

Aus dem Zentrum für Augenheilkunde der Universität zu Köln  
Klinik und Poliklinik für Netzhaut- und Glaskörperchirurgie  
Direktor: Universitätsprofessor Dr. med. B. Kirchhof

**Bedeutung der optischen Kohärenztomographie  
für die retinale Diagnostik bei altersbedingter Makuladegeneration**

**The Role of Optical Coherence Tomography  
In the Diagnosis of Age-Related Macular Degeneration**

Habilitationsschrift zur Erlangung der *venia legendi*  
für das Fach Augenheilkunde  
An der Hohen Medizinischen Fakultät  
der Universität zu Köln

Vorgelegt von  
Dr. med. Sandra Liakopoulos  
aus Köln

Köln 2010

*„Wir sehen nur, was wir kennen“*

- Johann Wolfgang von Goethe -

## Danksagung

Mein Dank gilt all denen, die mich bei der Planung, Durchführung, Auswertung und Analyse der in dieser Schrift zusammengestellten Forschungsarbeiten unterstützt haben.

Mein besonderer Dank gilt Univ.-Prof. Dr. med. Bernd Kirchhof, der mir die Möglichkeit eröffnete, meine Forschungsarbeiten sowohl in Köln als auch in Los Angeles durchzuführen und mich stets auf meinem Weg unterstützt hat. Weiterhin gilt mein Dank Frau Univ.-Prof. Dr. med. Antonia M. Jousen, die mein Interesse an der Forschung weckte und mir in den ersten Jahren mit ihrem großen Erfahrungsschatz zur Seite stand.

Viele der Arbeiten wurden in der Zeit von April 2006 bis Juli 2007 am Doheny Eye Institute in Los Angeles erstellt. Ganz herzlich möchte ich Dr. Steven Ryan danken für die freundliche Aufnahme am Doheny Eye Institute und die zahlreichen motivierenden Gespräche. Mein ganz besonderer Dank gilt Dr. Srinivas R. Sadda, der mich während meiner Zeit am Doheny betreute und ein großartiger Lehrer war. Seine Kompetenz und Faszination für die retinale Bildgebung waren und sind mir eine große Inspiration und haben mein Bild von der retinalen Diagnostik und mein Bestreben auf diesem Gebiet zu forschen maßgeblich geprägt. Danken möchte ich auch Dr. Alexander C. Walsh, der mir die technischen Details der bildgebenden Verfahren näher brachte und mir freundlich die von ihm und Dr. Sadda entwickelte Software für die quantitative Auswertung der OCTs und der Angiographien zur Verfügung stellte. Weiterhin gilt mein Dank den Software Entwicklern Paul und Jared Updike, die mir stets bei Fragen zur Software, sowie bei technischen Problemen jeglicher Art mit Rat und Tat zur Seite standen. Herzlich danken möchte ich auch Dr. Jerry Tsong und Dr. Pearse A. Keane für die konstruktiven und kreativen Diskussionen und die gegenseitige Motivation bei zahlreichen Projekten.

Besonders herzlich möchte ich meinem Mann Dr. med. Oliver J. Liakopoulos danken für seine unermüdliche Geduld, Motivation und Unterstützung der zeitaufwendigen Forschungsprojekte.

Der Forschungsaufenthalt in Los Angeles wurde durch Gelder des Fördervereins Forschung für das Sehen (Köln), sowie des NEI/Rochester Grant EY014375 (Clinical evaluation of the Adaptive Optics Scanning Laser Ophthalmoscope for advanced ophthalmic imaging) und des NIH Grant EY03040 und 015914 (Enhanced quantitative analysis of OCT images using computer assisted grading software) ermöglicht.

**Vorwort:**

Diese Arbeit wurde als kumulative Habilitationsschrift erstellt und soll eine Einführung in den derzeitigen wissenschaftlichen Stand des Forschungsgebietes, sowie die Darstellung und Einordnung meiner eigenen Beiträge mit Hinweis auf die folgende Originalarbeiten geben:

1. Jousseaume AM, Heussen FMA, **Joeres S**, Llacer H, Prinz B, Rohrschneider K, Maaijwee JM, van Meurs J, Kirchhof B. Autologous translocation of the choroid and retinal pigment epithelium in age-related macular degeneration. *Am J Ophthalmol* 2006 Jul;142:17-30.
2. Sadda SR, **Joeres S**, Wu Z, Updike PG, Romano P, Collins AT, Walsh AC. Error correction and quantitative sub-analysis of optical coherence tomography data using computer-assisted grading. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2007 Feb;48:839-48.
3. Jousseaume AM\*, **Joeres S\***, Fawzy N, Heussen FMY, Llacer H, van Meurs J, Kirchhof B. Autologous Translocation of the choroid and retinal pigment epithelium in patients with geographic atrophy. *Ophthalmology* 2007 Mar;114:551-60. \* both authors contributed equally to this study
4. **Joeres S**, Tsong JW, Updike PG, Collins AT, Dustin L, Walsh AC, Romano PW, Sadda SR. Reproducibility of quantitative optical coherence tomography sub-analysis in neovascular age-related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2007 Sep;48:4300-7.
5. **Joeres S**, Heussen FMA, Treziak T, Bopp S, and Jousseaume AM. Bevacizumab (Avastin) treatment in patients with retinal angiomatous proliferation. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2007 Nov;245:1597-602.
6. **Joeres S**, Kaplowitz K, Brubaker JW, Updike PG, Collins AT, Walsh AC, Romano PW, Sadda SR. Quantitative Comparison of Optical Coherence Tomography after Pegaptanib or Bevacizumab in Neovascular Age-Related Macular Degeneration. *Ophthalmology* 2008 Feb;115:347-354.
7. **Joeres S**, Jones SM, Chen D, Silva D, Olivier S, Fawzy A, Castellarin A, Sadda SR. Retinal Imaging with Adaptive Optics Scanning Laser Ophthalmoscopy in Unexplained Unilateral Central Ring Scotoma. *Archives of Ophthalmol.* 2008 Apr;126:543-7.
8. **Joeres S**, Llacer H, Heussen FMA, Weiss C, Kirchhof B, Jousseaume AM. Optical coherence tomography on autologous translocation of choroid and retinal pigment epithelium in age-related macular degeneration. *Eye* 2008 Jun;22:782-9.
9. Heussen FM, Fawzy NF, **Joeres S**, Lux A, Maaijwee K, Meurs JC, Kirchhof B, Jousseaume AM. Autologous translocation of the choroid and RPE in age-related macular degeneration: 1-year follow-up in 30 patients and recommendations for patient selection. *Eye* 2008 Jun;22:799-807.

10. Keane PA, **Liakopoulos S**, Ongchin SC, Heussen FM, Msutta S, Chang KT, Walsh AC, Sadda SR. Quantitative Subanalysis of Optical Coherence Tomography after treatment with Ranibizumab for Neovascular Age-Related Macular Degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2008 Jul;49:3115-20.
11. Keane PA, **Liakopoulos S**, Chang KT, Heussen FM, Ongchin SC, Walsh AC, Sadda SR. Comparison of the optical coherence tomographic features of choroidal neovascular membranes in pathologic myopia versus age-related macular degeneration, using quantitative subanalysis. *Br J Ophthalmol*. 2008 Aug;92:1081-5.
12. **Liakopoulos S**, Ongchin S, Bansal A, Msutta S, Walsh AC, Updike PG, Sadda SR. Quantitative optical coherence tomography findings in various subtypes of neovascular age-related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2008 Nov;49:5048-54.
13. Keane PA, **Liakopoulos S**, Chang KT, Wang M, Dustin L, Walsh AC, Sadda SR. Relationship between Optical Coherence Tomography Retinal Parameters and Visual Acuity in Neovascular Age-Related Macular Degeneration. *Ophthalmology* 2008 Dec 115:2206-14.
14. Keane PA, Chang KT, **Liakopoulos S**, Jivrajka R, Walsh AC, Sadda SR. Effect of Ranibizumab Frequency on Neurosensory Retinal Volume in Neovascular Age-Related Macular Degeneration. *Retina*. 2009 May;29:592-600.
15. Keane PA, **Liakopoulos S**, Jivrajka RV, Chang KT, Alasil T, Walsh AC, Sadda SR. Evaluation of Optical Coherence Tomography Central Retinal Thickness Parameters for use as Anatomic Outcomes in Clinical Trial for Neovascular Age-Related Macular Degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2009 Jul;50:3378-85.
16. Keane PA, Bhatti RA, Brubaker JW, **Liakopoulos S**, Sadda SR, Walsh AC. Comparison of Clinically Relevant Findings from High-Speed Fourier-Domain and Conventional Time-Domain Optical Coherence Tomography. *Am J Ophthalmol*. 2009 Aug;148:242-248.
17. Keane PA, Mand P, **Liakopoulos S**, Walsh AC, Sadda SR. Accuracy of Retinal Thickness Measurements obtained with Cirrus Optical Coherence Tomography. *Br J Ophthalmol*. 2009 Nov;93:1461-7.
18. Caramoy A, **Liakopoulos S**, Menrath E, Kirchhof B. Autologous translocation of choroid and retinal pigment epithelium in geographic atrophy: Long term functional and anatomical outcome. *Br J Ophthalmol*. 2009 Aug 18. Epub ahead of print
19. Sadda SR, **Liakopoulos S**, Keane PA, Ongchin SC, Msutta S, Chang KT, Walsh AC. Relationship between angiographic and optical coherence tomographic (OCT) parameters for quantifying choroidal neovascular lesions. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2009 Sep 17. [Epub ahead of print]

## Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung .....	8
2.	Entwicklung der retinalen Diagnostik .....	8
3.	Grundlagen der Optischen Kohärenztomographie (OCT) .....	10
3.1.	<i>Technische Grundlagen</i> .....	10
3.2.	<i>Time Domain OCT (TDOCT) versus Spektral Domain OCT (SDOCT)</i> .....	11
4.	Grading-Software zur quantitativen Auswertung von OCT Bildern .....	12
4.1.	<i>Qualitative Analyse versus quantitative Analyse</i> .....	12
4.2.	<i>Limitationen der automatischen Software</i> .....	13
4.3.	<i>Manuelle Grading Software (OCTOR)</i> .....	13
4.4.	<i>Validierung der manuellen Grading Software „OCTOR“</i> .....	15
4.5.	<i>Reproduzierbarkeit der manuellen Messungen bei retinaler Pathologie</i> .....	15
5.	Altersbedingte Makuladegeneration (AMD).....	16
5.1.	<i>Prävalenz</i> .....	16
5.2.	<i>Trockene Form und neovaskuläre Form der AMD</i> .....	17
5.3.	<i>Therapeutische Möglichkeiten der trockenen AMD</i> .....	17
5.4.	<i>Therapeutische Möglichkeiten der neovaskulären AMD</i> .....	18
6.	Die Bedeutung der OCT in klinischen Studien zur AMD .....	19
6.1.	<i>Evaluierung von OCT Parametern der Netzhautdicke</i> .....	20
6.2.	<i>Korrelation zwischen Angiographie und OCT</i> .....	21
6.2.1.	<i>Quantitative OCT Analyse verschiedener Typen der neovaskulären AMD</i> .....	22
6.2.2.	<i>Verhältnis zwischen Angiographie und OCT bei der quantitativen Analyse der CNV</i> .....	24
6.3.	<i>Vergleich zwischen CNV Membranen bei AMD und CNV Membranen bei hoher Myopie</i> .....	25
6.4.	<i>Vergleich verschiedener Therapien der neovaskulären AMD anhand von OCT Parametern</i> .....	25
6.5.	<i>Verlaufsbeobachtung des morphologischen Effektes von Ranibizumab bei neovaskulärer AMD</i> ...	27
6.6.	<i>Verhältnis zwischen OCT Parametern und der Sehschärfe bei Patienten mit neovaskulärer AMD</i> .	29
6.7.	<i>Phänotypisierung von Augen mit AMD in epidemiologischen Studien</i> .....	31
7.	Zukunftsausblick: Adaptive Optik .....	33
8.	Zusammenfassung.....	37
9.	Zusammenfassung (englisch).....	38
	Literaturverzeichnis.....	40

## **Abbildungsverzeichnis**

Abbildung 1: Fundusphotographie eines Auges zentriert auf die Makula.....	1
Abbildung 2 Fluoreszenzangiographie eines Auges mit neovaskulärer AMD.....	1
Abbildung 3: Interpretation von OCT Bildern im Vergleich zur Histologie.....	10
Abbildung 4: Time Domain und Spektral Domain OCT. ....	1
Abbildung 5: Prinzip des OCT.....	11
Abbildung 6: Sternscan und Volumenscan.....	12
Abbildung 7: Manuelle Grading-Software OCTOR.....	14
Abbildung 8: OCTOR-Ergebnisbogen.....	15
Abbildung 9: Formen der AMD .....	17
Abbildung 10: Angiographie und OCT einer aktiven, vorwiegend klassischen CNV .....	22
Abbildung 11: Angiographie und OCT einer rein occulten CNV .....	23
Abbildung 12: Vergleich zwischen verschiedenen angiographischen Typen der CNV.....	23
Abbildung 13: Vergleich des Therapieeffektes von Bevacizumab und Pegaptanib .....	27
Abbildung 14: Korrelation zwischen Netzhautdicke und Sehschärfe bei AMD.....	30
Abbildung 15: Auflösung eines Teleskops mit (C) und ohne (A, B) adaptive Optik.....	34
Abbildung 16: Prinzip der adaptiven Optik.....	35
Abbildung 17: Photorezeptor Mosaik .....	35
Abbildung 18: AOSLO Bild mit zirkulärer Unterbrechung des Photorezeptormosaiks .....	36
Abbildung 19: AO-UHR-OCT.....	36

## **Tabellenverzeichnis**

Tabelle 1: Vergleich von OCT und Angiographie.....	24
Tabelle 2: Quantitative Analyse des morphologischen Effekts von Ranibizumab.....	28
Tabelle 3: Regressionsanalyse von Prognosefaktoren für die Sehschärfe.....	30
Tabelle 4: Stadien der AMD.....	32
Tabelle 5: Zeichen einer CNV und deren Aktivität.....	32
Tabelle 6: Sensitivität der drei bildgebenden Verfahren für die Identifikation von Zeichen einer AMD.....	33

## **Abkürzungsverzeichnis**

AMD	Altersbedingte Makuladegeneration
CNV	Choroidale Neovaskularisation
ILM	Innere Grenzmembran (engl, Inner Limiting Membrane)
NVAMD	Neovaskuläre altersbedingte Makuladegeneration
OCT	Optische Kohärenztomographie
PED	Pigmentepithelabhebung (engl. Pigment Epithelial Detachment)
RPE	Retinales Pigmentepithel
SDOCT	Spektral Domain Optische Kohärenztomographie
TDOCT	Time Domain Optische Kohärenztomographie
SRF	Subretinale Flüssigkeit
SRT	Subretinales hyperreflektives Material (engl. Subretinal Tissue)
VEGF	Vaskular Endothelial Growth Factor

## 1. Einleitung

Eine Besonderheit der Augenheilkunde und insbesondere der retinalen Diagnostik ist, dass viele Krankheitsbilder durch einfache Funduskopie erkannt werden können. In den letzten Jahrzehnten entwickelte sich die Medizintechnik jedoch mit rasanter Geschwindigkeit, so dass uns heute eine Vielzahl an Instrumenten zur Verfügung steht, mit deren Hilfe retinale Veränderungen mit hoher Detailgenauigkeit dargestellt werden können. Diese Instrumente haben sowohl das Verständnis, als auch die Diagnostik und Therapie retinaler Pathologien revolutioniert, was insbesondere für weit verbreitete Krankheitsbilder wie die altersbedingte Makuladegeneration (AMD) einen großen Fortschritt bedeutet.

Die vorgelegte Habilitationsschrift befasst sich mit der optischen Kohärenztomographie (OCT), einem der neuen, faszinierenden, hochauflösenden Instrumente der retinalen Diagnostik, und stellt deren Bedeutung für die Diagnostik der AMD im klinischen Alltag dar.

## 2. Entwicklung der retinalen Diagnostik

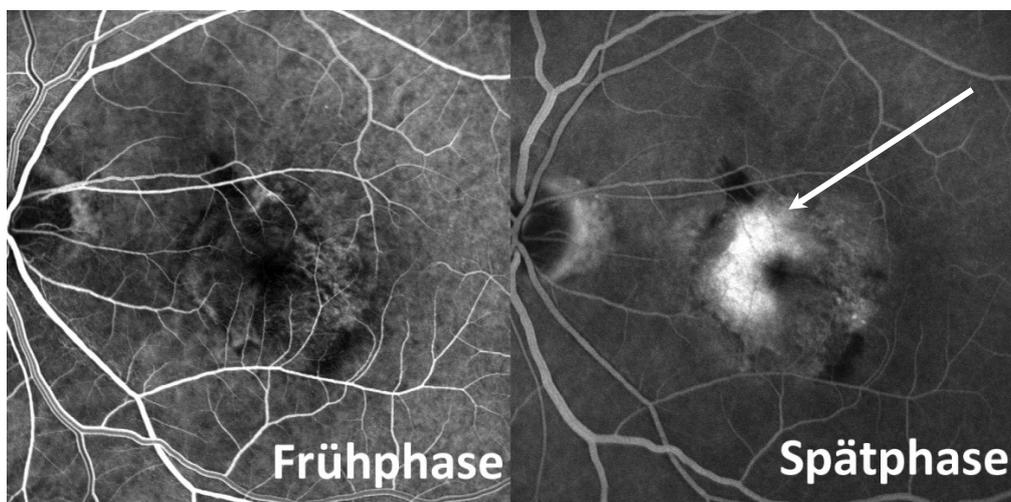
Eine bahnbrechende Erfindung auf dem Gebiet der retinalen Diagnostik war die Entwicklung des Augenspiegels durch H. von Helmholtz im Jahr 1851. Mittels Funduskopie lassen sich der Sehnerv, die retinalen Gefäße, die Makula sowie die Peripherie der Netzhaut betrachten (**Abbildung 1**). Die Funduskopie ist auch heute noch der Goldstandard der retinalen Diagnostik und wird sowohl in der klinischen Praxis, als auch in klinischen Studien genutzt.



**Abbildung 1:** Fundusphotographie eines Auges zentriert auf die Makula

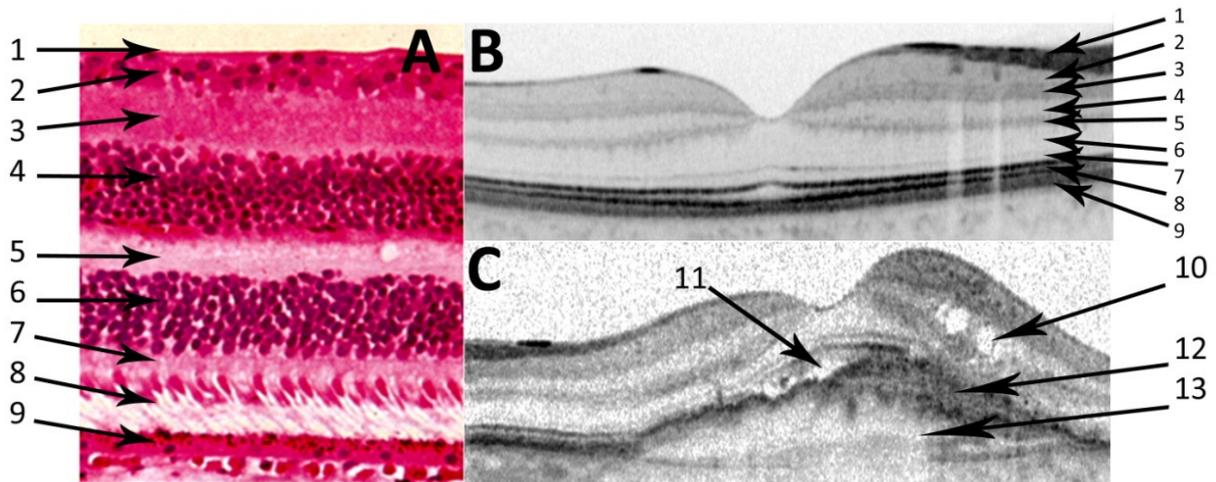
Mit Einführung der Fluoreszenzangiographie in den frühen 60er Jahren<sup>1,2</sup> gelang es, choroidale und retinale vaskuläre Erkrankungen genauer zu untersuchen (**Abbildung 2**). Der

bei diesem bildgebenden Verfahren intravenös injizierte Farbstoff Fluoreszein verteilt sich in den choroidalen und retinalen Gefäßen des Auges und ermöglicht es, anhand des Verteilungsmusters die Durchgängigkeit der Gefäße sowie die Integrität der Blut-Retina Schranke zu prüfen. Beschrieben werden hierbei hypo- und hyperfluoreszente Phänomene im Vergleich zum Normalbefund sowie deren Veränderung von der frühen Phase (<1 Minute) zur späten Phase (5-10 Minuten). Die Fluoreszenzangiographie ist auch heute noch der Goldstandard in der Beurteilung von choroidalen Neovaskularisationen (CNV) wie bei der neovaskulären AMD (siehe 5.2), und findet daneben Anwendung z.B. bei der diabetischen Retinopathie, retinalen Gefäßverschlüssen, Vaskulitiden und Tumoren.<sup>3,4</sup>



**Abbildung 2** Fluoreszenzangiographie eines Auges mit neovaskulärer AMD. Links: Frühphase der Fluoreszenzangiographie; Rechts: Spätphase der Fluoreszenzangiographie mit Austritt des Fluoreszeins im Bereich der Makula („Leckage“, Pfeil) aufgrund einer CNV bei AMD.

Die Einführung der OCT in den 90er Jahren war ein Meilenstein für die retinale Diagnostik.<sup>5</sup> Die klinische Anwendung erlangte 2001 mit der dritten Gerätegeneration, dem Stratus OCT der Firma Zeiss, den entscheidenden Durchbruch. Die OCT ermöglichte erstmals die Darstellung axialer Schnittbilder der Netzhaut in vivo. Die Untersuchung ist nicht invasiv und somit auch zum breiten Screening geeignet. OCT Bilder der neuesten Gerätegeneration, der sog. Spektral Domain OCT Geräte (s. 3.2), sind durch die hohe axiale Auflösung von bis zu 3 µm in ihrer Detailgenauigkeit mit histologischen Schnitten vergleichbar. Mithilfe der OCT lassen sich so kleinste Veränderungen der Netzhautoberfläche wie epiretinale Membranen, Makulaforamina oder Veränderungen der Photorezeptorschicht dreidimensional darstellen.<sup>6</sup> Bei Patienten mit AMD kann der Untersucher mithilfe des OCT sowohl morphologische Zeichen einer CNV erkennen (wie subretinales hyperreflektives Material oder eine Pigmentepithelabhebung), als auch Hinweise auf eine Aktivität der CNV, wie eine intra- oder subretinale Flüssigkeitsansammlung (**Abbildung 3**).

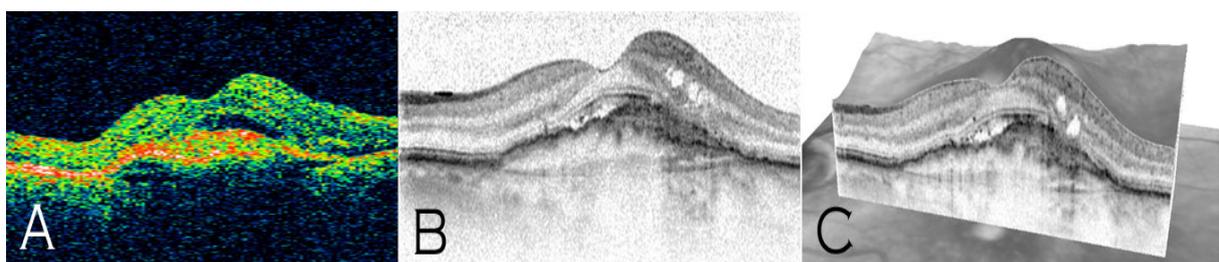


**Abbildung 3:** Interpretation von OCT Bildern im Vergleich zur Histologie. **(A) Histologie der Netzhaut; (B) OCT eines gesunden Auges;** 1 Nervenfaserschicht, 2 Ganglienzellschicht, 3 innere plexiforme Schicht, 4 innere Körnerschicht, 5 äußere plexiforme Schicht, 6 äußere Körnerschicht, 7 innere Photorezeptorsegmente, 8 äußere Photorezeptorsegmente, 9 Retinales Pigmentepithel, **(C) OCT eines Auges mit neovaskulärer AMD.** Zeichen einer Aktivität der CNV: 10 intraretinale cystoide Räume, 11 subretinale Flüssigkeit. Zeichen der CNV: 12 subretinales hyperreflektives Material, 13 Pigmentepithelabhebung.

### 3. Grundlagen der Optischen Kohärenztomographie (OCT)

#### 3.1. Technische Grundlagen

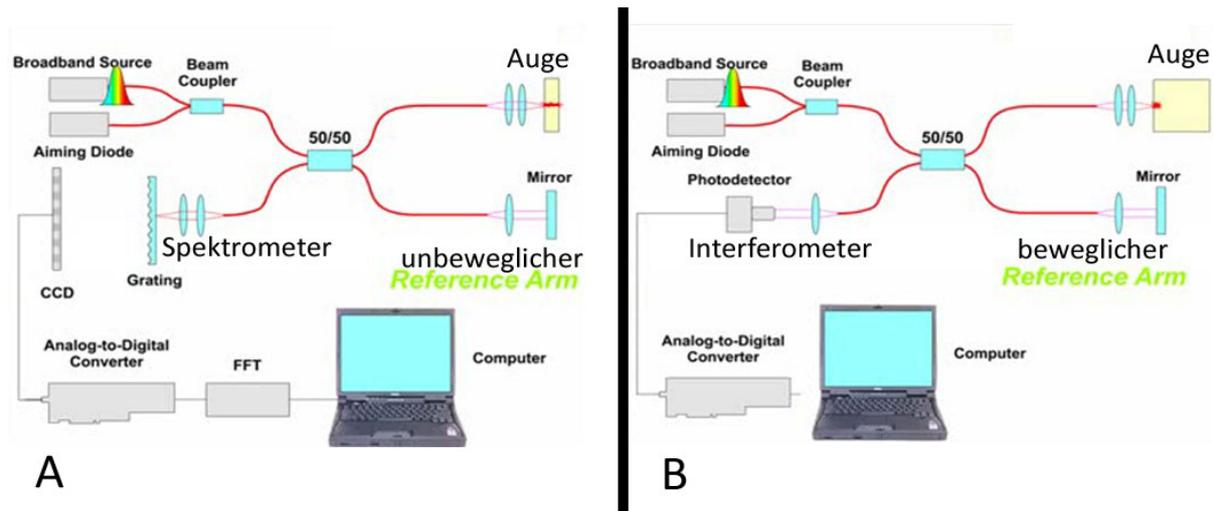
Die OCT ist ein Untersuchungsverfahren, bei dem Licht geringer Kohärenzlänge zur Entfernungsmessung reflektiver Strukturen eingesetzt wird. Bei der Untersuchung eines Auges mit dem OCT trifft das Licht einer Superlumineszenzdiode (ca. 800 nm Wellenlänge) auf die unterschiedlich reflektiven Strukturen der Netzhaut und des subretinalen Raums. Die Interferenz der Signale von der Netzhaut und einem Referenzarm bekannter optischer Wellenlänge ergibt ein Muster, aus welchem die relative optische Weglänge der unterschiedlichen retinalen Schichten und Strukturen herausgelesen werden kann. Aus dieser Information wird ein sog. OCT A-Scan berechnet. Mehrere parallele A-Scans werden zu einem B-Scan zusammengesetzt (**Abbildung 4**).



**Abbildung 4:** Time Domain und Spektral Domain OCT. A) Time Domain OCT B-Scan zusammengesetzt aus 128 parallelen A-Scans; (B) Hochauflösender Spektral Domain OCT B-Scan bestehend aus 512 parallelen A-Scans; (C) Dreidimensionale Darstellung der Netzhaut aus mehreren Spektral Domain OCT B-Scans.

### 3.2. Time Domain OCT (TDOCT) versus Spektral Domain OCT (SDOCT)

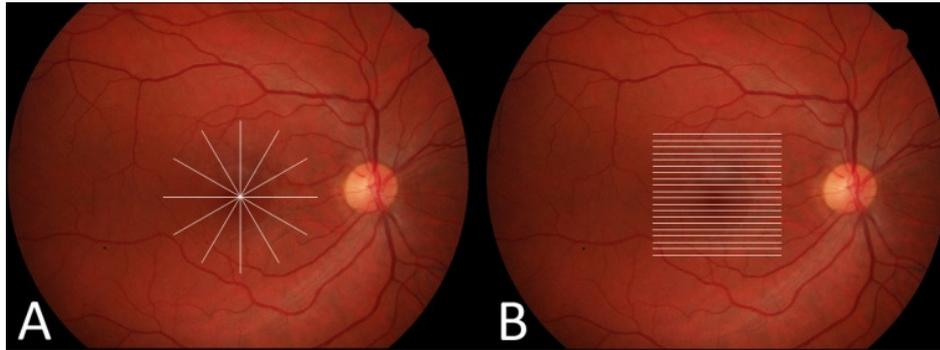
Für die Berechnung einzelner OCT A-Scans ist es möglich, entweder den Referenzarm in der Länge zu verändern und mit Hilfe eines Michelson Interferometers kontinuierlich die Intensität der Interferenz zu messen ohne auf das Spektrum Rücksicht zu nehmen (sog. Time Domain OCT, TDOCT), oder mit Hilfe eines Spektrometers die Interferenz der einzelnen spektralen Komponenten zu erfassen (sog. Spektral Domain OCT, SDOCT) (**Abbildung 5**).



**Abbildung 5:** Prinzip des OCT. (A) Spektral Domain OCT (B) Time Domain OCT. Abbildung der Universität von Houston, Biomedical Optics Laboratory.

Das SDOCT-Verfahren wurde erst durch schnelle, empfindliche Kameras und leistungsfähige Rechner ermöglicht und ist erst seit wenigen Jahren für den klinischen Einsatz erhältlich. Ein Vorteil des SDOCT-Verfahrens liegt in der schnellen simultanen Messung, mit welcher die vollständige Information über die Anordnung der retinalen Schichten akquiriert werden kann, ohne ein bewegliches Teil zu benötigen. Die hohe Scangeschwindigkeit (ca. 40.000 A-Scans / Sekunde im Vergleich zu 400 A-Scans / Sekunde beim TDOCT-Verfahren) ermöglicht es, eine Vielzahl an parallelen OCT B-Scans innerhalb kurzer Zeit aufzunehmen und so ein großes Areal der Netzhaut vollständig zu erfassen und dreidimensional darzustellen (**Abbildung 6**). Das Stratus TDOCT Instrument hingegen bietet nur Scanraster mit einer geringeren Anzahl an B-Scans an, z.B. den zumeist verwendeten Sternscan bestehend aus 6 radiär angeordneten OCT B-Scans (**Abbildung 6**). Darüber hinaus werden durch die hohe Geschwindigkeit des SDOCTs Artefakte, welche durch Augenbewegungen des Patienten während der Aufnahme entstehen können, minimiert. Ein weiterer Vorteil der SDOCT Geräte ist die höhere axiale Auflösung der Bilder von bis zu 3  $\mu\text{m}$

(im Vergleich zu 8  $\mu\text{m}$  beim TDOCT), welche durch die Verwendung von Licht größerer Bandbreite erreicht wird.



**Abbildung 6:** (A) Sternscan mit 6 radiären B-Scans eines TDOCT; (B) Volumenscan mit multiplen parallelen B-Scans eines SDOCT.

Um zu beantworten, ob die Unterschiede zwischen TDOCT und SDOCT klinisch relevant sind, führten wir eine Studie an 50 Patienten durch, welche mit beiden Instrumenten untersucht wurden.<sup>7</sup> Alle OCT-Scans wurden unabhängig voneinander auf das Vorhandensein verschiedener chorioretinaler Veränderungen (z.B. epiretinale Membranen, Makulaforamina, intra- oder subretinale Flüssigkeit, subretinales hyperreflektives Material, Pigmentepithelabhebungen) untersucht und die Ergebnisse verglichen. Ein Befund galt als vorhanden, wenn er auf Bildern zumindest eines der beiden Instrumente erkennbar war. Es zeigte sich, dass das SDOCT mit 94% im Mittel deutlich sensitiver die verschiedenen Befunde darstellte als das TDOCT mit nur 60%. In 39 von 50 Augen (78%) zeigte das SDOCT Befunde, die auf den TDOCT Scans nicht zu erkennen waren. Dies kann zum einen dadurch erklärt werden, dass die Auflösung der TDOCTs geringer ist als die der SDOCTs und so kleine Veränderungen auf den TDOCTs übersehen oder falsch interpretiert werden können. Zum anderen ist es denkbar, dass eine kleine Pathologie von dem Sternscan des TDOCT nicht erfasst wurde, wohl aber auf dem Volumenscan des SDOCT erkennbar ist. Diese Qualitätsunterschiede wurden von anderen Autoren bestätigt.<sup>8,9</sup>

#### **4. Grading-Software zur quantitativen Auswertung von OCT Bildern**

##### *4.1. Qualitative Analyse versus quantitative Analyse*

Quantifizierbare Parameter sind in der Medizin wesentlich, um eine objektive Diagnostik zu ermöglichen. Quantitative Befunde erlauben eine objektive Aussage über Abweichungen von Normalbefunden, einen Vergleich zwischen Patienten oder Studien, sowie genaue Verlaufsbeobachtungen. Neben der Darstellung der OCT Bilder zur

qualitativen Auswertung bieten alle OCT Geräte die Möglichkeit, retinale Strukturen mithilfe automatischer Software zu vermessen. Die errechneten Dickenwerte und Volumina der Netzhaut werden zunehmend im klinischen Alltag, aber auch in klinischen Studien als Ein- oder Ausschlusskriterium, sowie als Verlaufsparemeter verwendet.<sup>10-15</sup>

#### 4.2. *Limitationen der automatischen Software*

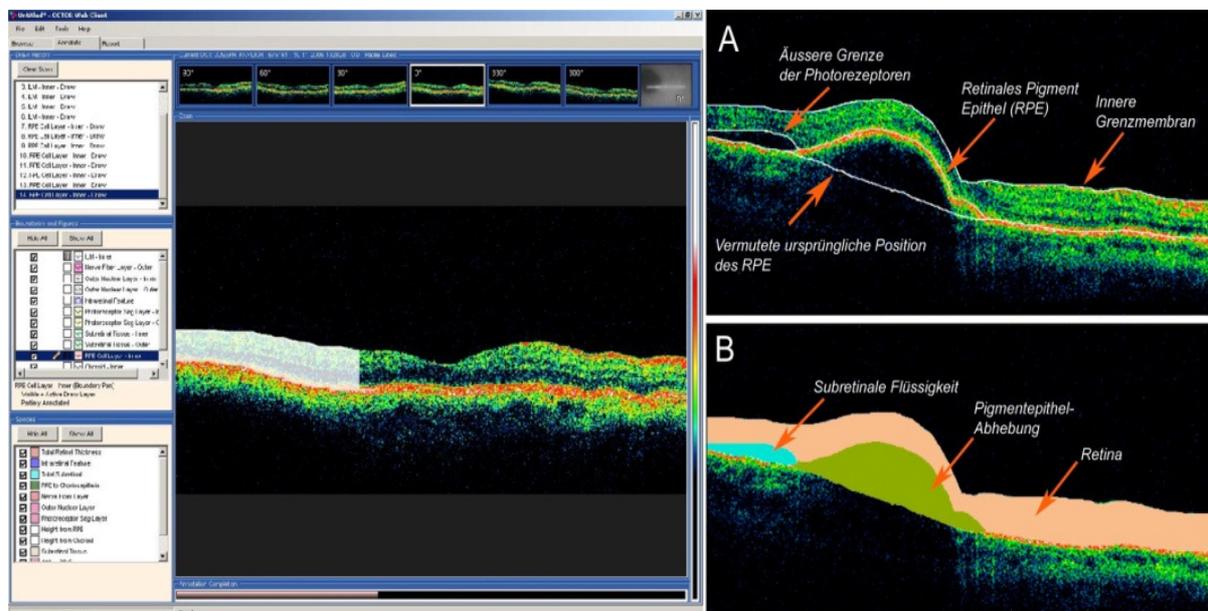
Zahlreiche Studien konnten eine hohe Reproduzierbarkeit der automatischen Messungen verschiedener OCT Geräte nachweisen.<sup>16,17</sup> Fehlerhaften Messungen finden sich jedoch gehäuft bei Artefakten der OCT Scans, sowie bei komplexen morphologischen Veränderungen der Netzhaut, z.B. bei Augen mit AMD.<sup>18,19</sup> Die Arbeitsgruppe von Sadda et al untersuchte die automatischen Auswertungen des Stratus TDOCTs bei 200 Patienten mit verschiedenen retinalen Erkrankungen und fand leichte Fehler bei der automatischen Detektion der Netzhautgrenzen bei 92% der Augen, sowie ausgeprägte Fehlermessungen bei 13,5%.<sup>20</sup> Dies muss bei der Interpretation der Ergebnisse klinischer Studien kritisch bedacht werden. Augen mit neovaskulärer AMD wiesen häufiger Fehler auf als Augen mit weniger komplexen morphologischen Veränderungen, wie z.B. einer diabetischen Retinopathie.

Bedingt durch die höhere Auflösung und geringeren Artefakte der SDOCT Bilder erwartete man, dass die automatischen Messungen dieser Instrumente eine geringere Fehlerquote aufweisen sollten, als die der herkömmlichen TDOCT Geräte. Eine Studie unserer Arbeitsgruppe an 209 Augen mit verschiedenen retinalen Erkrankungen konnte dies bestätigen.<sup>21</sup> Verwendet wurde ein SDOCT der Firma Zeiss („Cirrus OCT“). Unter Anwendung derselben Kriterien wie in der o.g. Studie fanden wir leichte Fehler in 57,5% der Patienten, und ausgeprägte Fehlermessungen in 9,6% der Augen. Andere Arbeitsgruppen beschreiben vergleichbare Ergebnisse.<sup>9</sup> Diese Untersuchungen zeigen, dass die neuen, hochauflösenden OCT Instrumente zwar die Fehlerquote der automatischen Messungen erheblich senken konnten, jedoch weiterhin bei jedem 10. Patienten Fehlmessungen auftreten, die die Ergebnisse klinischer Studien signifikant verfälschen können.

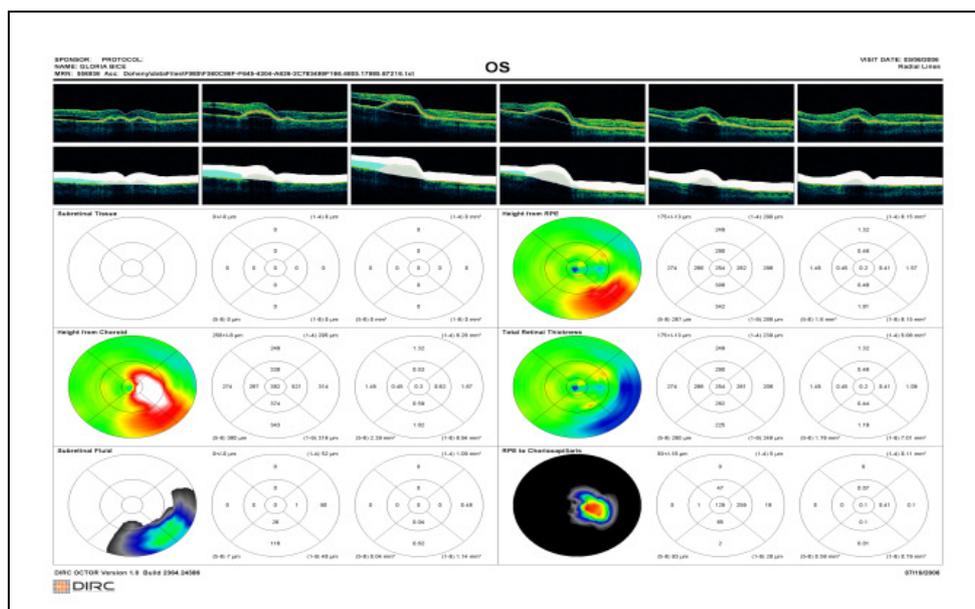
#### 4.3. *Manuelle Grading Software (OCTOR)*

Im Gegensatz zu den häufig fehlerhaften automatischen Messungen ermöglicht die manuelle Analyse von OCT B-Scans die exakte und korrekte Berechnung der Netzhautdicke.

Zusätzlich können darüber hinaus weitere Strukturen wie z.B. subretinale Flüssigkeit, subretinales hyperreflektives Material oder Pigmentepithelabhebungen quantifiziert werden. Eine derartige Software zur Computer-unterstützten manuellen Auswertung von TDOCT Scans wurde von Softwareentwicklern des Doheny Eye Institutes in Los Angeles entwickelt („OCTOR“, <http://www.diesel.la>).<sup>22</sup> Eine vergleichbare Software ist derzeit kommerziell nicht erhältlich. Die Software ermöglicht dem Grader, mit Hilfe einer Computermaus Begrenzungslinien verschiedener retinaler Strukturen auf jedem der 6 radiären OCT Scans manuell einzuzeichnen (**Abbildung 7**). Anschließend berechnet die Software den Abstand der Pixel zwischen den Begrenzungslinien einer Struktur, und konvertiert die Pixelwerte in Mikrometer. Die fehlenden Areale zwischen den Scans werden mithilfe eines speziellen Interpolations-Algorithmus ergänzt und so eine landkartenartige Dickenmappe aller eingezeichneten Strukturen erstellt (**Abbildung 8**).



**Abbildung 7:** Manuelle Grading-Software OCTOR. Links: Grading eines OCT Scans mithilfe der Software; Rechts: (A) manuell gezeichnete innere und äußere Begrenzungslinien verschiedener Strukturen, (B) von den Begrenzungslinien markierte Strukturen Retina, subretinale Flüssigkeit und Pigmentepithelabhebung.



**Abbildung 8:** OCTOR-Ergebnisbogen mit Dicken- und Volumenwerten der eingezeichneten Strukturen  
 4.4. Validierung der manuellen Grading Software „OCTOR“

Um die OCTOR Software zu validieren, führten wir eine Studie an 20 Augen ohne vitreoretinale Veränderungen durch.<sup>22</sup> Die Stratus OCT Scans der Patienten wurden von zwei Gradern unabhängig voneinander mithilfe der OCTOR Software analysiert. Hierbei wurden sowohl das Volumen, als auch die zentrale Dicke der Netzhaut manuell bestimmt. Die ermittelten Werte beider Grader wurden anschließend sowohl miteinander, als auch mit den von der Stratus OCT Software automatisch ermittelten Werten verglichen, nachdem Fehlermessungen bei der automatischen Software ausgeschlossen wurden. Die mittlere Differenz zwischen den Werten beider Grader war mit lediglich  $0,02 \text{ mm}^3$  (0,4% des mittleren Netzhautvolumens von  $6,81 \text{ mm}^3$ ) vernachlässigbar gering. Die Differenz zwischen den manuell und den automatisch ermittelten Werten war mit  $0,06 \text{ mm}^3$  (0,9%) im Mittel ebenfalls gering. Der maximale Unterschied zwischen beiden Gradern betrug  $0,09 \text{ mm}^3$  (1,3%) und zwischen den manuell und den automatisch berechneten Werten  $0,13 \text{ mm}^3$  (2,0%). Diese Unterschiede (sowohl zwischen beiden Gradern als auch zu den automatisch ermittelten Werten) waren statistisch nicht signifikant. Somit konnten wir nachweisen, dass die manuelle Berechnung des Netzhautvolumens bei gesunden Augen mithilfe der OCTOR Software reproduzierbar möglich ist.<sup>22</sup>

#### 4.5. Reproduzierbarkeit der manuellen Messungen bei retinaler Pathologie

Bei Patienten mit retinaler Pathologie, wie z.B. der neovaskulären AMD, ist die Identifikation der inneren und äußeren Netzhautgrenze im Gegensatz zu gesunden Augen erschwert. Dies ist der Grund, warum bei diesen Patienten häufig Fehler bei der automatischen Berechnung der Dickenwerte beobachtet werden.<sup>18-20</sup> Eine wichtige Voraussetzung für die korrekte und reproduzierbare manuelle Messung bei Patienten mit komplexen morphologischen Veränderungen ist die richtige Interpretation der OCT Bilder. Aus diesem Grund entwickelte unsere Arbeitsgruppe ein Standardprotokoll für die Auswertung der OCT Scans.<sup>23</sup> Um zu prüfen, ob eine quantitative Analyse von OCT Bildern mit komplexen morphologischen Veränderungen anhand dieses Standardprotokolls reproduzierbar möglich ist, führten wir eine Studie an 60 Augen mit neovaskulärer AMD durch.<sup>23</sup> Alle OCTs wurden von zwei Gradern unabhängig voneinander mithilfe der OCTOR Software nach den im Standardprotokoll beschriebenen Definitionen und Regeln ausgewertet. Dicke und Volumen der Netzhaut, subretinaler Flüssigkeit, subretinalem hyperreflektivem Material und von Pigmentepithelabhebungen wurden manuell bestimmt. Die Ergebnisse beider Grader zeigten eine beachtliche bis fast vollkommene Übereinstimmung ( $\kappa = 0,72 - 0,97$  nach Landis und Koch)<sup>24</sup> für alle Parameter und korrelierten sehr gut (Intraklassen-Korrelationskoeffizient ICC = 0,92 – 0,99).

Diese Ergebnisse belegen, dass eine detaillierte, quantitative Auswertung von OCT Bildern auch bei Patienten mit komplexen Krankheitsbildern wie der neovaskulären AMD reproduzierbar möglich ist. Die Verwendung von auf diese Weise ermittelten Daten anstelle der häufig fehlerhaften automatischen Messungen könnte die Qualität klinischer Studien erheblich verbessern.

## **5. Altersbedingte Makuladegeneration (AMD)**

### *5.1. Prävalenz*

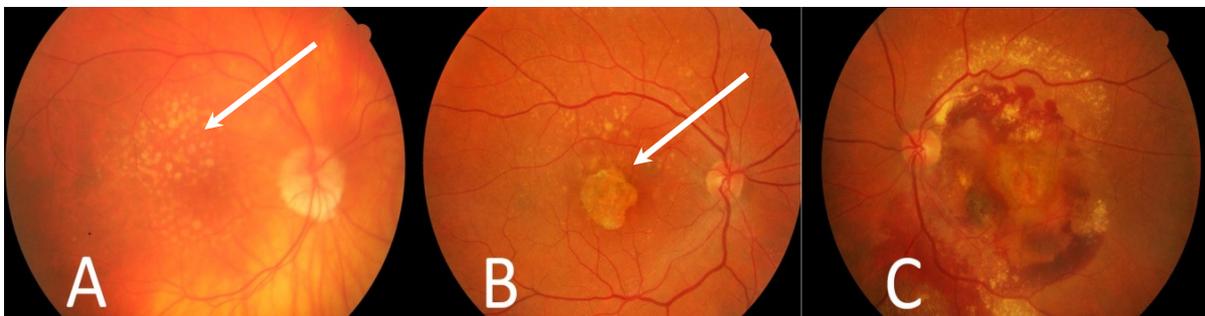
AMD ist die häufigste Ursache einer deutlichen Visusminderung bei Personen über 65 Jahren in Nordamerika und Europa.<sup>25-27</sup> Zwanzig Prozent der über 50-jährigen weisen retinale Veränderungen einer AMD auf. Weltweit sind 25 bis 30 Millionen Menschen erkrankt und ca. 500.000 Neuerkrankungen kommen jährlich dazu. Es wird erwartet, dass sich die Prävalenz der AMD in den nächsten 15 Jahren verdoppelt. Die Spätform der AMD verursacht eine progrediente Visusminderung, die unbehandelt bis zur Erblindung führen

kann. Aufgrund der demographischen Entwicklung in den westlichen Nationen stellt die hierdurch bedingte Visusminderung älterer Menschen ein zunehmendes Problem dar, das schon heute ein epidemisches Ausmaß erreicht hat.

### 5.2. Trockene Form und neovaskuläre Form der AMD

AMD tritt als „trockene“ Form und als „feuchte“ oder „neovaskuläre“ Form in Erscheinung (**Abbildung 9**). Die trockene Form der AMD macht ca. 80 % der Fälle aus, ist jedoch nur in 5 % bis 10 % für eine Erblindung bei AMD verantwortlich. In den Frühstadien kommt es zu einer Ablagerung von Stoffwechselendprodukten (z.B. Lipofuszin) im Bereich der Bruch'schen Membran (funduskopisch als Drusen erkennbar) und zu Veränderungen des retinalen Pigmentepithels, welches für die Regeneration und Funktion der Photorezeptoren von entscheidender Bedeutung ist. Im Spätstadium der trockenen AMD kommt es zu einer progredienten Atrophie des retinalen Pigmentepithels im Bereich der Makula (geographische Atrophie) mit konsekutiver Atrophie der Photorezeptoren.<sup>28</sup> Dies führt dazu, dass betroffene Patienten im Zentrum des Gesichtsfeldes ein Skotom entwickeln und z.B. Gesichter nicht mehr erkennen können.

Die trockene Form der AMD kann in die neovaskuläre Form übergehen, bei der sich unter der Netzhaut choroidale Neovaskularisationen (CNV) ausbilden, welche eine Exsudation von Flüssigkeit und Blut in die Netzhaut und den subretinalen Raum bewirken. Patienten mit CNVs entwickeln häufig Metamorphopsien (Wellensehen) als ein frühes Symptom. Unbehandelt bildet sich eine subretinale Fibrose (Junius-Kuhnt Narbe) und es kommt zu einer progredienten Visusminderung.



**Abbildung 9:** Formen der AMD. (A) Frühform der trockenen AMD mit Drusen (Pfeil), (B) Spätform der trockenen AMD mit geographischer Atrophie des retinalen Pigmentepithels (Pfeil), (C) Spätform der neovaskulären AMD mit CNV und Blutung.

### 5.3. Therapeutische Möglichkeiten der trockenen AMD

Für die trockene Form der AMD steht derzeit keine wirksame Therapie zur Verfügung. In Studien wurde ein protektiver Effekt von Lutein, Antioxidantien wie Vitamin C, E und Betakarotin, sowie von Zink bei ausgewählten Patienten nachgewiesen.<sup>29,30</sup> Der chirurgische Ansatz einer 360° Rotation der Netzhaut bei geographischer Atrophie wurde aufgrund von raschen Rezidiven, sowie einer hohen Komplikationsrate verlassen.<sup>31</sup> In einer prospektiven Studie konnten wir mithilfe eines modifizierten chirurgischen Ansatzes, der Translokation von autologem retinalen Pigmentepithel und Aderhaut aus der Peripherie unter die Makula bei 4 von 10 Patienten mit geographischer Atrophie eine Stabilisierung der Sehschärfe über 3 Jahre beschreiben.<sup>32,33</sup> Bei 6 der 10 Patienten kam es aufgrund von Komplikationen und ungünstiger Patientenselektion zu einer progredienten Visusminderung. Limitiert durch derartige Risiken und Komplikationen findet dieses operativ anspruchsvolle Verfahren trotz der guten Ergebnisse bei einzelnen Patienten derzeit keine breite Anwendung bei geographischer Atrophie. Weitere Studien müssen klären, ob eine chirurgische Intervention den Krankheitsverlauf bei einer anderen Patientengruppe günstig beeinflussen kann, z.B. bei Augen mit Einriss des retinalen Pigmentepithels.

#### 5.4. *Therapeutische Möglichkeiten der neovaskulären AMD*

Für die neovaskuläre Form der AMD war lange Zeit die Destruktion der CNV durch einen Argonlaser die einzig verfügbare Therapie.<sup>34</sup> Diese konnte zwar die Ausbreitung einer extrafovealen CNV wirkungsvoll verhindern, verursachte jedoch ein absolutes Skotom, wenn sie im zentralen Gesichtsfeld angewandt wurde. Seit April 2001 ist die photodynamische Therapie mit Verteporfin (Visudyne®) europaweit zugelassen. Mit 58% der behandelten Patienten versus 31% der unbehandelten Kontrollgruppe kam es signifikant häufiger zu einer Visusstabilisierung im Beobachtungszeitraum von 24 Monaten.<sup>3</sup> Eine Sehverbesserung konnte mithilfe der photodynamischen Therapie jedoch nur in seltenen Fällen erreicht werden.

Einige Autoren beschrieben ermutigende Ergebnisse nach chirurgischer autologer Translokation von retinalem Pigmentepithel und Aderhaut bei Patienten mit neovaskulärer AMD.<sup>35,36</sup> Wir führten daher eine prospektive Studie an 45 Augen mit neovaskulärer AMD durch, welche in der Zeit von März bis Dezember 2004 mit einer autologen Translokation von retinalem Pigmentepithel und Aderhaut behandelt wurden und bis zu einem Jahr beobachtet wurden.<sup>10,37,38</sup> Die Sehschärfe der Patienten sank im Mittel um 4 Reihen von 0,16 auf 1/15 nach 6 Monaten und blieb dann bis zur Kontrolle ein Jahr postoperativ stabil. Bei

vier Patienten konnte jedoch 6 Monate postoperativ ein Anstieg der Sehschärfe um 3 Reihen erreicht werden. Die anfänglich hohe Komplikationsrate konnte zwar durch eine Verfeinerung der Operationstechnik mit der Zeit gesenkt werden, die funktionellen Ergebnisse reichten jedoch nicht an die Ergebnisse neuer, seit dem Jahre 2005 verfügbarer Therapien heran.

Im Jahre 2005 revolutionierte die Markteinführung der anti-VEGF Medikamente („Vascular Endothelial Growth Factor“, zuerst das Off-Label Medikament Bevacizumab [Avastin®], dann Pegaptanib [Macugen®] und schließlich Ranibizumab [Lucentis®]) die Behandlung der neovaskulären AMD. Die intravitreal injizierten Medikamente werden in Abständen von bis zu einem Monat verabreicht. Studien konnten erstmals eine signifikante Verbesserung der Sehschärfe bei einem Drittel der Patienten, sowie eine Stabilisierung bei bis zu 90% der Patienten über 24 Monate belegen.<sup>39-43</sup> Aufgrund dieser beeindruckenden Ergebnisse konnte sich die Behandlung der neovaskulären AMD mit Medikamenten der anti-VEGF Gruppe weltweit schnell als Standardtherapie durchsetzen. In vielen Fällen kommt es jedoch zu Rezidiven der CNV Aktivität mit konsekutiver erneuter Verminderung der Sehschärfe, wenn die Behandlung unterbrochen wird. Die für einen dauerhaften Therapieerfolg erforderliche Injektionsfrequenz und Behandlungsdauer ist derzeit Gegenstand zahlreicher Studien.<sup>12,44-46</sup>

## **6. Die Bedeutung der OCT in klinische Studien zur AMD**

Die rasante Entwicklung therapeutischer Möglichkeiten bei neovaskulärer AMD in den letzten Jahren führte zu einer regelrechten Schwemme an Publikationen klinischer Studien. Die Wahl klinisch bedeutsamer Endpunkte sowie der richtigen Ein- und Ausschlusskriterien ist anspruchsvoll, jedoch ausschlaggebend für die Aussagefähigkeit und Relevanz einer Studie, ebenso wie für die Vergleichbarkeit der Studien untereinander. Neben funktionellen Endpunkten wie der Entwicklung der Sehschärfe werden zunehmend morphologische Kriterien als Marker eines Therapieerfolges verwendet.<sup>12,14</sup> Insbesondere die OCT konnte sich als wichtiges diagnostisches Verfahren für klinische Studien etablieren, da sie als nicht invasive Untersuchung einfach und ohne Risiken breit einsetzbar ist, und durch eine rasante Entwicklung der Technologie in den vergangenen Jahren die retinale Pathologie zunehmend detaillierter und zuverlässiger erfasst.<sup>5,23,45-47</sup>

Die Interpretation der OCT Bilder, die Bedeutung der erkennbaren pathologischen Strukturen für die Funktion der Netzhaut und die Prognose der Erkrankung, sowie die Korrelation von OCT Befunden mit Befunden anderer bildgebender Verfahren wie der Angiographie sind Gegenstand aktueller Forschung. Um in diesem Zusammenhang die Bedeutung der OCT für die Diagnostik der AMD näher zu definieren, führten wir verschiedene Studien durch, die im Folgenden beschrieben werden. Obgleich wir in den oben genannten Studien einen qualitativen Vorteil der SDOCTs gegenüber den TDOCTs nachweisen konnten, verwendet die Mehrzahl der im Folgenden beschriebenen Studien Bilder des Time Domain Stratus OCT Gerätes. Dies liegt daran, dass der Habilitandin zu der Zeit, in der diese Studien durchgeführt wurden, kein SDOCT Instrument zur Verfügung stand, und die Software zur manuellen Auswertung der SDOCTs („3D OCTOR“) noch nicht fertig gestellt war.

#### *6.1. Evaluierung von OCT Parametern der Netzhautdicke*

Klinische Studien, welche die Netzhautdicke als morphologischen Parameter verwenden, geben zumeist die zentrale Dicke der Netzhaut an („Foveal Center Point Thickness“ = FCP). Diese wird im Stratus OCT mithilfe des Sternscans (**Abbildung 6**) als Mittelwert +/- Standardabweichung aus den zentralen Dickenwerten jedes der 6 radiären TDOCT B-Scans ermittelt. Alternativ verwenden einige Studien die mittlere Dicke der zentralen 1000 µm der Netzhaut („Foveal Central Subfield“ = FCS), welche ebenfalls aus den 6 radiären OCT B-Scans, jedoch nicht aus einem einzelnen zentralen Dickenwert, sondern mithilfe von Interpolation aus dem Mittelwert der zentralen 1000 µm berechnet wird. Auf diese Weise wird ein größeres Areal der Netzhaut in die Messung eingeschlossen, jedoch kann durch die Interpolation der Wert auch verfälscht werden.

Wir führten eine Studie an 216 Augen durch, um die Werte der FCS Messungen mit denen des FCP zu vergleichen. Hierzu wurden die zentralen Dickenwerte des FCP und des FCS aller Augen sowohl manuell mithilfe der OCTOR Software berechnet als auch mit der automatischen Software des Stratus OCTs ermittelt.<sup>48</sup> Die Untersuchung ergab, dass die mittlere Differenz zwischen den manuell ermittelten FCP und FCS Werten mit 13,8 +/- 29,8 µm (6,9 +/- 12,6 %) gering war, und somit die Verwendung beider Werte vertretbar ist. Die Differenz zwischen den von der automatischen Software des Stratus OCT berechneten und

den manuell berechneten FCS Werten betrug  $51,6 \pm 60,6 \mu\text{m}$  ( $16,2 \pm 17,7 \%$ ), in 50% der Augen betrug die Differenz mehr als 10%. Der Unterschied zwischen automatisch berechneten und manuell berechneten Werten für den FCP war vergleichbar ( $59,2 \pm 69,2 \mu\text{m}$  ( $19,6 \pm 21,3 \%$ )). Diese Ergebnisse sind ein weiterer Hinweis darauf, dass die automatische Berechnung des Stratus OCT häufig fehlerhaft ist, und daher in ihrer Aussagekraft hinter den manuell bestimmten Messungen zurückbleibt.

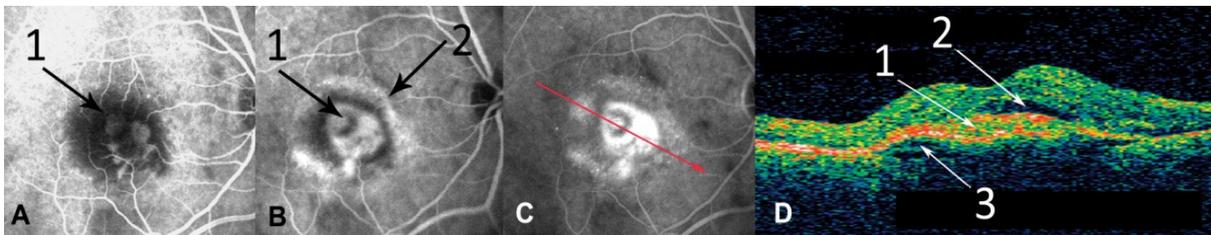
## 6.2. Korrelation zwischen Angiographie und OCT

Sowohl Angiographie und als auch OCT liefern Informationen über den Phänotyp einer CNV sowie über deren Aktivität. Während die Angiographie die Verteilung des Fluoreszeins über die Zeit darstellt, fehlt dem OCT diese zeitliche Komponente. Dagegen ist in dem Schnittbild des OCT die Anordnung der verschiedenen retinalen Schichten und subretinalen Strukturen zu erkennen. Beide bildgebenden Verfahren liefern unterschiedliche Informationen über die retinale Morphologie, ergänzen sich jedoch in ihrer Aussagekraft.

Der Goldstandard in der Diagnostik der CNV war lange Zeit die Angiographie.<sup>3,34</sup> Choroidale Neovaskularisationen werden angiographisch in zwei Formen unterteilt: die klassische CNV und die occulte CNV.<sup>3</sup> Die Leckage einer klassischen CNV ist angiographisch definiert als bereits in der Frühphase der Angiographie erkennbare, scharf begrenzte Hyperfluoreszenz mit zunehmender diffuser Leckage in der Spätphase. Histologisch wird vermutet, dass die pathologischen Gefäßneubildungen bei dieser Form der CNV aus der Aderhaut durch einen Defekt in der Bruch'schen Membran und durch das retinale Pigmentepithel hindurch unter die Netzhaut wachsen und sich dort ausbreiten (histologisch sog. Typ 2 CNV),<sup>49,50</sup> und daher vermutlich im OCT als subretinales hyperreflektives Material sichtbar werden. Die Leckage einer occulten CNV ist angiographisch definiert als eine irreguläre, gefleckte oder gestipelte Hyperfluoreszenz, die zeitlich einen variablen Verlauf zeigen kann. Typischerweise wird diese Form der Leckage erst in der Mittelphase sichtbar und zeigt bis in die Spätphase eine Zunahme der Intensität. Histologisch vermutet man, dass sich die occulte Form der CNV unterhalb des retinalen Pigmentepithels ausbreitet (histologisch sog. Typ 1 CNV)<sup>49,50</sup> und so im OCT häufig als eine Pigmentepithelabhebung erkennbar wird. Eine angiographisch sichtbare Leckage bei aktiver CNV manifestiert sich im OCT typischerweise als intraretinale, subretinale oder unter dem retinalen Pigmentepithel befindliche Flüssigkeit.<sup>51-54</sup>

### 6.2.1. Quantitative OCT Analyse verschiedener Typen der neovaskulären AMD

Basierend auf der klassischen und der occulten Form der CNV werden Augen mit neovaskulärer AMD angiographisch in drei verschiedene Typen eingeteilt: Vorwiegend klassische CNV, minimal klassische CNV und rein occulte CNV.<sup>3,34</sup> Eine vorwiegend klassische CNV ist definiert als eine CNV Läsion, bei welcher der Anteil der klassischen Leckage am Gesamtareal der Läsion größer als 50% ist (**Abbildung 10**), und somit die anderen Läsionskomponenten (occulte CNV, Blut, Areale blockierter Fluoreszenz und vernarbte CNV Membranen) weniger als 50% der Läsion ausmachen. Eine minimal klassische CNV ist definiert als eine CNV, bei welcher der Anteil der klassischen Leckage weniger als 50% am Gesamtareal beträgt. Bei einer rein occulten CNV ist kein klassischer Anteil sichtbar, sondern ausschließlich occulte Leckage oder andere der o.g. Läsionskomponenten.



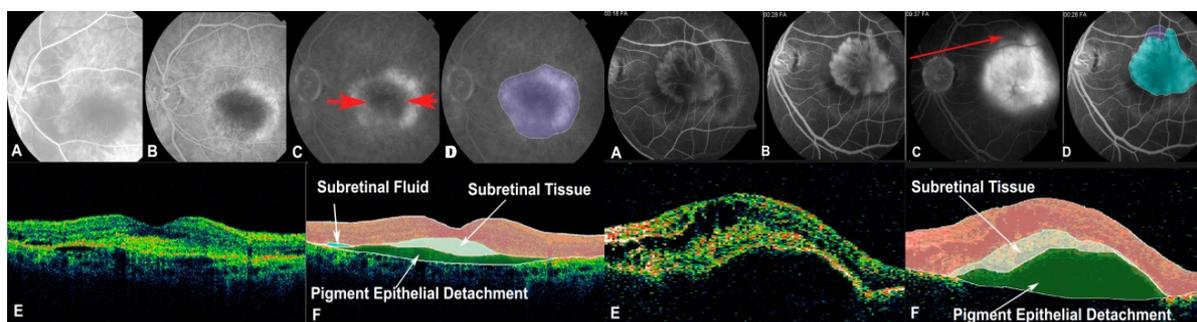
**Abbildung 10:** Angiographie einer aktiven, vorwiegend klassischen CNV und zugehöriges OCT. (A) Frühphase der Angiographie mit beginnender klassischer Leckage (1); (B) Mittelphase und (C) Spätphase mit progredienter klassischer (1) und umgebender occulter Leckage (2); (D) OCT Scan mit subretinalem hyperreflektivem Material (1), subretinaler Flüssigkeit (2) und einer Pigmentepithelabhebung (3).

Um die Erscheinungsform der drei angiographischen Typen der neovaskulären AMD im OCT näher zu untersuchen und miteinander anhand einer quantitativen Subanalyse der OCT Bilder zu vergleichen, führten wir eine Studie an 66 Augen mit aktiver, neovaskulärer AMD durch.<sup>55</sup> Nach angiographischer Klassifizierung der Augen wurden alle OCTs mithilfe der OCTOR Software manuell ausgewertet.

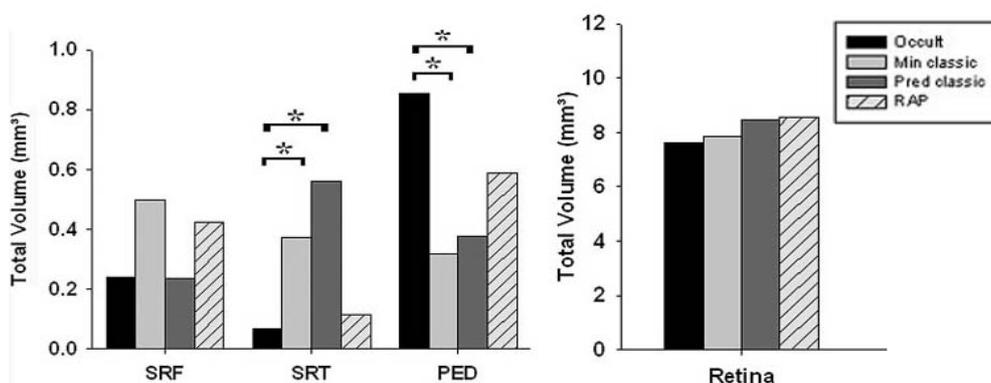
Die Ergebnisse der Studie bestätigten die klinische Vermutung, dass sowohl bei Augen mit vorwiegend klassischer als auch bei solchen mit minimal klassischer CNV in allen Fällen im OCT subretinales hyperreflektives Material erkennbar war. Dieses Material entspricht vermutlich einer histologisch zwischen Netzhaut und retinalem Pigmentepithel befindlichen Gefäßneubildung (histologisch Typ 2 CNV), welche sich angiographisch als klassische Leckage darstellt. In 7 der 24 Augen (29%) mit rein occultem Typ der CNV ohne angiographisch sichtbaren klassischen Anteil war im OCT jedoch ebenfalls subretinales hyperreflektives Material nachzuweisen. Diese Beobachtung deutet darauf hin, dass sich nicht nur eine klassische CNV im OCT als subretinales hyperreflektives Material darstellen kann, sondern auch andere Veränderungen wie z.B. subretinales Blut oder Ablagerungen der

Photorezeptoren (**Abbildung 11**). Das Volumen des subretinalen Materials im OCT war signifikant größer bei Augen mit minimal oder vorwiegend klassischer CNV als bei Augen mit rein occulter CNV (**Abbildung 12**). Eine weitere Diskrepanz zwischen Befunden der OCT und der Angiographie sahen wir bei Augen mit einer angiographisch vorwiegend klassischen CNV. Bei 2 von 5 Augen (40%) dieser Gruppe bei denen im OCT eine Pigmentepithelabhebung sichtbar war, war in der Angiographie keine occulte CNV erkennbar. Diese Diskrepanz lässt sich damit erklären, dass in diesen Fällen die unter dem retinalen Pigmentepithel befindliche CNV z.B. von einer subretinalen CNV oder einer subretinalen Blutung verdeckt wurde und daher in der Angiographie nicht sichtbar war (**Abbildung 11**).

Alle Augen mit rein occultem Typ der CNV zeigten eine Pigmentepithelabhebung im OCT, was die Vermutung bestärkt, dass eine angiographisch occulte CNV histologisch einer Gefäßneubildung unterhalb des retinalen Pigmentepithels (histologisch Typ 1 CNV) entspricht. Das Volumen der Pigmentepithelabhebung war signifikant größer bei Augen mit rein occulter CNV als bei Augen mit minimal oder vorwiegend klassischer CNV (**Abbildung 12**). Augen mit rein occulter CNV zeigten ein geringeres Netzhautvolumen als Augen mit vorwiegend und minimal klassischer CNV.



**Abbildung 11:** Links A-F: Angiographie einer rein occulten CNV mit zugehörigem OCT; Rechts A-F: Angiographie einer vorwiegend klassischen CNV mit zugehörigem OCT. (A) Frühphase, (B) Mittelphase, (C) Spätphase, (D) Grading der CNV, (E) OCT, (F) Grading des OCTs.



**Abbildung 12:** Vergleich zwischen verschiedenen angiographischen Typen der CNV anhand von OCT Parametern. SRF = Subretinale Flüssigkeit, SRT = subretinales hyperreflektives Material, PED = Pigmentepithelabhebung. \* Statistisch signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen ( $p < 0,001$ ).<sup>55</sup>

### 6.2.2. Verhältnis zwischen angiographischen und OCT Parametern bei der quantitativen Analyse der CNV

In der Literatur findet sich eine Reihe von Publikationen, welche einen Zusammenhang zwischen Befunden der OCT und der Angiographie qualitativ beschreiben.<sup>51-54</sup> Unklar ist jedoch, ob auch quantitative Parameter des OCT und der Angiographie miteinander korrelieren. Um dies zu prüfen, führten wir eine Studie an 65 Augen mit aktiver neovaskulärer AMD durch.<sup>56</sup> Anhand von OCT Bildern wurden das Volumen und die Dicke der Netzhaut, subretinaler Flüssigkeit, subretinalen hyperreflektiven Materials und einer Pigmentepithelabhebung mithilfe der OCTOR Software nach einem Standardprotokoll manuell bestimmt.<sup>23</sup> Bei den Angiographien wurde das Areal der klassischen und occulten CNV, sowie weiterer CNV Läsionskomponenten wie Blut, blockierte Fluoreszenz und vernarbte CNV („staining scar“) mithilfe einer Reading Center Software des Doheny Image Reading Centers manuell berechnet.<sup>56</sup>

Die Ergebnisse bestätigten auch hier die auf der Histologie basierende klinische Vermutung, dass 1. das Volumen einer Pigmentepithelabhebung im OCT mit dem Areal einer occulten CNV in der Angiographie korreliert, und 2. das Volumen subretinalen Materials im OCT mit dem Areal einer klassischen CNV, subretinalen Bluts und vernarbter CNV in der Angiographie. Interessanterweise zeigten darüber hinaus auch die Parameter, die eine Aktivität der CNV anzeigen, schwache, jedoch signifikante Korrelationen. So korrelierten beispielsweise das Volumen subretinaler Flüssigkeit mit dem Areal einer occulten CNV, und das Volumen der Netzhaut mit dem Areal einer klassischen CNV (**Tabelle 1**).

	Subretinales hyperreflektives Material	Pigmentepithel-abhebung	Subretinale Flüssigkeit	Retina
Gesamte CNV Läsion	0.14	0.55***	0.22	0.24*
Gesamte CNV Leakage	-0.05	0.62***	0.28*	0.21
Klassische CNV	0.60***	-0.06	-0.01	0.38**
Occulte CNV	-0.26*	0.62***	0.28*	0.06
Staining Scar	0.37**	-0.09	-0.14	0.06
Blutung	0.34**	-0.07	0.01	0.12
Blockierte Fluoreszenz	0.24	-0.09	0.04	0.01

**Tabelle 1:** Verhältnis (Pearson Korrelation, R) zwischen OCT Volumenmessungen (mm<sup>3</sup>) und Flächenmessungen (mm<sup>2</sup>) verschiedener angiographischer Parameter.

\*Korrelation ist signifikant mit  $p < 0.05$ , \*\*signifikant mit  $p < 0.01$ , \*\*\*signifikant mit  $p < 0.001$

Zusammenfassend kann man feststellen, dass die qualitative wie quantitative Analyse von OCT Bildern unser Verständnis der retinalen Morphologie verfeinert. Trotz vieler

signifikanter Korrelationen zwischen angiographischen und OCT Parametern konnte die Variabilität der Befunde bislang jedoch nicht völlig erklärt werden. Diese Beobachtung unterstreicht, dass OCT und Angiographie unterschiedliche, sich ergänzende Informationen liefern, und einander nicht völlig ersetzen können. Ein Grading System, welches sowohl angiographische als auch OCT Kriterien miteinander verbindet könnte helfen, die verschiedenen Aspekte der Morphologie komplett zu erfassen und so die Qualität klinischer Studien zu verbessern.

### 6.3. *Vergleich zwischen CNV Membranen bei AMD und CNV Membranen bei hoher Myopie*

Choroidale Neovaskularisationen treten auf bei neovaskulärer AMD, jedoch auch bei anderen Krankheitsbildern wie der hohen Myopie, einer Chorioretinitis oder als idiopathische CNV ohne erkennbare Ursache.<sup>57</sup> Um herauszufinden, ob die CNV Membranen bei AMD sich in ihren Charakteristika von denen bei Myopie unterscheiden, führten wir eine Studie durch an 21 Augen mit CNV bei hoher Myopie und 52 Augen mit CNV bei neovaskulärer AMD.<sup>58</sup>

Die Ergebnisse zeigten, dass eine CNV bei hoher Myopie kleiner und weniger aktiv ist als eine CNV bei AMD. Sowohl das Volumen des subretinalen hyperreflektiven Materials ( $0,16 \pm 0,5 \text{ mm}^3$  versus  $0,40 \pm 0,65 \text{ mm}^3$ ,  $P=0,0998$ ), als auch das Volumen der Netzhaut ( $7,10 \pm 0,50 \text{ mm}^3$  versus  $7,96 \pm 1,28 \text{ mm}^3$ ,  $P=0,0039$ ) und der subretinalen Flüssigkeit ( $0,33 \pm 1,38 \text{ mm}^3$  versus  $0,44 \pm 0,58 \text{ mm}^3$ , Trend mit  $P=0,6416$ ) waren geringer in der Myopie Gruppe als in der AMD Gruppe. Das Volumen der Pigmentepithelabhebung war deutlich kleiner in der Myopie Gruppe ( $0,01 \pm 0,03 \text{ mm}^3$  versus  $1,01 \pm 1,82 \text{ mm}^3$ ,  $P=0,014$ ). Diese Beobachtung ist klinisch relevant, da die Aktivität einer myopen CNV leicht unterschätzt werden kann.

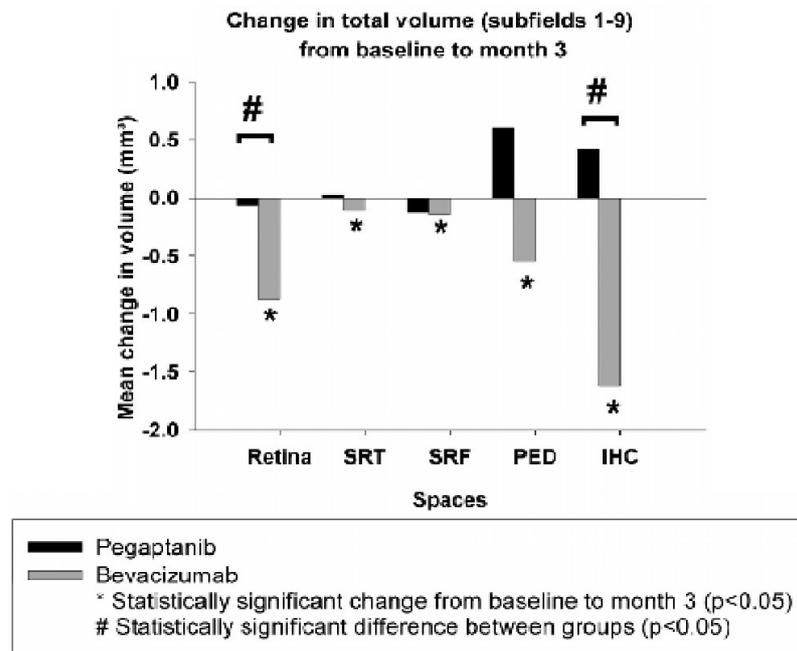
### 6.4. *Vergleich verschiedener Therapien der neovaskulären AMD anhand von OCT Parametern*

Zahlreiche Studien konnten belegen, dass sowohl Bevacizumab (Avastin®) als auch Pegaptanib (Macugen®) einen Einfluss auf die Gefäßpermeabilität haben und eine anatomische und funktionelle Verbesserung bei Patienten mit neovaskulärer AMD bewirken.<sup>39-41</sup> Der Therapieerfolg von Pegaptanib blieb in diesen Studien jedoch stets hinter

dem von Bevacizumab zurück. Der unterschiedliche Effekt der beiden Medikamente auf die retinale Morphologie lässt sich vermutlich durch eine unterschiedliche Struktur der beiden Moleküle erklären. Pegaptanib, ein 38-Basen Ribonukleinsäure Aptamer, wurde entwickelt um spezifisch an die VEGF Isoform 165 zu binden.<sup>39</sup> Das in der Augenheilkunde als off-Label Medikament eingesetzte Bevacizumab dagegen ist ein humanisierter monoklonaler Antikörper, welcher an mehrere VEGF Isoformen bindet und ursprünglich für die Behandlung von Kolonkarzinomen zugelassen wurde.<sup>41,59</sup>

Neben dem Vergleich der Charakteristika zweier Krankheitsbilder ermöglicht die quantitative OCT Subanalyse auch den Vergleich des morphologischen Effektes verschiedener Therapien. Um hierbei die Vorzüge der manuellen OCT Subanalyse mithilfe der OCTOR Software gegenüber den automatisch ermittelten OCT Parametern des Stratus OCTs zu untersuchen, führten wir eine retrospektive Studie an 53 Augen mit neovaskulärer AMD durch, welche entweder mit Bevacizumab oder Pegaptanib behandelt wurden.<sup>60</sup> Die OCTs vor Therapiebeginn sowie 3 Monate nach Therapie wurden mithilfe der OCTOR Software manuell wie vorbeschrieben ausgewertet. Weiterhin wurden die automatisch von der Software ermittelten Volumina der Netzhaut notiert.

Die Analyse der Ergebnisse zeigte eine deutliche Diskrepanz zwischen den manuell ermittelten OCTOR Werten und den automatisch ermittelten Stratus OCT Werten, welche durch eine fehlerhafte Markierung der Netzhautgrenzen durch die Stratus OCT Software erklärt werden kann. Die manuelle Auswertung der OCT Bilder ergab eine signifikante Reduktion der Netzhautdicke nach Therapie mit Bevacizumab, jedoch keine signifikante Änderung nach Therapie mit Pegaptanib (**Abbildung 13**). Die zusätzlich berechneten Volumina der subretinalen Flüssigkeit, des subretinalen hyperreflektiven Materials und der Pigmentepithelabhebungen zeigten ebenfalls eine signifikante Abnahme unter Therapie mit Bevacizumab nicht jedoch in der Pegaptanib Gruppe (**Abbildung 13**).



**Abbildung 13:** Vergleich des Therapieeffektes von Bevacizumab und Pegaptanib auf verschiedene, mithilfe manueller OCT Subanalyse ermittelte Parameter. SRT = Subretinales hyperreflektives Material, SRF = Subretinale Flüssigkeit, PED = Pigmentepithelabhebung, IHC = Inner Retinal Height from Choroid (Gesamtvolumen zwischen innerer Netzhautgrenze und Aderhaut)<sup>60</sup>

Anhand dieser Studie konnte demonstriert werden, dass die quantitative Subanalyse der OCT Bilder eine detailliertere Analyse des unterschiedlichen morphologischen Effektes verschiedener Therapien ermöglicht. Dies wäre mit der automatischen Software des Stratus OCT nicht möglich gewesen, da diese nur die Berechnung der Netzhautdicke anbietet.

### 6.5. Verlaufsbeobachtung des morphologischen Effektes von Ranibizumab bei neovaskulärer AMD

Kurze Zeit nach der Markteinführung von Pegaptanib (Macugen®) und des off-Label Medikamentes Bevacizumab (Avastin®) erschienen Studien zu Ranibizumab (Lucentis®), einem rekombinanten monoklonalen Antikörperfragment, welches alle bekannten aktiven Formen von VEGF-A bindet.<sup>42</sup> Ranibizumab erzielte in großen, prospektiven Phase III Studien sehr gute anatomische und funktionelle Ergebnisse, und ist derzeit die Standardtherapie der neovaskulären AMD.

Um den morphologischen Effekt von Ranibizumab genauer zu untersuchen, führten wir eine retrospektive Studie an 95 Augen mit neovaskulärer AMD durch.<sup>61</sup> Die OCTs aller Patienten vor Therapie mit Ranibizumab und im Verlauf bis zu 9 Monaten nach erster Injektion wurden mithilfe der OCTOR Software manuell analysiert. Zu jedem Zeitpunkt wurde das Volumen der Netzhaut und weiterer subretinaler Strukturen bestimmt, und die Änderung der Volumina im Vergleich zum Ausgangswert berechnet (**Tabelle 2**).

TABLE 2. Change in OCT Parameters for the Various Spaces and Subfields, from Baseline, Provided by OCTOR and by Stratus OCT Automated Analysis

Mean Change from Baseline		Week 1	Month 1	Month 3	Month 6	Month 9
OCTOR retina	FCP thickness ( $\mu\text{m}$ )	$-55.8 \pm 87.89^*$	$-44.83 \pm 91.54^\dagger$	$-30.52 \pm 94.5^\dagger$	$-30.55 \pm 78.11^*$	$-16.95 \pm 133.25$
	Total volume ( $\text{mm}^3$ )	$-0.37 \pm 0.53^\dagger$	$-0.43 \pm 0.78^\dagger$	$-0.33 \pm 0.88^\dagger$	$-0.28 \pm 0.63^\dagger$	$-0.32 \pm 1.07^\dagger$
Subretinal fluid	Total volume ( $\text{mm}^3$ )	$-0.11 \pm 0.15^\dagger$	$-0.24 \pm 0.50^\dagger$	$-0.24 \pm 0.47^\dagger$	$-0.19 \pm 0.47^\dagger$	$-0.18 \pm 0.48^\dagger$
Subretinal tissue	Total volume ( $\text{mm}^3$ )	$-0.03 \pm 0.15$	$-0.07 \pm 0.3^*$	$-0.05 \pm 0.38$	$-0.06 \pm 0.34$	$-0.06 \pm 0.5$
Pigment epithelial detachment	Total volume ( $\text{mm}^3$ )	$-0.23 \pm 0.6$	$-0.3 \pm 0.87^\dagger$	$-0.18 \pm 1.03^\dagger$	$-0.35 \pm 0.93^\dagger$	$-0.45 \pm 1.12^\dagger$
Height from RPE	FCP thickness ( $\mu\text{m}$ )	$-69.27 \pm 92.15^\dagger$	$-87.74 \pm 95.53^\dagger$	$-67.61 \pm 118.08^\dagger$	$-58.28 \pm 84.92^\dagger$	$-52.76 \pm 142.61^\dagger$
	Total volume ( $\text{mm}^3$ )	$-0.51 \pm 0.64^\dagger$	$-0.88 \pm 1.34^\dagger$	$-0.63 \pm 1.19^\dagger$	$-0.54 \pm 1.03^\dagger$	$-0.54 \pm 1.44^\dagger$
Height from choroid	FCP thickness ( $\mu\text{m}$ )	$-130.07 \pm 143.69^\dagger$	$-90.56 \pm 136.76^\dagger$	$-69.52 \pm 175.65^\dagger$	$-75.78 \pm 130.30^\dagger$	$-68.79 \pm 205.51^\dagger$
	Total volume ( $\text{mm}^3$ )	$-0.74 \pm 0.86^\dagger$	$-1.03 \pm 1.57^\dagger$	$-0.8 \pm 1.87^\dagger$	$-0.86 \pm 1.54^\dagger$	$-1.01 \pm 2.10^\dagger$
StratusOCT retina	FCP thickness ( $\mu\text{m}$ )	$-82.47 \pm 82.58^\dagger$	$-73.09 \pm 93.43^\dagger$	$-59.82 \pm 102.32^\dagger$	$-55.38 \pm 85.27^\dagger$	$-44.68 \pm 131.55^*$
	Total volume ( $\text{mm}^3$ )	$-0.60 \pm 0.59^\dagger$	$-0.63 \pm 1.26^\dagger$	$-0.55 \pm 1.43^\dagger$	$-0.47 \pm 0.94^\dagger$	$-0.56 \pm 1.43^\dagger$

Mean change from baseline was calculated by subtracting the value at baseline from the value at follow-up for each patient and then taking the mean value across all patients.

\*  $P < 0.05$ ;  $^\dagger P < 0.01$ .

**Tabelle 2:** Quantitative Analyse des morphologischen Effekts von Ranibizumab in Augen mit neovaskulärer AMD anhand der OCTOR Software.<sup>61</sup>

Die Ergebnisse unserer Studie zeigten, dass der deutlichste Effekt auf die Netzhautdicke bereits in der ersten Woche nach Injektion sichtbar war. Subretinale Flüssigkeit wie auch subretinales hyperreflektives Material erreichten im Mittel einen Monat nach Injektion ihren geringsten Wert, stiegen dann zwar erneut an, blieben jedoch bis zum Ende des Beobachtungszeitraumes unterhalb der zum Ausgangszeitpunkt gemessenen Volumina. Das mittlere Volumen einer Pigmentepithelabhebung nahm hingegen kontinuierlich ab (**Tabelle 2**). Mithilfe der OCTOR Software war eine detaillierte, quantitative Analyse des morphologischen Effektes von Ranibizumab möglich, welche eine unterschiedliche Wirkung des Medikamentes auf die verschiedenen retinalen und subretinalen Strukturen sichtbar machte.

Bei genauerer Untersuchung der Daten stellte sich heraus, dass es eine Patientengruppe gab, welche eine kontinuierliche Reduktion des Netzhautvolumens zeigten, und eine, welche initial gut auf die Therapie ansprachen, dann jedoch erneut eine Verdickung der Netzhaut zeigte. Um zu beantworten, ob diese beiden Patientengruppen

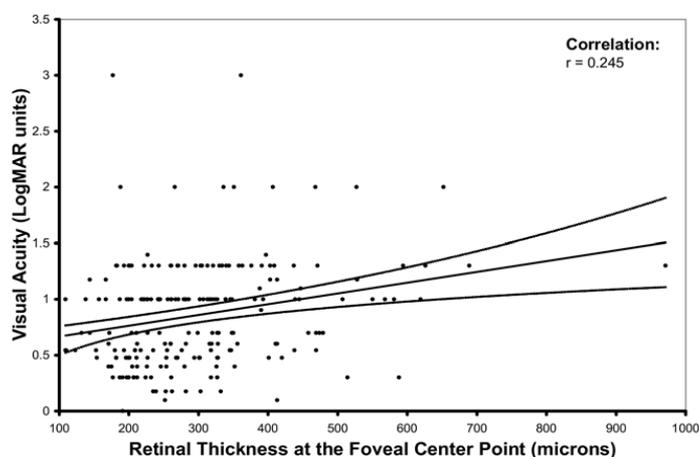
unterschiedliche Charakteristika aufwiesen, führten wie eine Subanalyse an 50 Patienten durch.<sup>61</sup> 42 der 50 Patienten (84%) zeigten eine Reduktion des Netzhautvolumens einen Monat nach Injektion mit Ranibizumab. Bei 16 dieser Patienten (38%) blieb dieser Therapieerfolg bis zu Monat 6 bestehen, während 26 Patienten (62%) einen erneuten Anstieg des Netzhautvolumens zeigten, was mit einer Verschlechterung der Sehschärfe korrelierte ( $r = 0.599$ ,  $p = 0.002$ ). Die Analyse der Daten ergab, dass Patienten, welche einen konstanten Therapieerfolg zeigten, im Beobachtungszeitraum signifikant häufiger mit Ranibizumab injiziert wurden als Patienten, bei denen das Netzhautvolumen erneut anstieg ( $3.75 \pm 1.18$  Injektionen versus  $2.96 \pm 1.34$  Injektionen,  $p = 0.049$ ). Diese Beobachtung deckt sich mit der anderer Autoren, welche einen Vorteil monatlicher Injektionen,<sup>42,43</sup> oder zumindest monatlicher Kontrollen und Injektion im Fall einer Aktivität der CNV,<sup>12,45</sup> gegenüber Injektionen im festen Abstand von 3 Monaten<sup>44</sup> beschrieben.

#### *6.6. Verhältnis zwischen OCT Parametern und der Sehschärfe bei Patienten mit neovaskulärer AMD*

Wie in den oben beschriebenen Studien nachgewiesen, ist die OCT sehr gut geeignet, die retinale Morphologie quantitativ zu erfassen, zu vergleichen, und im Verlauf z.B. unter Therapie zu beobachten. Bei Patienten mit unklarer Visusminderung kann die OCT häufig die ursächliche Pathologie darstellen. So ist bekannt, dass z.B. ein retinales Ödem im Bereich der Makula eine Verschlechterung der Sehschärfe erklären kann.<sup>63</sup> Einige Studien beschreiben eine statistisch signifikante (wenn auch häufig nur moderate) Korrelation zwischen Netzhautdicke und Sehschärfe.<sup>63</sup> Andere Studien dagegen konnten eine Korrelation zwischen Netzhautdicke und Visus nicht bestätigen.<sup>64</sup> Die genaue Bedeutung und der Zusammenhang der verschiedenen, im OCT sichtbaren Veränderungen für die retinaler Funktion ist bislang nicht völlig verstanden.

Wir führten eine Studie an 216 Augen mit aktiver, neu diagnostizierter neovaskulärer AMD durch, in welcher wir mithilfe der OCTOR Software die OCT Bilder manuell analysierten und die berechneten OCT Parameter mit der Sehschärfe der Patienten korrelierten.<sup>65</sup> In unserer Studie korrelierte die Dicke der Netzhaut moderat mit der Sehschärfe ( $r = 0.245$ ,  $p = 0.0004$ , **Abbildung 14**). Interessanterweise zeigte das Volumen an subretinalem hyperreflektivem Material ebenfalls eine statistisch hoch signifikante Korrelation mit der Sehschärfe ( $r = 0.370$ ,  $p = 0.0001$ ), wohingegen subretinale Flüssigkeit oder eine

Pigmentepithelabhebung keinen Einfluss hatte. 20 % der Variation der Sehschärfe bei Patienten mit angiographisch rein occulter CNV konnte erklärt werden anhand eines Regressionsmodells, welches Alter und subretinales hyperreflektives Material einschloss (**Tabelle 3**). Bei Patienten mit angiographisch minimal klassischer CNV konnten ganze 62% der Variation erklärt werden anhand eines Modells, welches Alter, subretinales hyperreflektives Material und Volumen der Netzhaut einschloss.



**Abbildung 14:** Korrelation zwischen Netzhautdicke und Sehschärfe bei 216 Augen mit neovaskulärer AMD<sup>65</sup>

Table 5. Multivariate Models\* of Visual Acuity and Optical Coherence Tomography Predictive Factors Stratified by Angiographic Classification

Factor	Partial R <sup>2</sup>	Model R <sup>2</sup>	Improvement Chi-Square P Value*
Model 1a: Minimally Classic FCP Thickness ( $\mu\text{m}$ )		0.4288	
Age	0.3031		0.0001
Neurosensory Retina	0.0669		0.005
SRT	0.0587		0.05
Model 1b: Minimally Classic Total Volume ( $\text{mm}^3$ )		0.6215	
SRT	0.3218		0.003
Neurosensory Retina	0.2150		0.003
Age	0.0847		0.04
Model 2a: Occult FCP Thickness ( $\mu\text{m}$ )		0.1906	
SRT	0.1674		<0.0001
Age	0.0232		0.07
Model 2b: Occult Total Volume ( $\text{mm}^3$ )		0.2006	
SRT	0.1857		<0.0001
Age	0.0150		0.14

SRT = subretinal tissue; FCP = foveal center point.  
\*Stepwise regression was used to select the variables that were independently associated with visual acuity.

**Tabelle 3:** Regressionsanalyse von Prognosefaktoren für die Sehschärfe<sup>65</sup>

Einige Autoren beschrieben kürzlich einen Zusammenhang zwischen der Sehschärfe und einer subfovealen klassischen CNV.<sup>66</sup> Unsere Studie war die erste, welche den Zusammenhang zwischen dem Volumen an subretinalem hyperreflektivem Material im OCT und einer verminderten Sehschärfe nachweisen konnte. Eine mögliche Erklärung für eine schlechtere Sehschärfe in Augen mit subretinalem hyperreflektivem Material ist, dass dieses unabhängig von dem histologischen Korrelat der hyperreflektiven Struktur die Funktion der

Photorezeptoren beeinträchtigt. Die Photorezeptoren verlieren den direkten Kontakt zum retinalen Pigmentepithel, der jedoch für den reibungslosen Stoffwechsel der Sinneszellen erforderlich ist. Bei Augen mit einem größeren Volumen an subretinalem hyperreflektivem Material handelt es sich zumeist um Augen mit einer größeren und somit vermutlich älteren CNV Läsion, welche bereits zu einer beginnenden Atrophie der Photorezeptoren geführt hat. Dies könnte darauf hinweisen, dass eine frühzeitige Intervention von großer Bedeutung für den Erhalt der Sehschärfe ist. Diese muss zum Ziel haben, die Aktivität einer CNV zu unterbinden, sowie das Wachstum einer CNV zu verhindern.

Eine Limitation dieser Studie ist die Verwendung von TDOCT Scans, welche die nur moderaten Korrelationen erklären könnte. Nach Veröffentlichung dieser Studie wurde von den Software Entwicklern des Doheny Eye Institutes eine Software zur manuellen quantitativen Analyse der qualitativ hochwertigeren, hochauflösenden SDOCTs fertig gestellt (3D OCTOR). Unsere Arbeitsgruppe in Köln untersucht derzeit in Kooperation mit dem Doheny Eye Institut morphologisch funktionelle Zusammenhänge unter Verwendung von SDOCTs, in welcher die Ergebnisse der Studie validiert werden sollen.

#### *6.7. Phänotypisierung von Augen mit AMD in epidemiologischen Studien*

Der Goldstandard für die Phänotypisierung von Augen mit AMD in epidemiologischen Studien war lange Zeit die Fundusphotographie.<sup>68-72</sup> Diese war vor Einführung der Angiographie in den 60er Jahren das einzig verfügbare bildgebende Verfahren der retinalen Diagnostik. Obgleich eine choroidale Neovaskularisation bei neovaskulärer AMD mithilfe der Angiographie detaillierter erfasst werden kann, und die Angiographie mittlerweile das Standardverfahren in Studien zur Therapie der AMD darstellt,<sup>3,42,43</sup> konnte sie sich in epidemiologischen Studien bislang nicht durchsetzen. Dies liegt insbesondere daran, dass es ethisch nicht vertretbar scheint, dieses invasive Verfahren bei dem breiten Screening epidemiologischer Studien standardmäßig einzusetzen.

Mit Einführung der OCT steht uns heute ein neues, nicht invasives Verfahren zur Verfügung, welches eine choroidale Neovaskularisation ebenfalls sensitiv erfassen kann.<sup>51</sup> Während das herkömmliche, weit verbreitete Time Domain Stratus OCT noch eine Reihe von Limitationen aufwies, ist mit Hilfe der neuen SDOCT Instrumente nun eine hochqualitative Erfassung retinaler Pathologie möglich.

Um den Stellenwert der SDOCT im Vergleich zur Fundusphotographie und zur Angiographie für die Phänotypisierung von AMD Patienten für epidemiologische Studien zu definieren, führten wir eine Studie an 120 Augen durch.<sup>67</sup> Hierfür sammelten wir retrospektiv Fundusfotos, Angiographien und SDOCT Volumenscans (vom gleichen Datum) von 120 Augen, darunter 88 Augen mit AMD und 32 Augen von Kontrollpatienten ohne Anzeichen einer AMD. Alle Bilder wurden anhand von Standardprotokollen verblindet gegenüber den jeweils andern bildgebenden Befunden ausgewertet.<sup>23,73</sup> Sowohl Zeichen einer AMD wie Drusen und Veränderungen des retinalen Pigmentepithels, als auch Zeichen einer CNV und deren Aktivität wurden notiert (**Tabelle 4 und 5**). Eine Pathologie galt als vorhanden, wenn sie auf mindestens einem der bildgebenden Verfahren zu erkennen war. Die Sensitivität jedes der Verfahren für die Identifikation der Befunde wurde bestimmt.

Stadium	Einteilung	Definition
1	Keine AMD	keine Drusen <i>oder</i> ausschließlich kleine (< 63 µm), harte Drusen
2	Frühe AMD	> 10 kleine Drusen + RPE Veränderungen <i>oder</i> intermediäre Drusen
3	Intermediäre AMD	> 15 intermediäre Drusen <i>oder</i> große Drusen (≥ 125 µm)
4	Geographische Atrophie	> 175 µm große Atrophie des retinalen Pigmentepithels und zusätzlich Zeichen einer AMD
5	Neovaskuläre AMD	Aktive <i>oder</i> vernarbte CNV und zusätzlich Zeichen einer AMD

**Tabelle 4:** Stadien der AMD

	Zeichen für eine CNV	Zeichen für die Aktivität einer CNV
Fundusfoto	Subretinales oder sub-RPE Blut, Flüssigkeit, harte Exsudate, Fibrose oder fibrovaskuläres Gewebe*	Subretinales oder sub-RPE Blut oder Flüssigkeit *
Angiographie	Klassische oder okkulte CNV oder Staining einer vernarbten CNV	Leckage einer klassischen oder okkulten CNV
SDOCT	Subretinales hyperreflektives Material oder eine Abhebung des retinalen Pigmentepithels*	Intra- oder subretinale Flüssigkeit*

**Tabelle 5:** Zeichen einer CNV und deren Aktivität in den drei bildgebenden Verfahren Fundusphotographie, Angiographie und OCT.

\*Nicht erklärt durch andere retinale Erkrankungen

Die Ergebnisse bestätigten die klinische Vermutung, dass die Fundusphotographie für die Diagnose einer AMD sehr gut geeignet, für die Identifikation einer CNV und insbesondere der Aktivität einer CNV jedoch der Angiographie und der OCT deutlich unterlegen war (**Tabelle 6**). Angiographie und OCT hingegen zeigten eine vergleichbare Sensitivität bei der

Darstellung einer CNV und deren Aktivität. Man kann daher schlussfolgern, dass die nicht invasive OCT hier eine gute Alternative zur Angiographie sein kann.

	Vorhanden in n Augen	Fundus Photographie	Fluoreszenz- Angiographie	Spectral Domain OCT
Große Drusen	50	62,00% (31/50)	26,00% (13/50)	84,00% (42/50)
RPE Atrophie	32	59,38% (19/32)	65,63% (21/32)	53,13% (17/32)
CNV*	70	75,71% (53/70)	98,57% (69/70)	92,86% (65/70)
Aktivität einer CNV*	61	39,34% (24/61)	86,89% (53/61)	86,89% (53/61)
AMD (Stadium 2-5)	88	85,23% (75/88)	87,5 % (77/88)	88,64% (78/88)
Neovaskuläre AMD	64	67,19 % (43/64)	93,75% (60/64)	79,69 % (51/64)
Geographische Atrophie	7	57,14 % (4/7)	57,14% (4/7)	57,14% (4/7)

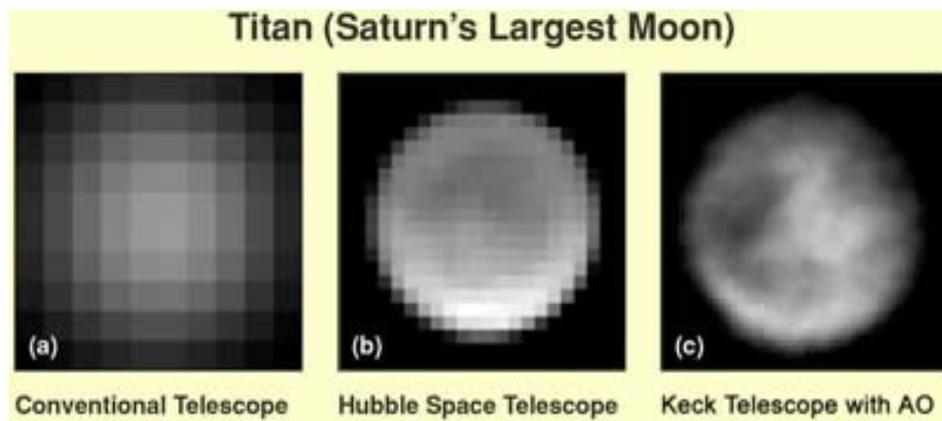
**Tabelle 6:** Sensitivität der drei bildgebenden Verfahren für die Identifikation von Zeichen einer AMD, einer CNV und deren Aktivität. Eine Pathologie galt als vorhanden, wenn sie mit min einem der Verfahren gesehen wurde.

Die Fundusphotographie ist unserer Meinung nach jedoch trotz der guten Ergebnisse nicht komplett durch die OCT ersetzbar, da die Zuordnung der auf den OCTs sichtbaren Befunden zu verschiedenen Pathologien bislang nicht völlig verstanden ist. So gab es beispielsweise in unserer Studie Patienten mit chorioretinitischen Herden, welche sich im OCT wie Drusen bei einer AMD darstellten, so dass diese Patienten bei der Befundung der OCTs fälschlicherweise als AMD Patienten interpretiert wurden. Darüber hinaus wurden z.B. Drusen auf den OCT Bildern häufig größer eingeschätzt als auf den Fundusphotographien. Eine mögliche Erklärung hierfür ist, dass auf den Fundusfotos nur die Spitze der Drusen sichtbar ist, jedoch die Basis sich im OCT als deutlich größer darstellen kann. Dies ist klinisch relevant, da in großen Studien die Größe der Drusen als Prognosefaktor für die Erkrankung beschrieben wurde.<sup>69</sup> So wurden Drusen  $\geq 125 \mu\text{m}$  z.B. als Kriterium für ein Stadium 3 der AMD definiert (**Tabelle 4**). Die Ergebnisse unserer Studie zeigen, dass die anhand von Fundusphotographien definierten geltenden Grenzwerte nicht einfach auf die OCT Bilder übertragen werden können, sondern für die OCT Bilder zuvor neu definiert und auf ihre klinische Relevanz geprüft werden müssen.

## 7. Zukunftsausblick: Adaptive Optik

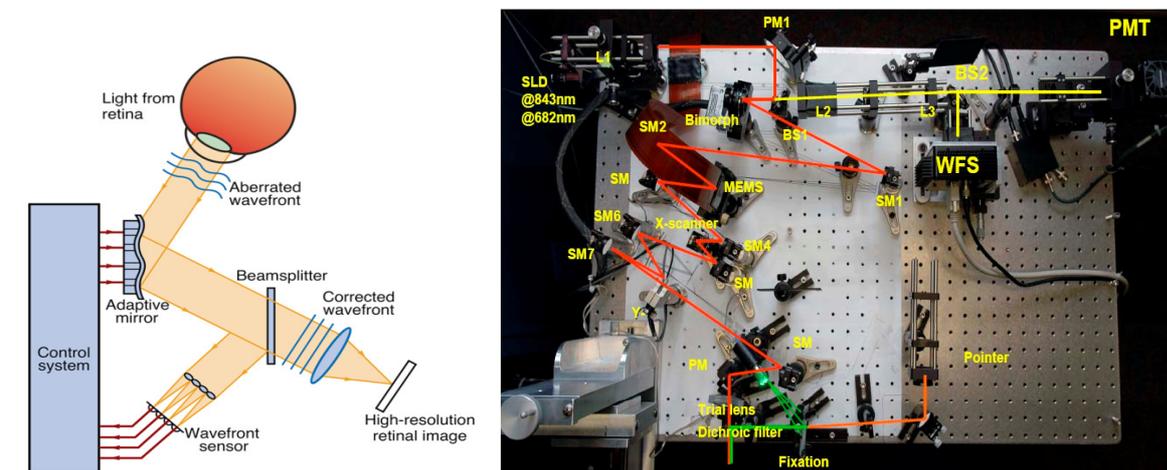
Die Auflösung bildgebender Verfahren in der retinalen Diagnostik kann in zwei voneinander unabhängige Arten unterteilt werden: die axiale und die laterale Auflösung. Die

axiale Auflösung ist abhängig von Wellenlänge und Bandbreite des verwendeten Lichtes. Neue Spektral Domain OCT Instrumente erreichen mithilfe neuer Lichtquellen eine axiale Auflösung von bis zu  $3\ \mu\text{m}$  (**Abbildung 3**). Die laterale Auflösung ist jedoch limitiert durch okuläre Aberrationen z.B. der Linse und des Glaskörpers, welche eine maximale laterale Auflösung von  $10\text{-}15\ \mu\text{m}$  zulassen. Eine neue Technologie, welche Aberrationen messen und korrigieren kann, ist die adaptive Optik.<sup>74</sup> Das Prinzip der adaptiven Optik stammt aus der Raumfahrtforschung und wird seit 1999 im Keck Teleskop auf Hawaii angewendet (**Abbildung 15**).<sup>75</sup>



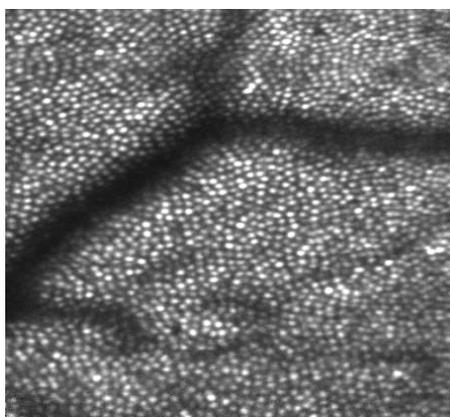
**Abbildung 15:** Auflösung eines Teleskops mit (C) und ohne (A, B) adaptive Optik

Adaptive Optik kann mit unterschiedlichen bildgebenden Verfahren kombiniert werden, um deren laterale Auflösung zu verbessern. Hierbei misst ein Wellenfrontsensor die durch Aberrationen des Auges verursachten Störungen der Wellenfront und korrigiert sie durch eine Kaskade von deformierbaren Spiegeln (**Abbildung 16**). Am Doheny Eye Institut stand der Habilitandin ein Instrument der ersten Generation zur Verfügung, welches die adaptive Optik mit einem Scanning Laser Ophthalmoskop (AOSLO) verbindet (**Abbildung 16**).<sup>74</sup> Das Instrument wurde bereitgestellt und betreut durch die Lawrence Livermore National Laboratory (LLNL, California), welche bereits die adaptive Optik des Keck Teleskopes entwickelte.<sup>75</sup>



**Abbildung 16:** Links: Prinzip der adaptiven Optik, rechts: Aufbau des AOSLO am Doherty Eye Institut. Dieses Instrument verwendet ein closed-loop adaptive optics System mit einem Hartmann-Shack Wellenfrontsensor und zwei verformbaren Spiegeln, einem bimorphen Spiegel mit 37 beweglichen Elementen und einem MEMS (Micro-electro-mechanical system) Spiegel mit 140 beweglichen Elementen.

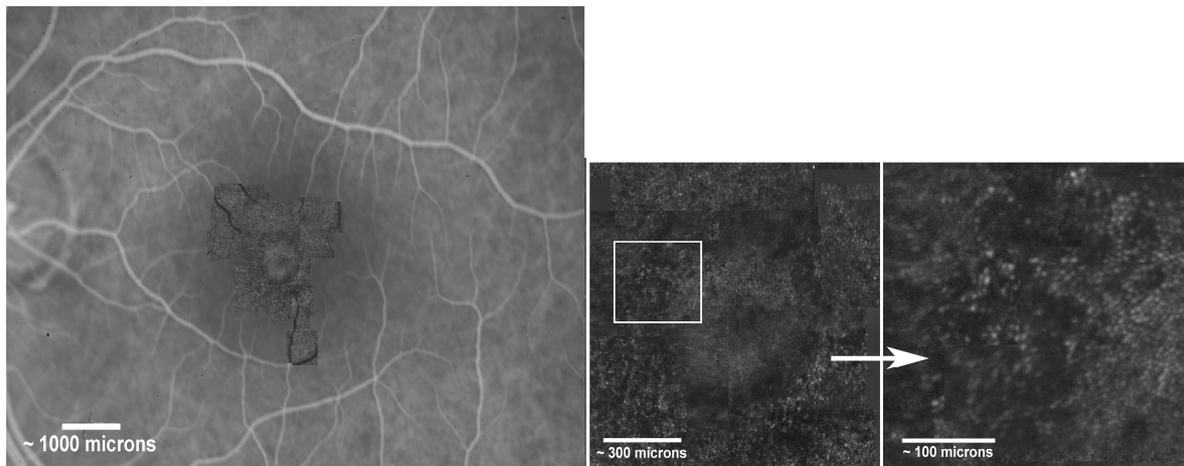
Der Vorteil des Scanning Laser Ophthalmoskops im Vergleich zu einer herkömmlichen Funduskamera ist die Möglichkeit, axiale Schnittbilder einer ausgewählten retinalen Schicht selektiv zu erfassen und darzustellen. Auf diese Weise kann das AOSLO das Mosaik der Photorezeptor Zapfen mit einer lateralen Auflösung von  $4\ \mu\text{m}$  sichtbar machen (welche dem Durchmesser eines einzelnen Photorezeptors entspricht) (**Abbildung 17**).<sup>74,76</sup>



**Abbildung 17:** In vivo Aufnahme eines  $300 \times 300\ \mu\text{m}$  Ausschnittes des Photorezeptor Mosaiks eines gesunden Probanden mithilfe des Adaptive Optik Scanning Laser Ophthalmoskops. Die dunklen Linien entsprechen dem Schatten von retinalen Kapillaren.

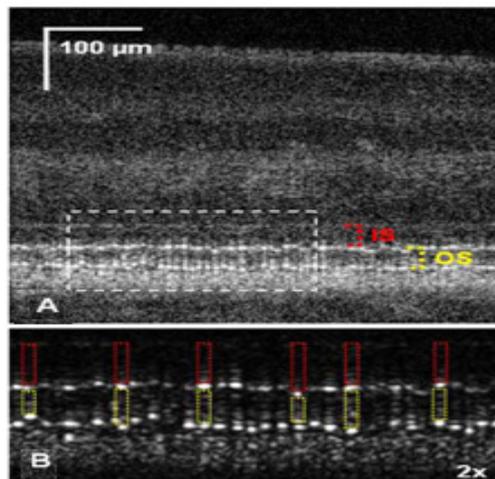
Netzhautdiagnostik mit dem AOSLO kann helfen, Frühstadien retinaler Erkrankungen zu erkennen, wie wir anhand des Fallbeispiels eines Patienten mit einer unerklärten Sehstörung zeigen konnten.<sup>77</sup> Dieser 64 jährige Mann beschrieb ein einseitiges, zentrales Ringskotom, dessen pathologisches Korrelat mit herkömmlichen bildgebenden Verfahren nicht identifiziert werden konnte. Bei der Untersuchung mithilfe des AOSLO sahen wir eine

zirkuläre Atrophie der Photorezeptoren, welche die Sehstörung des Patienten auf zellulärer Ebene erklären konnte (**Abbildung 18**).



**Abbildung 18:** Links: Fundusbild mit Überlagerung von AOSLO Aufnahmen im Bereich der Makula. Rechts: Ausschnittvergrößerung des AOSLO Bildes mit zirkulärer Unterbrechung des Photorezeptormosaiks.

Auch die Kombination von adaptiver Optik mit der OCT ist möglich, ein solches Instrument wird derzeit an der UC Davis erforscht.<sup>78</sup> Das Adaptive Optics Ultrahigh Resolution OCT (AO-UHR-OCT) verbindet die hohe axiale Auflösung der OCT mit der verbesserten lateralen Auflösung durch die adaptive Optik und erreicht so eine 3 dimensionale Auflösung von  $3,5 \times 3,5 \times 3,5 \mu\text{m}$ , so dass die Anordnung einzelner Photorezeptorsegmente innerhalb eines OCT Scans erkennbar werden (**Abbildung 19**).



**Abbildung 19:** AO-UHR-OCT. (A) Innere Photorezeptor Segmente (IS), Äußere Photorezeptorsegmente (OS). (B) Zweifache Vergrößerung der Photorezeptorschicht. Gestrichelten roten Kästen: innere Segmente der Photorezeptor Zapfen, gestrichelte gelbene Kästen: äußere Segmente. John Werner, UC Davis.<sup>78</sup>

Bildgebende Verfahren mit integrierter adaptiver Optik befinden sich derzeit noch in Entwicklung und klinischer Erprobung, und sind noch nicht in der alltäglichen Praxis

einsetzbar. Dennoch versprechen erste Untersuchungen eine neue Dimension in der retinalen Diagnostik.

## 8. Zusammenfassung

Die Entwicklung der OCT hat die Möglichkeiten der retinalen Diagnostik enorm bereichert. Obgleich dieses bildgebende Verfahren erst seit wenigen Jahren zur Verfügung steht, ist es bereits sowohl aus der klinischen Praxis, als auch aus der Forschung nicht mehr wegzudenken. Die schnell und einfach durchführbare, nicht invasive Untersuchung ist für ein breites Bevölkerungsscreening geeignet, und liefert schnell und valide Hinweise auf die Ursache einer Sehstörung.

Die in dieser Habilitationsschrift zusammengefassten Arbeiten konnten nachweisen, dass die OCT ein wertvolles diagnostisches Hilfsmittel ist für die Phänotypisierung in epidemiologischen Studien,<sup>67</sup> für den Vergleich zwischen verschiedenen Krankheitsbildern<sup>55,58</sup> oder Therapien,<sup>60</sup> für eine Verlaufsbeobachtung unter Therapie,<sup>10,11,32,33,37,38,,61,62</sup> und für ein besseres Verständnis morphologisch-funktioneller Zusammenhänge.<sup>65</sup> Eine quantitative Analyse der OCT ist insbesondere im Rahmen klinischer Studien einer rein qualitativen Beschreibung vorzuziehen, da sie genaue Aussagen über eine Befundänderung, sowie objektivierbare, vergleichbare Ergebnisse klinischer Studien ermöglicht. Wir konnten nachweisen, dass die derzeit verfügbaren automatischen Algorithmen der OCT Instrumente häufig fehlerhafte Werte liefern,<sup>20,21</sup> und daher die Aussagen klinischer Studien verfälschen können. Eine manuelle quantitative Analyse der OCT Bilder ist mithilfe der am Doheny Eye Institut entwickelten Software („OCTOR“ für TDOCTs, sowie die kürzlich fertiggestellte Software „3D OCTOR“ für die neuen, hochauflösenden SDOCTs) und unter Anwendung eines Standardprotokolls reproduzierbar möglich.<sup>22,23,48</sup> Dies ist eine Bereicherung für die Qualität klinischer Studien, da die Software nicht nur eine korrekte Aussage über die Dicke der Netzhaut ermöglicht, sondern auch eine Subanalyse weiterer, auf OCT Bildern sichtbarer Strukturen innerhalb der Retina und im subretinalen Raum.

Einige Fragen über morphologisch-histologische wie morphologisch-funktionelle Zusammenhänge konnten jedoch bislang nicht definitiv beantwortet werden. Die rasante Weiterentwicklung der Technologie hin zu immer höherer Auflösung und Detailgenauigkeit<sup>7,74,76,77</sup> wird dabei helfen, retinale Krankheitsbilder besser zu verstehen

und so unseren Patienten zukünftig eine bessere Prophylaxe und gezieltere Therapie zu ermöglichen.

## 9. Zusammenfassung (englisch)

In recent years, the introduction of a new imaging modality, optical coherence tomography (OCT), has revolutionized the diagnosis and management of retinal disorders. By providing high-resolution cross-sectional images of the retina in a non-invasive manner, OCT has proven useful as a screening tool for retinal diseases as well as allowing rapid identification of retinal pathology in patients with otherwise unexplained visual disturbances.

A large number of studies, summarized in this work, demonstrate the value of OCT for a multitude of roles, including: phenotyping in epidemiological studies,<sup>67</sup> comparison between different diseases<sup>55,58</sup> or therapies,<sup>60</sup> follow-up after treatment,<sup>10,11,32,33,37,38,61,62</sup> and for a better understanding of the correlation between retinal morphology and function.<sup>65</sup> In clinical trials of retinal diseases, in particular age-related macular degeneration, automated quantitative analysis of OCT images has proven superior to qualitative assessments alone, as it allows for objective and reproducible assessments. Despite this, caution is required in the interpretation of OCT-derived outcomes, as the existing algorithms for automated measurements of retinal thickness are erroneous in many cases.<sup>20,21</sup> To address this issue, custom software, entitled "OCTOR", that allows for reproducible manual assessment of OCT images, has been developed at the Doheny Eye Institute in Los Angeles.<sup>22,23,48</sup> Manually graded quantitative values may improve the quality of clinical trials, as they not only allow for accurate measurements of retinal thickness but also allow quantitative analysis of any other morphologic parameters of interest visible on OCT images.

Many questions regarding the correlation between structural changes seen on OCT, and associated changes in visual function, remain unanswered. Furthermore, the histologic correlate of some OCT features remains unclear. As OCT technology continues to evolve, higher resolution images may improve our understanding of retinal pathology, and allow for an improved diagnosis and management of our patients.<sup>7,74,76,77</sup>



## Literaturverzeichnis

1. Novotny, H.R., Alvis, D.L.: A method of photographing fluorescence in circulating blood in the human retina. *Circulation* 1961; 24:82-86.
2. Wessing A. Fluoreszenzangiographie der Retina, Verlag Georg Thieme, Stuttgart, 1968.
3. Barbazetto I, Burdan A, Bressler NM, Bressler SB, Haynes L, Kapetanios AD, Lukas J, Olsen K, Potter M, Reaves A, Rosenfeld P, Schachat AP, Strong HA, Wenkstern A; TAP and VIP Study Group. Photodynamic therapy of subfoveal choroidal neovascularization with verteporfin: fluorescein angiographic guidelines for evaluation and treatment—TAP and VIP report No. 2. *Arch Ophthalmol.* 2003 Sep;121:1253-68.
4. Browning DJ, Altaweel MM, Bressler NM, Bressler SB, Scott IU; Diabetic Retinopathy Clinical Research Network. Diabetic macular edema: what is focal and what is diffuse? *Am J Ophthalmol.* 2008 Nov;146(5):649-55, 655.e1-6. Epub 2008 Sep 5. Review. PubMed PMID: 18774122.
5. Huang D, Swanson EA, Lin CP, et al. Optical coherence tomography. *Science.* 1991;254:1178–1181.
6. Chang LK, Koizumi H, Spaide RF. Disruption of the photoreceptor inner segment-outer segment junction in eyes with macular holes. *Retina.* 2008 Jul-Aug;28:969-75.
7. Keane PA, Bhatti RA, Brubaker JW, **Liakopoulos S**, Sadda SR, Walsh AC. Comparison of Clinically Relevant Findings from High-Speed Fourier-Domain and Conventional Time-Domain Optical Coherence Tomography. *Am J Ophthalmol.* 2009 May 7. Epub ahead of print
8. Forte R, Cennamo GL, Finelli ML, de Crecchio G. Comparison of time domain Stratus OCT and spectral domain SLO/OCT for assessment of macular thickness and volume. *Eye.* 2008 Dec 12. [Epub ahead of print]
9. Ho J, Sull AC, Vuong LN, Chen Y, Liu J, Fujimoto JG, Schuman JS, Duker JS. Assessment of Artifacts and Reproducibility across Spectral- and Time-Domain Optical Coherence Tomography Devices. *Ophthalmology.* 2009 Jul 8. [Epub ahead of print]
10. **Joeres S**, Llacer H, Heussen FMA, Weiss C, Kirchhof B, Jousseaume AM. Optical coherence tomography on autologous translocation of choroid and retinal pigment epithelium in age-related macular degeneration. *Eye* 2008 Jun;22:782-9.

11. Joeres S, Heussen FMA, Treziak T, Bopp S, and Jousseaume AM. Bevacizumab (Avastin) treatment in patients with retinal angiomatous proliferation. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2007 Nov;245:1597-602.
12. Fung AE, Lalwani GA, Rosenfeld PJ, Dubovy SR, Michels S, Feuer WJ, Puliafito CA, Davis JL, Flynn HW Jr, Esquiabro M. An optical coherence tomography-guided, variable dosing regimen with intravitreal ranibizumab (Lucentis) for neovascular age-related macular degeneration. *Am J Ophthalmol*. 2007;143:566-83.
13. Panozzo G, Gusson E, Parolini B, Mercanti A. Role of OCT in the diagnosis and follow up of diabetic macular edema. *Semin Ophthalmol*. 2003;18:74-81.
14. Rogers AH, Martidis A, Greenberg PB, Puliafito CA. Optical coherence tomography findings following photodynamic therapy of choroidal neovascularization. *Am J Ophthalmol*. 2002;134:566-576.
15. Massin P, Duguid G, Erginay A, Haouchine B, Gaudric A. Optical coherence tomography for evaluating diabetic macular edema before and after vitrectomy. *Am J Ophthalmol*. 2003;135:169-177.
16. Massin P, Vicaut E, Haouchine B, Erginay A, Paques M, Gaudric A. Reproducibility of retinal mapping using optical coherence tomography. *Arch Ophthalmol*. 2001;119:1135-1142.
17. Paunescu LA, Schuman JS, Price LL, et al. Reproducibility of nerve fiber thickness, macular thickness, and optic nerve head measurements using StratusOCT. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2004;45:1716-1724.
18. Hee MR. Artifacts in optical coherence tomography topographic maps. *Am J Ophthalmol*. 2005;139:154-155.
29. Pons ME, Garcia-Valenzuela E. Redefining the limit of the outer retina in optical coherence tomography scans. *Ophthalmology*. 2005;112:1079-1085.
19. Costa RA, Calucci D, Skaf M, et al. Optical coherence tomography 3: automatic delineation of the outer neural retinal boundary and its influence on retinal thickness measurements. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2004;45:2399-2406.
20. Sadda SR, Wu Z, Walsh AC, et al. Errors in retinal thickness measurements obtained by optical coherence tomography. *Ophthalmology*. 2006;113:285-293.

21. Keane PA, Mand P, **Liakopoulos S**, Walsh AC, Sadda SR. Accuracy of Retinal Thickness Measurements obtained with Cirrus Optical Coherence Tomography. *Br J Ophthalmol*. 2009 Jul 1. [Epub ahead of print]
22. Sadda SR, **Joeres S**, Wu Z, Updike PG, Romano P, Collins AT, Walsh AC. Error correction and quantitative sub-analysis of optical coherence tomography data using computer-assisted grading. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2007 Feb;48:839-48.
23. **Joeres S**, Tsong JW, Updike PG, Collins AT, Dustin L, Walsh AC, Romano PW, Sadda SR. Reproducibility of quantitative optical coherence tomography sub-analysis in neovascular age-related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2007 Sep;48:4300-7.
24. Landis JR, G. G. Koch GG: *The measurement of observer agreement for categorical data*. In: *Biometrics*. 33, 1977, 159–174.
25. Bressler NM, Bressler SB, Congdon NG, Ferris FL 3rd, Friedman DS, Klein R, Lindblad AS, Milton RC, Seddon JM; Age-Related Eye Disease Study Research Group. Potential public health impact of Age-Related Eye Disease Study results: AREDS report no. 11. *Arch Ophthalmol*. 2003;121:1621-4.
26. Jager, R.D. *et al.* (2008): *Age-related macular degeneration*. In: *N. Engl. J. Med*. 358(24):2606-2617.
27. Klein R, Klein BE, Jensen SC, Meuer SM. The five-year incidence and progression of age-related maculopathy: the Beaver Dam Eye Study. *Ophthalmology*. 1997;104:7-21.
28. Sunness JS, Gonzales-Baron J, Applegate CA, et al. Enlargement of atrophy and visual acuity loss in the geographic atrophy form of age-related macular degeneration. *Ophthalmology* 1999;106:1768 –79.
29. Age-Related Eye Disease Study Research Group. A randomized, placebo-controlled, clinical trial of high-dose supplementation with vitamins C and E, beta carotene, and zinc for age-related macular degeneration and vision loss: AREDS report no. 8. *Arch Ophthalmol*. 2001 Oct;119:1417-36.
30. Age-Related Eye Disease Study Research Group. The relationship of dietary carotenoid and vitamin A, E, and C intake with age-related macular degeneration in a case-control study: AREDS Report No. 22. *Arch Ophthalmol*. 2007 Sep;125:1225-32.

31. Khurana RN, Fujii GY, Walsh AC, et al. Rapid recurrence of geographic atrophy after full macular translocation for nonexudative age-related macular degeneration. *Ophthalmology* 2005;112:1586–91.
32. Jousseaume AM, Joeres S, Fawzy N, Heussen FMY, Llacer H, van Meurs J, Kirchhof B. Autologous Translocation of the choroid and retinal pigment epithelium in patients with geographic atrophy. *Ophthalmology* 2007 Mar;114:551-60.
33. Caramoy A, Liakopoulos S, Menrath E, Kirchhof B. Autologous translocation of choroid and retinal pigment epithelium in geographic atrophy: Long term functional and anatomical outcome. *Br J Ophthalmol*. 2009 Aug 18. [Epub ahead of print]
34. Macular Photocoagulation Study Group Subfoveal neovascular lesions in age-related macular degeneration. Guidelines for evaluation and treatment in the macular photocoagulation study. *Arch Ophthalmol*. 1991 Sep;109:1242-57.
35. Peyman GA, Blinder KJ, Paris CJ, et al. A technique for retinal pigment epithelium transplantation for age-related macular degeneration secondary to extensive subfoveal scarring. *Ophthalmic Surg* 1991;22:102– 8.
36. van Meurs JC, Van Den Biesen PR. Autologous retinal pigment epithelium and choroid translocation in patients with exudative age-related macular degeneration: short-term follow-up. *Am J Ophthalmol* 2003;136:688–95.
37. Jousseaume AM, Heussen FMA, Joeres S, Llacer H, Prinz B, Rohrschneider K, Maaijwee JM, van Meurs J, Kirchhof B. Autologous translocation of the choroid and retinal pigment epithelium in age-related macular degeneration. *Am J Ophthalmol* 2006 Jul;142:17-30.
38. Heussen FM, Fawzy NF, Joeres S, Lux A, Maaijwee K, Meurs JC, Kirchhof B, Jousseaume AM. Autologous translocation of the choroid and RPE in age-related macular degeneration: 1-year follow-up in 30 patients and recommendations for patient selection. *Eye* 2008 Jun;22:799-807.
39. Gragoudas ES, Adamis AP, Cunningham ET Jr, Feinsod M, Guyer DR; VEGF Inhibition Study in Ocular Neovascularization Clinical Trial Group. Pegaptanib for neovascular age-related macular degeneration. *N Engl J Med*. 2004 Dec 30;351:2805-16.
40. Avery RL, Pieramici DJ, Rabena MD, et al. Intravitreal Bevacizumab (Avastin) for neovascular age-related macular degeneration. *Ophthalmology* 2006;113:363–72.

41. Spaide RF, Laud K, Fine HF, et al. Intravitreal Bevacizumab treatment of choroidal neovascularization secondary to age related macular degeneration. *Retina* 2006;26:383–90.
42. Rosenfeld PJ, Brown DM, Heier JS, et al for the Marina study group. Ranibizumab for neovascular age-related macular degeneration. *N Engl J Med* 2006;355:1419–31.
43. Brown DM, Kaiser PK, Michels M, Soubrane G, Heier JS, Kim RY, Sy JP, Schneider S, for the ANCHOR Study Group. Ranibizumab versus Verteporfin for Neovascular Age-Related Macular Degeneration. *N Engl J Med* 2006;355:1432-44.
44. Regillo CD, Brown DM, Abraham P, Yue H, Ianchulev T, Schneider S, Shams N; The PIER Study Group. Randomized, Double-Masked, Sham-Controlled Trial of Ranibizumab for Neovascular Age-related Macular Degeneration: PIER Study Year 1. *Am J Ophthalmol.* 2008;145:239-248.
45. Spaide RF. The as-needed treatment strategy for choroidal neovascularization: a feedback-based treatment system. *Am J Ophthalmol.* 2009 Jul;148:1-3.
46. Brown DM, Regillo CD. Anti-VEGF agents in the treatment of neovascular age-related macular degeneration: applying clinical trial results to the treatment of everyday patients. *Am J Ophthalmol.* 2007 Oct;144:627-37.
47. Eter N, Bindewald A, Roth F, Holz FG. OCT in age-related macular degeneration. Findings, usage in clinical routine, and assessment of treatment outcome. *Ophthalmologe.* 2004 Aug;101:794-803.
48. Keane PA, Liakopoulos S, Jivrajka RV, Chang KT, Alasil T, Walsh AC, Sadda SR. Evaluation of Optical Coherence Tomography Central Retinal Thickness Parameters for use as Anatomic Outcomes in Clinical Trial for Neovascular Age-Related Macular Degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2009 Jul;50:3378-85.
49. Submacular Surgery Trials Research Group. Comparison of 2D reconstructions of surgically excised subfoveal choroidal neovascularization with fluorescein angiographic features: SST report No. 15. *Ophthalmology.* 2006;113:279.e1–279.e5.
50. Grossniklaus HE, Wilson DJ, Bressler SB, et al. Clinicopathologic studies of eyes that were obtained postmortem from four patients who were enrolled in the submacular surgery trials: SST Report No. 16. *Am J Ophthalmol.* 2006;141:93–104.

51. Sandhu SS, Talks SJ. Correlation of optical coherence tomography, with or without additional colour fundus photography, with stereo fundus fluorescein angiography in diagnosing choroidal neovascular membranes. *Br J Ophthalmol*. 2005;89:967–970.
52. Sato T, Iida T, Hagimura N, Kishi S. Correlation of optical coherence tomography with angiography in retinal pigment epithelial detachment associated with age-related macular degeneration. *Retina*. 2004;24:910–914.
53. Coscas F, Coscas G, Souied E, Tick S, Soubrane G. Optical coherence tomography identification of occult choroidal neovascularization in age-related macular degeneration. *Am J Ophthalmol*. 2007;144:592–599.
54. Hughes EH, Khan J, Patel N, Kashani S, Chong NV. In vivo demonstration of the anatomic differences between classic and occult choroidal neovascularization using optical coherence tomography. *Am J Ophthalmol*. 2005;139:344–346.
55. **Liakopoulos S**, Ongchin S, Bansal A, Msutta S, Walsh AC, Updike PG, Sadda SR. Quantitative optical coherence tomography findings in various subtypes of neovascular age-related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2008 Nov;49:5048-54.
56. Sadda SR, **Liakopoulos S**, Keane PA, Ongchin SC, Msutta S, Chang KT, Walsh AC. Relationship between angiographic and optical coherence tomographic (OCT) parameters for quantifying choroidal neovascular lesions. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2009 Sep 17. [Epub ahead of print]
57. Avila MP, Weiter JJ, Jalkh AE, et al. Natural history of choroidal neovascularization in degenerative myopia. *Ophthalmology* 1984;91:1573–81.
58. Keane PA, **Liakopoulos S**, Chang KT, Heussen FM, Ongchin SC, Walsh AC, Sadda SR. Comparison of the optical coherence tomographic features of choroidal neovascular membranes in pathologic myopia versus age-related macular degeneration, using quantitative subanalysis. *Br J Ophthalmol*. 2008 Aug;92:1081-5.
59. Hurwitz H, Fehrenbacher L, Novotny W, et al. Bevacizumab plus irinotecan, fluorouracil, and leucovorin for metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med* 2004;350:2335– 42.
60. **Joeres S**, Kaplowitz K, Brubaker JW, Updike PG, Collins AT, Walsh AC, Romano PW, Sadda SR. Quantitative Comparison of Optical Coherence Tomography after Pegaptanib or Bevacizumab in Neovascular Age-Related Macular Degeneration. *Ophthalmology* 2008

Feb;115:347-354.

61. Keane PA, **Liakopoulos S**, Ongchin SC, Heussen FM, Msutta S, Chang KT, Walsh AC, Sadda SR. Quantitative Subanalysis of Optical Coherence Tomography after treatment with Ranibizumab for Neovascular Age-Related Macular Degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2008 Jul;49:3115-20.
62. Keane PA, Chang KT, **Liakopoulos S**, Jivrajka R, Walsh AC, Sadda SR. Effect of Ranibizumab Frequency on Neurosensory Retinal Volume in Neovascular Age-Related Macular Degeneration. *Retina*. 2009 May;29:592-600.
63. Nussenblatt RB, Kaufman SC, Palestine AG, et al. Macular thickening and visual acuity: measurement in patients with cystoid macular edema. *Ophthalmology* 1987;94:1134 –9.
64. Antcliff RJ, Stanford MR, Chauhan DS, Graham EM, Spalton DJ, Shilling JS, Ffytche TJ, Marshall J Comparison between optical coherence tomography and fundus fluorescein angiography for the detection of cystoid macular edema in patients with uveitis. *Ophthalmology*. 2000;107:593-9.
65. Keane PA, **Liakopoulos S**, Chang KT, Wang M, Dustin L, Walsh AC, Sadda SR. Relationship between Optical Coherence Tomography Retinal Parameters and Visual Acuity in Neovascular Age-Related Macular Degeneration. *Ophthalmology* 2008 Dec 115:2206-14.
66. Hiram Y, Mandai M, Takahashi M, Teramukai S, Tada H, Yoshimura Association of clinical characteristics with disease subtypes, initial visual acuity, and visual prognosis in neovascular age-related macular degeneration. *N.Jpn J Ophthalmol*. 2009 Jul;53:396-407.
67. Ristau T, Mokwa NF, Keane PA, Sadda SR, Kirchhof B, **Liakopoulos S**. Grading of Age-Related Macular Degeneration- Color Photography versus Angiography versus Spectral Domain Optical Coherence Tomography. 107. Kongress der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft (DOG), September 2009, Leipzig (Poster).
68. Bird AC, Bressler NM, Bressler SB, Chisholm IH, Coscas G, Davis MD, de Jong PT, Klaver CC, Klein BE, Klein R, et al. An international classification and grading system for age-related maculopathy and age-related macular degeneration. The International ARM Epidemiological Study Group. *Surv Ophthalmol*. 1995 Mar-Apr;39:367-74.
69. Age-Related Eye Disease Study Research Group. The Age-Related Eye Disease Study system for classifying age-related macular degeneration from stereoscopic color fundus

- photographs: the Age-Related Eye Disease Study Report Number 6. *Am J Ophthalmol.* 2001; 132:668-68.
70. Seddon JM, Sharma S, Adelman RA. Evaluation of the clinical age-related maculopathy staging system. *Ophthalmology* 2006 Feb;113:260-6.
71. Klaver CC, Assink JJ, van Leeuwen R, Wolfs RC, Vingerling JR, Stijnen T, Hofman A, de Jong PT. Incidence and progression rates of age-related maculopathy: the Rotterdam Study. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2001 Sep;42:2237-41.
72. Smith W, Assink J, Klein R, Mitchell P, Klaver CC, Klein BE, Hofman A, Jensen S, Wang JJ, de Jong PT. Risk factors for age-related macular degeneration: Pooled findings from three continents. *Ophthalmology.* 2001 Apr;108:697-704.
73. **Liakopoulos S**, Sadda SR. CIRCL Cologne Image Reading Center Grading Protocol. Version 2009.
74. Jones SM, Olivier S, Chen D, **Joeres S**, Sadda SR, Zawadzki RJ, Werner JS, Miller DT. Adaptive Optics Ophthalmologic Systems using Dual Deformable Mirrors. *SPIE* 2007 Feb
75. Wizinowich P, Acton DS, Shelton C, Stomski P, Gathright J, Ho K et al. First Light Adaptive Optics Images from the Keck II Telescope: A New Era of High Angular Resolution Imagery. *Publications of the astronomical society of the pacific.* 2000 March:112:315-319.
76. Sadda SR, **Joeres S**. Adaptive optics in ophthalmic imaging. *The Journal of Ophthalmic Photography*, Vol. 30, Spring 2008 p. 34-39.
77. **Joeres S**, Jones SM, Chen D, Silva D, Olivier S, Fawzy A, Castellarin A, Sadda SR. Retinal Imaging with Adaptive Optics Scanning Laser Ophthalmoscopy in Unexplained Unilateral Central Ring Scotoma. *Archives of Ophthalmol.* 2008 Apr;126:543-7.
78. Zawadzki RJ, Cense B, Zhang Y, Choi SS, Miller DT, Werner JS. Ultrahigh-resolution optical coherence tomography with monochromatic and chromatic aberration correction. *Opt Express.* 2008 May 26;16:8126-43.