal and parafoveal volumes and used the 3 mm-circle-volumes as macular parameters. The outermost circle of the BMO scan (4.7 mm diameter) was used for pRNFL-analysis.

**Statistical analysis.** Data analysis was performed with IBM SPSS Statistics (version 26.0). Descriptive statistics included mean scores which were compared using the Mann–Whitney-U-test for the overall cohort and for the age-matched sub-cohort (±5 years).

Receiver operating characteristic (ROC) analysis with and without age adjustment was performed to determine the sensitivities of retinal parameters and MoCA score to detect CSVD (based on the Fazekas score) in our cohort. Because of a positive Pearson correlation coefficient between the OPL and the WMRI, the ROC-analysis for the OPL was performed with inversed OPL values. Binary logistic regression analysis was performed to determine the regression coefficients and the constant for age adjustment. Age and other significant parameters of the non-age-adjusted ROC analysis were used as independent variables in age-adjusted ROC analysis. Because of not normally-distributed WMRI residuals, WMRI values were logarithmically transformed for parametric statistical analyses.

In a subgroup analysis of all participants with CSVD, to whom none of the exclusion criteria applied, we investigated associations between MRI (WMRI, NOL) and OCT parameters using linear regression analysis. Multivariable regression models included parameters which were significantly associated in age-adjusted linear regressions and were calculated using backward elimination. If two dependent OCT-parameters correlated >0.80 according to Pearson, only the one with a stronger correlation was included in the model to avoid multicollinearity.

The global statistical significance level was 0.05. This study followed STROBE checklist for observational research<sup>62</sup>.

#### Data availability

The data that support the findings of this study are included in the Supplement. Further data are available from the corresponding author upon reasonable request.

Received: 10 November 2021; Accepted: 16 May 2022 Published online: 03 June 2022

#### References

- Arnoldussen, I. A. C., Gustafson, D. R., Leijsen, E. M. C., de Leeuw, F.-E. & Kiliaan, A. J. Adiposity is related to cerebrovascular and brain volumetry outcomes in the RUN DMC study. *Neurology* 93, e864–e878 (2019).
- de Leeuw, F. E. et al. Prevalence of cerebral white matter lesions in elderly people: A population based magnetic resonance imaging study. The Rotterdam Scan Study. J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry 70, 9–14 (2001).
- Pantoni, L. Cerebral small vessel disease: From pathogenesis and clinical characteristics to therapeutic challenges. *Lancet Neurol.* 9, 689–701 (2010).
- Cees De Groot, J. et al. Cerebral white matter lesions and cognitive function: The Rotterdam scan study. Ann. Neurol. 47, 145–151 (2000).
- van der Flier, W. M. et al. Small vessel disease and general cognitive function in nondisabled elderly: The LADIS study. Stroke 36, 2116–2120 (2005).
- 6. Li, Q. et al. Cerebral small vessel disease. Cell Transplant. 27, 1711-1722 (2018).
- 7. Launer, L. J. Epidemiology of white matter lesions. Top. Magn. Resonance Imaging TMRI 15, 365-367 (2004).
- Wardlaw, J. M. et al. Neuroimaging standards for research into small vessel disease and its contribution to ageing and neurodegeneration. Lancet Neurol. 12, 822–838 (2013).
- Blair, G. W., Hernandez, M. V., Thrippleton, M. J., Doubal, F. N. & Wardlaw, J. M. Advanced neuroimaging of cerebral small vessel disease. *Curr. Treat. Opt. Cardiovasc. Med.* 19, 56 (2017).
- Salvadori, E., Brambilla, M., Cova, I., Pomati, S. & Pantoni, L. Cognitive evaluation in cerebral small vessel disease: Towards an evidence-based identification of the reference standards. Part 1. A systematic review and qualitative data synthesis. J. Neurol. https://doi.org/10.1007/s00415-020-10262-2 (2020).
- 11. Baker, M. L., Hand, P. J., Wang, J. J. & Wong, T. Y. Retinal signs and stroke: Revisiting the link between the eye and brain. *Stroke* 39, 1371–1379 (2008).
- Jindahra, P., Hedges, T. R., Mendoza-Santiesteban, C. E. & Plant, G. T. Optical coherence tomography of the retina: Applications in neurology. Curr. Opin. Neurol. 23, 16–23 (2010).
- 13. Parisi, V. et al. Reduction of optic nerve fiber layer thickness in CADASIL. Eur. J. Neurol. 14, 627-631 (2007).
- Rufa, A. et al. Retinal nerve fiber layer thinning in CADASIL: An optical coherence tomography and MRI study. Cerebrovasc. Dis. (Basel, Switzerland) 31, 77–82 (2011).
- Kim, M. et al. Retinal nerve fiber layer defect and cerebral small vessel disease. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* 52, 6882–6886 (2011).
   Aggarwal, D., Tan, O., Huang, D. & Sadun, A. A. Patterns of ganglion cell complex and nerve fiber layer loss in nonarteritic ischemic
- optic neuropathy by Fourier-domain optical coherence tomography. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* 53, 4539–4545 (2012).
  17. Lange, J., Hadziahmetovic, M., Zhang, J. & Li, W. Region-specific ischemia, neovascularization and macular oedema in treatment-naïve proliferative diabetic retinopathy. *Clin. Exp. Ophthalmol.* 46, 757–766 (2018).
- Shin, Y.-I. *et al.* Changes in peripapillary microvasculature and retinal thickness in the fellow eyes of patients with unilateral retinal vein occlusion: An OCTA study. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* **60**, 823–829 (2019).
- Nelson, A. R., Sweeney, M. D., Sagare, A. P. & Zlokovic, B. V. Neurovascular dysfunction and neurodegeneration in dementia and Alzheimer's disease. *Biochem. Biophys. Acta* 1862, 887–900 (2016).
- Di Marco, L. Y. et al. Vascular dysfunction in the pathogenesis of Alzheimer's disease—A review of endothelium-mediated mechanisms and ensuing vicious circles. Neurobiol. Dis. 82, 593–606 (2015).
- nisms and ensuing vicious circles. Neurobiol. Dis. 82, 593–606 (2015).
  21. Syrimi, Z. J. et al. Arterial spin labelling detects posterior cortical hypoperfusion in non-demented patients with Parkinson's disease. J. Neural Transm. 124, 551–557 (2017).
- Fernández-Seara, M. A. et al. Cortical hypoperfusion in Parkinson's disease assessed using arterial spin labeled perfusion MRI. Neuroimage 59, 2743–2750 (2012).
- 23. Ortiz, G. G. et al. Role of the blood-brain barrier in multiple sclerosis. Arch. Med. Res. 45, 687-697 (2014).
- 24. Minagar, A. & Alexander, J. S. Blood-brain barrier disruption in multiple sclerosis. Mult. Scler. 9, 540-549 (2003).
- Syc, S. B. et al. Optical coherence tomography segmentation reveals ganglion cell layer pathology after optic neuritis. Brain 135, 521–533 (2012).
- Walter, S. D. *et al.* Ganglion cell loss in relation to visual disability in multiple sclerosis. *Ophthalmology* 119, 1250–1257 (2012).
   Colligris, P., Perez de Lara, M. J., Colligris, B. & Pintor, J. Ocular manifestations of Alzheimer's and other neurodegenerative
- diseases: The prospect of the eye as a tool for the early diagnosis of Alzheimer's disease. J. Ophthalmol. 2018, 8538573 (2018). 28. Doustar, J., Torbati, T., Black, K. L., Koronyo, Y. & Koronyo-Hamaoui, M. Optical coherence tomography in Alzheimer's disease
- and other neurodegenerative diseases. Front. Neurol. 8, 701 (2017).
  29. Satue, M. et al. Retinal and choroidal changes in patients with Parkinson's disease detected by swept-source optical coherence tomography. Curr. Eye Res. 43, 109-115 (2018).
- Pilat, A. et al. In vivo morphology of the optic nerve and retina in patients with Parkinson's disease. Investig. Ophthalmol. Vis. Sci. 57, 4420–4427 (2016).
- 31. Chorostecki, J. et al. Characterization of retinal architecture in Parkinson's disease. J. Neurol. Sci. 355, 44-48 (2015).
- Garcia-Martin, E. et al. Distribution of retinal layer atrophy in patients with Parkinson disease and association with disease severity and duration. Am. J. Ophthalmol. 157, 470-478.e2 (2014).

www.nature.com/scientificreports/

- Chrysou, A., Jansonius, N. M. & van Laar, T. Retinal layers in Parkinson's disease: A meta-analysis of spectral-domain optical coherence tomography studies. *Parkinsonism Relat. Disord.* 64, 40–49 (2019).
- Lambe, J., Murphy, O. C. & Saidha, S. Can optical coherence tomography be used to guide treatment decisions in adult or pediatric multiple sclerosis?. Curr. Treat. Opt. Neurol. 20, 9 (2018).
- Salobrar-García, E. et al. Changes in visual function and retinal structure in the progression of Alzheimer's disease. PLoS ONE 14, e0220535 (2019).
- Petzold, A. et al. Retinal layer segmentation in multiple sclerosis: A systematic review and meta-analysis. Lancet Neurol. 16, 797–812 (2017).
- Reznicek, L. et al. In vivo characterization of ischemic retina in diabetic retinopathy. Clin. Ophthalmol. (Auckland, N.Z.) 5, 31–35 (2010).
- Lee, J.-Y. et al. Optical coherence tomography angiography as a potential screening tool for cerebral small vessel diseases. Alzheimer's Res. Ther. 12, 73 (2020).
- Thomson, K. L., Yeo, J. M., Waddell, B., Cameron, J. R. & Pal, S. A systematic review and meta-analysis of retinal nerve fiber layer change in dementia, using optical coherence tomography. *Alzheimer's Dement. Diagnosis Assess. Dis. Monit.* 1, 136–143 (2015).
- Yu, J. *et al.* Retinal nerve fiber layer thickness changes in Parkinson disease: A meta-analysis. *PLoS ONE* 9, e85718 (2014).
   Enders, P. *et al.* Bruch's membrane opening-based optical coherence tomography of the optic nerve head: A useful diagnostic tool to detect glaucoma in macrodiscs. *Eye* 32, 314–323 (2018).
- 42. Geerling, C. F. et al. Changes of the retinal and choroidal vasculature in cerebral small vessel disease. Sci. Rep. 12, 3660 (2022).
- Wang, X. et al. The vessel density of the superficial retinal capillary plexus as a new biomarker in cerebral small vessel disease: An
  optical coherence tomography angiography study. Neurol. Sci. 42, 3615–3624 (2021).
- Abdelhak, A. et al. Optical coherence tomography-based assessment of retinal vascular pathology in cerebral small vessel disease. Neurol. Res. Pract. 2, 13 (2020).
- Heinen, R. et al. Performance of five automated white matter hyperintensity segmentation methods in a multicenter dataset. Sci. Rep. 9, 16742 (2019).
- Guo, C. et al. Intra-scanner and inter-scanner reproducibility of automatic white matter hyperintensities quantification. Front. Neurosci. 13, 679 (2019).
- Gwo, C.-Y., Zhu, D. C. & Zhang, R. Brain white matter hyperintensity lesion characterization in T2 fluid-attenuated inversion recovery magnetic resonance images: Shape, texture, and potential growth. *Front. Neurosci.* 13, 353 (2019).
- Nasreddine, Z. S. et al. The Montreal Cognitive Assessment, MoCA: A brief screening tool for mild cognitive impairment. J. Am. Geriatr. Soc. 53, 695–699 (2005).
- Carson, N., Leach, L. & Murphy, K. J. A re-examination of Montreal Cognitive Assessment (MoCA) cutoff scores. Int. J. Geriatr. Psychiatry 33, 379–388 (2018).
- Fazekas, F., Chawluk, J. B., Alavi, A., Hurtig, H. I. & Zimmerman, R. A. MR signal abnormalities at 1.5 T in Alzheimer's dementia and normal aging. AJR Am. J. Roentgenol. 149, 351–356 (1987).
- LST—Lesion segmentation for SPM | Paul Schmidt—freelance statistician. https://www.statistical-modelling.de/lst.html (2021).
   Schmidt, P. Bayesian inference for structured additive regression models for large-scale problems with applications to medical
- imaging. Ph.D. thesis, Ludwig-Maximilians-Universität München (2017).
   Schmidt, P. et al. An automated tool for detection of FLAIR-hyperintense white-matter lesions in multiple sclerosis. Neuroimage 59, 3774–3783 (2012).
- Wirth, A. M. et al. Value of fluid-attenuated inversion recovery MRI data analyzed by the lesion segmentation toolbox in amyotrophic lateral sclerosis. J. Magn. Resonance Imaging JMRI 50, 552–559 (2019).
- Maldjian, J. A. et al. Automated white matter total lesion volume segmentation in diabetes. AJNR Am. J. Neuroradiol. 34, 2265–2270 (2013).
- Aytulun, A. et al. APOSTEL 2.0 recommendations for reporting quantitative optical coherence tomography studies. Neurology 97, 68–79 (2021).
- Rougier, M.-B. et al. Retinal nerve fibre layer thickness measured with SD-OCT in a population-based study of French elderly subjects: The Alienor study. Acta Ophthalmol. 93, 539–545 (2015).
- Wolf-Schnurrbusch, U. E. K. et al. Macular thickness measurements in healthy eyes using six different optical coherence tomography instruments. Investig. Ophthalmol. Vis. Sci. 50, 3432–3437 (2009).
- 59. Reis, A. S. C. *et al.* Influence of clinically invisible, but optical coherence tomography detected, optic disc margin anatomy on neuroretinal rim evaluation. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* 53, 1852–1860 (2012).
- Park, K.-H., Lee, J.-W., Kim, J.-M., Nouri-Mahdavi, K. & Caprioli, J. Bruch's membrane opening-minimum rim width and visual field loss in glaucoma: A broken stick analysis. Int. J. Ophthalmol. 11, 828–834 (2018).
- Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group. Grading diabetic retinopathy from stereoscopic color fundus photographs—An extension of the modified Airlie House classification: ETDRS report number 10. *Ophthalmology* 98, 786–806 (1991).
   Cuschieri, S. The STROBE guidelines. *Saudi J. Anaesth.* 13, S31–S34 (2019).

#### Acknowledgements

This research was supported by funding of the German Scholars Organization/Else Kröner Fresenius Stiftung (GSO/EKFS 16) to RF and BONFOR GEROK Program, Faculty of Medicine, University of Bonn, Grant No. O-137.0028 to MWMW. All images included in this paper were created by the authors themselves.

#### Author contributions

R.P.F. and G.C.P. designed this study. S.M.L., C.F.G., C.K. and V.C.W.K. acquired the data. S.M.L., J.H.T., C.K., V.C.W.K., R.P.F., C.A.T., G.N.T., C.B. and M.W.M.W. analyzed and interpreted the data. S.M.L., J.H.T. and R.P.F. drafted the initial manuscript. C.F.G., C.K., V.C.W.K., C.A.T., G.N.T., C.B., M.W.M.W. and G.C.P. critically revised the manuscript. All authors approved the final manuscript and agreed to be accountable for all aspects of the work.

#### Funding

Open Access funding enabled and organized by Projekt DEAL.

#### Competing interests

SML, JHT, CFG, CAT, GNT: Heidelberg Engineering, Optos, Carl Zeiss Meditec, CenterVue (devices). CB, CK, VCK: none. MWMW: Heidelberg Engineering, Optos, Carl Zeiss Meditec, CenterVue, D-EYE Srl (devices); DigiSight Technologies (travel support); Heine Optotechnik (research funding, devices, travel reimbursement, consultant); Eyenuk Inc. (free analysis); ASKIN & CO GmbH (travel reimbursement, honoraria); Berlin-Chemie

AG (grant, travel reimbursements). GCP: Bayer, Boehringer Ingelheim, Pfizer, BMS (sponsoring). RPF: Bayer, Novartis, Santen, Opthea, Novelion, Santhera, Inositec, Alimera, Retina Implant, Allergan, Boehringer Ingelheim (consultant); Bayer, Ellex, Alimera (research funding); Heidelberg Engineering, Optos, Carl Zeiss Meditec, CenterVue (devices).

#### Additional information

**Supplementary Information** The online version contains supplementary material available at https://doi.org/ 10.1038/s41598-022-13312-z.

Correspondence and requests for materials should be addressed to R.P.F.

Reprints and permissions information is available at www.nature.com/reprints.

**Publisher's note** Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

**Open Access** This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons licence and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this licence, visit http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/.

© The Author(s) 2022

## <u>Supplementary Material - Structural Retinal Changes in Cerebral Small</u> <u>Vessel Disease</u>

S. Magdalena Langner<sup>1+</sup>, Jan H. Terheyden MD<sup>1+</sup>, Clara F. Geerling<sup>1</sup>, Christine Kindler MD<sup>2,3</sup>, Vera C. W. Keil MD<sup>4</sup>, Christopher A. Turski MD<sup>1,3</sup>, Gabrielle N. Turski MD<sup>1,3</sup>, Charlotte Behning<sup>5</sup>, Maximilian W. M. Wintergerst MD<sup>1</sup>, Gabor C. Petzold MD<sup>2,3,6#</sup>, Robert P. Finger MD, PhD<sup>1#\*</sup>

<sup>1</sup> Department of Ophthalmology, University Hospital Bonn, Bonn, Germany

<sup>2</sup> Department of Neurology, University Hospital Bonn, Bonn, Germany

<sup>3</sup>German Center for Neurodegenerative Diseases (DZNE), Bonn, Germany

<sup>4</sup>Department of Radiology, Amsterdam UMC, location VUmc, De Boelelaan 1117, 1081 HV Amsterdam, The Netherlands

<sup>5</sup> Institute for Medical Biometry, Informatics and Epidemiology, University Hospital Bonn, Bonn, Germany

<sup>6</sup> Division of Vascular Neurology, University Hospital Bonn, Bonn, Germany

<sup>+</sup>These authors contributed equally.

<sup>#</sup>These authors jointly supervised the work.

## **Corresponding author:**

Univ.-Prof. Dr. med. Robert Finger, PhD Dpt. Ophthalmology, University of Bonn Ernst-Abbe-Str. 2, 53127 Bonn, Germany Email: robert.finger@ukbonn.de Telephone: +49 228 287 155 05

	WMRI association		WMRI association, age adjusted		
	β [95% CI]	р	β [95% CI]	p	
MoCA	-0.037 [-0.093, 0.020]	0.192	0.002 [-0.046, 0.050]	0.940	
Total Retina					
total volume	-1.178 [-3.609, 1.254]	0.328	-0.465 [-2.365, 1.435]	0.618	
Foveal	1.049 [-9.481, 11.579]	0.839	-1.099 [-9.135, 6.936]	0.780	
pf. nasal	-6.334 [-17.468, 4.799]	0.252	-2.966 [-11.696, 5.765]	0.490	
pf. inferior	-5.468 [-14.702, 3.766]	0.234	-1.959 [-9.320, 5.401]	0.588	
pf. temporal	-4.615 [-16.010, 6.780]	0.412	-0.131 [-9.145, 8.884]	0.976	
pf. superior	-9.035 [-21.006, 2.936]	0.133	-3.453 [-13.263, 6.357]	0.475	
GCL					
total volume	-2.300 [-9.065, 4.465]	0.490	-2.317 [-7.401, 2.767]	0.356	
foveal	-3.850 [-85.319, 77.619]	0.923	-27.013 [-88.617, 34.590]	0.374	
pf. nasal	-2.336 [-30.499, 25.828]	0.866	-5.486 [-26.766, 15.793]	0.600	
pf. inferior	-10.201 [-30.225, 9.823]	0.304	-8.973 [-24.021, 6.075]	0.230	
pf. temporal	-8.748 [-36.888, 19.391]	0.528	-7.642 [-28.904, 13.620]	0.465	
pf. superior	-12.709 [-47.05, 21.640]	0.453	-9.592 [-35.651, 16.468]	0.455	
IPL					
total volume	-7.740 [-18.521, 3.042]	0.152	-4.809 [-13.210, 3.592]	0.249	
foveal	19.902 [-30.689, 70.494]	0.425	13.605 [-24.923, 52.133]	0.473	
pf. temporal	-12.151 [-60.064, 35.762]	0.606	-6.375 [-42.882, 30.133]	0.722	
pf. superior	-16.579 [-62.269, 29.111]	0.462	-12.150 [-46.845, 22.545]	0.477	
INL					
total volume	-3.418 [-16.879, 10.042]	0.606	-1.520 [-11.795, 8.755]	0.763	
foveal	15.882 [-34.951, 66.714]	0.526	12.612 [-25.892, 51.116]	0.505	
pf. nasal	-1.645 [-53.175, 49.886]	0.948	1.003 [-38.068, 40.074]	0.958	
pf. inferior	-17.049 [-57.472, 23.374]	0.393	2.855 [-29.651, 35.360]	0.858	
pf. temporal	4.247 [-47.259, 55.752]	0.867	-11.843 [-51.280, 27.595]	0.541	
pf. superior	-41.327 [-89.970, 7.315]	0.092	-28.994 [-66.592, 8.603]	0.125	
OPL					
total volume	5.550 [-2.830, 13.930]	0.185	0.286 [-6.812, 7.384]	0.934	
pf. nasal	5.850 [-14.877, 26.576]	0.566	-5.563 [-22.081, 10.954]	0.494	
pf. inferior	-0.695 [-21.559, 20.169]	0.946	-4.731 [-20.527, 11.065]	0.542	
pf. temporal	28.158 [-16.559, 72.876]	0.207	14.020 [-21.180, 49.220]	0.419	
pf. superior	21.455 [-2.487, 45.396]	0.077	6.562 [-14.170, 27.294]	0.520	
ONL					
total volume	-3.075 [-8.247, 2.096]	0.232	1.218 [-3.309, 5.745]	0.584	
foveal	-15.908 [-51.350, 19.534]	0.364	-6.488 [-34.037, 21.062]	0.631	
pf. nasal	-8.656 [-23.050, 5.738]	0.227	2.763 [-9.761, 15.287]	0.653	
pf. inferior	0.965 [-17.015, 18.946]	0.913	6.245 [-7.342, 19.832]	0.352	
pf. temporal	-11.451 [-36.783, 13.881]	0.361	5.626 [-15.413, 26.665]	0.586	

## **Supplementary Table 1**

Results of linear regression of MoCA, structural retinal parameters and white matter lesions volume ratio index in patients with cerebral small vessel disease with and without adjusting for age

pf. superior	-16.610 [-35.134, 1.913]	0.077	1.451 [-16.421, 19.322]	0.868
RPE*				
total volume	9.465 [-6.978, 25.908]	0.247	8.363 [-3.960, 20.686]	0.174
pf. nasal	27.025 [-23.890, 77.940]	0.285	25.919 [-12.040, 63.878]	0.172
pf. inferior	17.319 [-38.307, 72.944]	0.527	17.962 [-23.858, 59.783]	0.384
pf. temporal	29.187 [-35.632, 94.006]	0.363	20.876 [-28.459, 70.210]	0.391
pf. superior	29.142 [-20.976, 79.260]	0.242	24.535 [-13.189, 62.259]	0.192
pRNFL				
total	-0.027 [-0.058, 0.004]	0.082	-0.020 [-0.044, 0.004]	0.095
nasal	-0.018 [-0.055, 0.018]	0.312	-0.008 [-0.037, 0.020]	0.554
N/T	0.892 [-0.494, 2.277]	0.197	0.893 [-0.136, 1.921]	0.086
nasal inferior	-0.011 [-0.029, 0.006]	0.198	-0.003 [-0.018, 0.011]	0.646
temporal inferior	0.001 [-0.015, 0.018]	0.862	-0.002 [-0.015, 0.011]	0.726
temporal superior	-0.013 [-0.030, 0.003]	0.102	-0.010 [-0.023, 0.002]	0.101
nasal superior	-0.019 [-0.037, 0.000]	0.052	-0.013 [-0.028, 0.002]	0.094
MRW				
total	-0.004 [-0.008, 0.000]	0.075	-0.002 [-0.006, 0.001]	0.233
N/T	0.205 [-0.636, 1.047]	0.619	0.006 [-0.649, 0.660]	0.986
temporal	-0.004 [-0.007, 0.000]	0.054	-0.002 [-0.005, 0.001]	0.239
temporal superior	-0.003 [-0.007, 0.001]	0.155	-0.001 [-0.004, 0.002]	0.389

Associations between retinal parameters and WMRI were assessed using linear regression. Model 1: univariate regression, Model 2: multivariable regression adjusted for age.

Note: The volumes of the macular layers correspond to the foveal and parafoveal volumes (3-mm-circle).

\* The linear regression analysis of the foveal RPE volume is not listed, because the value contained a constant. Abbreviations: MoCA, Montreal Cognitive Assessment; WMRI, white matter lesions volume ratio index; β, standardized coefficient; CI, confidence interval; pf., parafoveal; GCL, ganglion cell layer; IPL, inner plexiform layer; INL, inner nuclear layer; OPL, outer plexiform layer; ONL, outer nuclear layer; RPE, retinal pigment epithelium; pRNFL, peripapillary retinal nerve fiber layer; N/T, ratio nasal to temporal; MRW, Bruch's membrane

opening-minimum rim width.

### **Supplementary Table 2**

*Results of linear regression of MoCA, structural retinal parameters and number of white matter lesions in patients with cerebral small vessel disease* 

*				
	NOL association		NOL association, age adjus	sted
	β [95%-CI]	р	β [95%-CI]	р
MoCA	-0.568 [-1.322, 0.186]	0.133	-0.154 [-0.875, 0.567]	0.663
Total Retina				
total volume	-26.772 [-58.601, 5.057]	0.096	-18.997 [-46.636, 8.643]	0.169
Foveal	-41.798 [-183.956, 100.359]	0.550	-67.421 [-185.310, 50.468]	0.249
pf. nasal	-128.036 [-274.181, 18.108]	0.083	-91.154 [-218.363, 36.054]	0.152
pf. inferior	-99.660 [-222.101, 22.781]	0.106	-61.301 [-169.864, 47.262]	0.255
pf. temporal	-117.923 [-267.184, 31.338]	0.116	-70.104 [-202.668, 62.459]	0.286
GCL				
pf. inferior	-208.231 [-472.662, 56.200]	0.117	-194.188 [-413.160, 24.785]	0.080
pf. temporal	-268.182 [-637.470, 101.106]	0.147	-255.520 [-561.100, 50.060]	0.097
pf. superior	-343.939 [-794.266, 106.387]	0.128	-308.599 [-684.025, 66.826]	0.103
IPL				

46

4	7		

total volume	-135.669 [-277.840, 6.502]	0.061	-103.199 [-225.920, 19.521]	0.095
foveal	-99.451 [-794.603, 595.702]	0.771	-174.010 [-756.264, 408.243]	0.543
pf. temporal	-140.777 [-792.741, 511.188]	0.660	-74.153 [-624.777, 476.472]	0.783
pf. superior	-336.607 [-948.791, 275.577]	0.268	-286.036 [-800.480, 228.408]	0.262
INL				
total volume	-49.425 [-232.181, 133.330]	0.582	-27.606 [-182.268, 127.055]	0.716
foveal	25.275 [-671.006, 721.555]	0.941	-12.679 [-598.248, 572.889]	0.965
pf. nasal	-46.667 [-746.619, 653.286]	0.892	-16.154 [-604.788, 572.479]	0.955
pf. inferior	-204.225 [-755.296, 346.845]	0.452	24.631 [-465.316, 514.578]	0.918
pf. temporal	108.333 [-590.460, 807.126]	0.752	-75.102 [-673.163, 522.959]	0.798
pf. superior	-481.667 [-1153.18, 189.853]	0.152	-339.539 [-917.692, 238.614]	0.237
OPL				
total volume	78.078 [-35.477, 191.633]	0.169	19.658 [-86.976, 126.293]	0.707
pf. nasal	151.913 [-124.605, 428.430]	0.269	29.830 [-221.204, 280.863]	0.808
pf. inferior	-95.355 [-376.130, 185.420]	0.491	-143.117 [-375.285, 89.050]	0.215
pf. temporal	205.804 [-416.134, 827.742]	0.502	38.041 [-499.455, 575.538]	0.885
ONL				
total volume	-59.169 [-127.286, 8.949]	0.086	-16.159 [-84.460, 52.141]	0.630
foveal	-214.674 [-696.341, 266.993]	0.367	-106.870 [-521.530, 307.789]	0.600
pf. nasal	-179.439 [-366.875, 7.998]	0.060	-67.853 [-255.187, 119.481]	0.462
pf. inferior	20.636 [-223.577, 264.849]	0.863	81.827 [-123.803, 287.457]	0.420
pf. temporal	-222.917 [-560.770, 114.936]	0.186	-41.896 [-360.383, 276.591]	0.788
RPE				
total volume	104.301 [-121.254, 329.856]	0.350	91.574 [-97.630, 280.777]	0.328
pf. nasal	298.864 [-398.482, 996.210]	0.386	286.103 [-296.642, 868.849]	0.321
pf. inferior	324.342 [-425.840, 1074.524]	0.382	331.774 [-293.084, 956.633]	0.284
pf. temporal	467.273 [-407.523, 1342.068]	0.282	372.219 [-366.307, 1110.745]	0.309
pf. superior	118.333 [-580.184, 816.851]	0.730	64.522 [-524.147, 653.192]	0.823
pRNFL*				
total	-0.386 [-0.805, 0.034]	0.070	-0.302 [-0.657, 0.052]	0.091
nasal	-0.132 [-0.644, 0.379]	0.598	-0.010 [-0.443, 0.424]	0.964
nasal inferior	-0.102 [-0.348, 0.145]	0.403	-0.002 [-0.219, 0.216]	0.989
temp. inferior	-0.066 [-0.297, 0.166]	0.562	-0.112 [-0.301, 0.078]	0.234
nasal superior	-0.258 [-0.516, 0.000]	0.050	-0.187 [-0.410, 0.036]	0.097
MRW				
N/T	2.890 [-8.706, 14.486]	0.612	0.480 [-9.318, 10.277]	0.920

Associations between retinal parameters and NOL were assessed using linear regression. Model 1: univariate regression, Model 2: multivariable regression adjusted for age.

Note: The volumes of the macular layers correspond to the foveal and parafoveal volumes (3-mm-circle).

\* The linear regression analysis of the foveal RPE volume is not listed, because the value contained a constant. Abbreviations: MoCA, Montreal Cognitive Assessment; NOL, number of white matter lesions;  $\beta$ , standardized coefficient; CI, confidence interval; GCL, ganglion cell layer; IPL, inner plexiform layer; INL, inner nuclear layer; OPL, outer plexiform layer; ONL, outer nuclear layer; RPE, retinal pigment epithelium; pRNFL, peripapillary retinal nerve fiber layer; MRW, Bruch's membrane opening-minimum rim width; N/T, ratio nasal to temporal.

Results of structural retinal parameters in subjects with cerebral small vessel disease

Total retinal volume (mm <sup>3</sup> )				
total	$2.31 \pm 0.11$			
foveal	$0.22\pm0.02$			
pf. nasal	$0.53\pm0.02$			
pf. inferior	$0.52\pm0.03$			
pf. temporal	$0.51\pm0.02$			
pf. superior	$0.53\pm0.02$			
GCL volume (mm <sup>3</sup> )				
total	$0.31 \pm 0.04$			
foveal	$0.01 \pm 0.00$			
pf. nasal	$0.08\pm0.01$			
pf. inferior	$0.08\pm0.01$			
pf. temporal	$0.07\pm0.01$			
pf. superior	$0.08\pm0.01$			
IPL volume (mm <sup>3</sup> )				
total	$0.27\pm0.02$			
foveal	$0.01\pm0.01$			
pf. nasal	$0.06 \pm 0.01$			
pf. inferior	$0.06 \pm 0.01$			
pf. temporal	$0.06 \pm 0.01$			
pf. superior	$0.06 \pm 0.01$			
INL volume (mm <sup>3</sup> )				
total	$0.27\pm0.02$			
foveal	$0.02 \pm 0.01$			
pf. nasal	$0.06 \pm 0.01$			
pf. inferior	$0.07 \pm 0.01$			
pf. temporal	$0.06 \pm 0.01$			
pf. superior	$0.06 \pm 0.01$			
OPL volume (mm <sup>3</sup> )				
total	$0.21 \pm 0.03$			
foveal	$0.02 \pm 0.00$			
pf. nasal	$0.05 \pm 0.01$			
pf. inferior	$0.05 \pm 0.01$			
pf. temporal	$0.04 \pm 0.01$			
pf. superior	$0.05 \pm 0.01$			
$\frac{1}{2} = 0.01$ ONL volume (mm <sup>3</sup> )				
total	$0.52 \pm 0.05$			
foveal	$0.08\pm0.01$			
pf. nasal	$0.12 \pm 0.02$			
pf. inferior	$0.10 \pm 0.01$			
pf. temporal	$0.12 \pm 0.01$			
pf. superior	$0.11 \pm 0.01$			
$RPE \text{ volume (mm^3)}$				
total	$0.10 \pm 0.02$			
foveal	$0.01 \pm 0.00$			
pf. nasal	$0.02 \pm 0.01$			
1				

pf. i	nferior	$0.02\pm0.00$
pf. t	emporal	$0.02\pm0.00$
pf. s	superior	$0.02\pm0.01$
pRNFL thickness (µm)		
tota	1	$73.62 \pm 8.21$
nasa	ıl	$58.69 \pm 7.18$
N/T		$1.06\pm0.19$
nasa	al inferior	$71.88 \pm 14.75$
tem	poral inferior	$119.23 \pm 15.84$
tem	poral	$56.69 \pm 8.62$
PM	В	$41.15 \pm 6.71$
tem	poral superior	$110.58 \pm 15.55$
nasa	al superior	$72.08 \pm 13.19$
BMO-MRW (µm)		
tota	1	$323.04 \pm 59,37$
nasa	ıl	$361.92 \pm 72.29$
N/T		$1.61 \pm 0.32$
nasa	al inferior	$393.27 \pm 74.21$
tem	poral inferior	$334.81 \pm 67.48$
Ten	nporal	$233.35 \pm 65.52$
PM	В	$216.69\pm71.20$
tem	poral superior	$289.12 \pm 66.75$
nasa	al superior	$339.08 \pm 70.80$

*Values are mean*  $\pm$  *SD. The volumes of the macular layers correspond to the foveal and parafoveal volumes (3-mm-circle)* 

Abbreviations: pf., parafoveal; GCL, ganglion cell layer; IPL, inner plexiform layer; INL, inner nuclear layer; OPL, outer plexiform layer; ONL, outer nuclear layer; RPE, retinal pigment epithelium; pRNFL, peripapillary retinal nerve fiber layer; N/T, ratio nasal to temporal; PMB, papillo-macular bundle; BMO-MRW, Bruch's membrane opening-minimum rim width.

## 3. Danksagung

Ich möchte mich herzlich bei allen Menschen bedanken, die mich auf dem Weg meiner Promotion begleitet und unterstützt haben.

Besonderer Dank gilt meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. Dr. Robert Finger für die Organisation, Betreuung und stetige Unterstützung bei diesem Projekt. Sie haben mir die Möglichkeit gegeben, die Bearbeitung der Thematik in einer geduldigen, motivierten und zielorientierten Umgebung durchzuführen.

Insbesondere gilt mein Dank auch Herrn Dr. Jan Terheyden für seine außerordentliche Hilfe bei allen Problemen, die auf dem Weg zustande kamen, seine Ratschläge, sein offenes Ohr und seine stetige Unterstützung und Motivation. Danke, Jan, du hast maßgeblich zu allem beigetragen und ich habe viel durch dich lernen können!

Zudem danke ich Herrn Dr. Christopher Turski und Frau Dr. Gabriele Turski für die initiale Einweisung in die Thematik und die Abläufe sowie Frau Dr. Christine Kindler, Frau Dr. Vera Keil und Herrn Professor Dr. Gabor Petzold für die Unterstützung auf neurologischer und neuroradiologischer Seite, die Patienten- und Datenorganisation und die gute Zusammenarbeit.

Nicht zuletzt danke ich Frau Dr. Clara Geerling für die Zusammenarbeit. Clara, du hast mich stetig durch deinen Elan motiviert! Ich bin froh, dass wir uns dem Ganzen gemeinsam nähern konnten und danke dir für dein Engagement an dem Projekt.

Ein ganz ganz großer Dank geht an meine Eltern Frau Dr. Susanne Langner und Herrn Dr. Hans Ulrich Langner für den stetigen Rat, die vielen Gespräche und vor allem für den initialen Anschub, meine Doktorarbeit im Bereich der Augenheilkunde zu absolvieren. Meinen Geschwistern Maria Charlotte Langner und Ulrich Maximilian Langner danke ich für die Motivation und die vielen Telefonate während der Tiefs dieses Projekts.

Zudem möchte ich Herrn Michael Jost danken für seine Ruhe und Ratschläge, seine Hilfe und Motivation, seine Rechtschreibkorrektur und die Bereitstellung eines Windows-Computers!