

Chromatische Pupillometrie bei ehemaligen  
Extremfrühgeborenen mit und ohne  
Frühgeborenenretinopathie in der Anamnese

Inauguraldissertation  
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin  
des Fachbereichs Medizin  
der Justus-Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von Raouf, Sinan  
aus Temeschburg, Rumänien

Gießen 2018

Aus der Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde,  
unter der kommissarischen Leitung von Lyubomyr Lytvynchuk, MD, PhD,  
des Fachbereichs Medizin der Justus-Liebig-Universität Gießen

1. Gutachterin: Frau Prof. Dr. med. Birgit Lorenz
2. Gutachter: Herr Prof. Dr. med. Thomas Krzizok

Tag der Disputation: 16.08.2019

*Für meine Eltern*

## Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung.....	1
1.1	Die Frühgeburt.....	1
1.2	Frühgeborenenretinopathie .....	2
1.2.1	Ätiologie und Pathophysiologie.....	2
1.2.2	Screening.....	4
1.2.3	Therapie.....	6
1.3	Netzhaut .....	8
1.3.1	Anatomie.....	8
1.3.2	Topographie.....	9
1.3.3	Morphologie der unreifen Netzhaut .....	10
1.4	Photorezeptoren .....	11
1.4.1	Stäbchen.....	12
1.4.2	Zapfen.....	13
1.4.3	Photosensitive Ganglienzellen.....	14
1.5	Pupillenlichtreflex.....	15
1.5.1	Reflexkette.....	15
1.5.2	Einfluss der Photorezeptoren auf den PLR .....	16
1.6	Pupillometrie .....	17
1.6.1	Geschichte.....	17
1.6.2	Anwendungsgebiete .....	18
1.6.3	Chromatische Pupillometrie.....	19
2	Ziele der Arbeit .....	20
3	Material und Methodik .....	21
3.1	Studienteilnehmer.....	21
3.2	Pupillometer und Ganzfeld-Stimulator .....	22
3.3	Messprotokoll .....	24
3.4	Stäbchen- und Zapfenprotokoll .....	25
3.5	Datenerhebung und –analyse .....	28
3.6	Ermittlung der ipRGC-Aktivität über die Redilatationszeit .....	32
3.7	Grafische Darstellung und Statistik .....	34
3.7.1	Boxplot.....	34
3.7.2	Regressionsanalyse .....	35
3.7.3	Netzhautmorphologie.....	35

4	Ergebnisse .....	37
4.1	Anzahl der Messdaten .....	37
4.2	Stäbchen- und Zapfenfunktion .....	38
4.3	ROP Stadium .....	39
4.4	Gestationsalter und Geburtsgewicht .....	41
4.5	Macular developmental arrest .....	43
4.6	Betrachtung der behandelten Patienten .....	45
4.7	Analyse der Redilatationszeit .....	48
5	Diskussion .....	50
5.1	ROP Stadium und MDA beeinflussen die zentrale Netzhautfunktion .....	50
5.2	Stäbchenfunktion bei Frühgeborenen .....	54
5.3	Zerfallsfunktion und ipRGC-Aktivität .....	55
5.4	Diagnostisches Potential der chromatischen Pupillometrie .....	56
6	Zusammenfassung .....	60
7	Summary .....	61
8	Abbildungsverzeichnis .....	62
9	Tabellenverzeichnis .....	63
10	Literaturverzeichnis .....	64
11	Publikation .....	81
12	Erklärung zur Dissertation .....	82
13	Danksagung .....	83

Abkürzungsverzeichnis

A.	Arterie, <i>arteria</i>
Abb.	Abbildung
AZ	Amakrinzelle
BZ	Bipolarzelle
CFD	Korneale Lichtflussdichte, <i>corneal flux density</i>
CGL	Lateraler Kniehöcker, <i>corpus geniculatum laterale</i>
cGMP	Cyclisches Guanosinmonophosphat
DAS	Disease advisory System
ELM	Äußere limitierende Membran, <i>external limiting membrane</i>
ERG	Elektroretinogramm
GA	Gestationsalter
GCL	Ganglienzellschicht, <i>ganglion cell layer</i>
GG	Geburtsgewicht
GZ	Ganglienzellen
HZ	Horizontalzelle
ILM	Innere limitierende Membran, <i>inner limiting membrane</i>
INL	Innere nukleäre Schicht, <i>inner nuclear layer</i>
IPL	Innere plexiforme Schicht, <i>inner plexiform layer</i>
ipRGCs	Photosensitive Ganglienzellen, <i>intrinsic photosensitive retinal ganglion cells</i>
IRL	Innere Netzhaut, <i>inner retinal layers</i>
IS	Innensegment, <i>inner segment</i>
LED	Licht emittierende Diode
LUE	Lichtunterschiedsempfindlichkeit
L-Zapfen	long-wavelength sensitive Zapfen
M.	Muskel, <i>musculus</i>
MDA	Macular developmental arrest
MfERG	Multifokales Elektroretinogramm
Mio.	Millionen
M-Zapfen	middle-wavelength sensitive Zapfen
N.	Nerv, <i>nervus</i>
NFL	Nervenfaserschicht, <i>nerve fiber layer</i>

## ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

NIF	Non-image-forming
nm	Nanometer
Nn.	Nerven, <i>nervi</i>
No-ROP	Keine ROP, <i>no-ROP</i>
O <sub>2</sub>	Sauerstoff
OCT	optische Kohärenztomographie, <i>optical coherence tomography</i>
ONL	Äußere nukleäre Schicht, <i>outer nuclear layer</i>
OPL	Äußere plexiforme Schicht, <i>outer plexiform layer</i>
OS	Außensegment, <i>outer segment</i>
PIPR	post illumination pupil response
PLR	Pupillenlichtreflex
RF	Rezeptives Feld
RF	regulär entwickelte Fovea, <i>regular fovea</i>
RPE	Pigmentepithel, <i>retinal pigment epithelium</i>
ROP	Frühgeborenenretinopathie, <i>Retinopathy of Prematurity</i>
SPR	verlängerte Pupillenantwort, <i>sustained pupil response</i>
sr-ROP	spontan remittierte ROP, <i>spontaneously resolved ROP</i>
SSW	Schwangerschaftswoche
St	ROP Stadium
S-Zapfen	short-wavelength sensitive Zapfen
Tab.	Tabelle
t-ROP	Behandelte ROP, <i>treated ROP</i>
VEGF	Vascular endothelial growth factor
+	Plus disease

# 1 Einleitung

## 1.1 Die Frühgeburt

Die Geburt eines Kindes vor der abgeschlossenen 37. Schwangerschaftswoche (SSW) wird definitionsgemäß als Frühgeburt bezeichnet [17]. Subklassifiziert wird zwischen moderater Frühgeburt (32 - <37 SSW), sehr früh geborenen (28 - <32) und extrem früh geborenen Kindern (<28) [17]. Die Anzahl frühgeborener Kinder ist in den Jahren 1990 bis 2010 weltweit gestiegen, im Jahre 2010 waren es geschätzte 14,9 Mio., dies entspricht mehr als jedem zehnten Neugeborenen weltweit [16]. 2008 beliefen sich die Frühgeburten in Europa auf 5,5 - 11,1%, in Deutschland lag die Quote bei 9,0% und ist im europäischen Vergleich relativ hoch [156].

Fortschritte in der perinatalen Intensivmedizin reduzieren zudem die Mortalität und Morbidität extremfrühgeborener Kinder [17, 75]. Fellman et al. berichteten von einer 1-Jahres-Überlebensrate Extremfrühgeborener ( $\leq 26$  SSW) von durchschnittlich 70%, wobei mit höherem Gestationsalter (GA) die Überlebenswahrscheinlichkeit stieg [40]. Stensvold et al. berichteten von einer 1-Jahres-Überlebensrate zwischen 18% (22. SSW) bis 90% (26. SSW). Die Morbidität der Kinder, die ein Jahr überlebten, lag jedoch über 50% [139].

Frühgeborene Kinder haben ein vermehrtes Risiko für akute postpartale Komplikationen und chronische Erkrankungen [17]. Die Komplikationen nach Frühgeburt sind die häufigste Todesursache Neugeborener (35%) und die zweithäufigste Todesursache bei Kindern unter 5 Jahren nach der Pneumonie [17].

Verlässt der Fetus das intrauterine Milieu zu früh, stört dies den weiteren Entwicklungsprozess, strukturelle und funktionelle Defizite sind die Folge [41]. Mehrere Arbeitsgruppen dokumentierten bei Frühgeborenen eine reduzierte axiale Länge des Auges, eine flachere vordere Augenkammer, eine stärker gekrümmte Hornhaut und eine dickere Linse [29, 41, 42]. Diese Abweichungen verstärkten sich bei Kindern die zusätzlich an einer Frühgeborenenretinopathie (*retinopathy of prematurity, ROP*) erkrankt sind und erhöhen das Risiko für Ametropien [29].

**Tab. 1 Häufige Komplikationen frühgeborener Kinder**

Organsystem	Erkrankung
Kardiovaskuläres System	PDA, Asphyxie, Bradykardie, Hypertonie
Respiratorisches System	IRDS, BPD, Apnoe, Asphyxie, reduzierte Lungenfunktion, erhöhte Prävalenz für Asthma
Gastrointestinaltrakt	Erschwerte Fütterung postpartal, NEK
Visuelles System	ROP, Myopie, Hypermetropie, Amblyopie, Strabismus, kortikale Sehstörungen
Auditorisches System	Reduziertes Hörvermögen
Immunologie	Erhöhtes Risiko für Infektionen
Neurologie	Gestörte zerebrale Durchblutung, PVLM, Hirnblutungen, Zerebralparese, Kognitive und motorische Defizite
Hämatologie	Frühgeborenen-Anämie, reduzierte Hämatopoese

persistierender Ductus Arteriosus (*PDA*), Infant respiratory distress syndrome (*IRDS*)  
bronchopulmonale Dysplasie (*BPD*), nekrotisierende Enterokolitis (*NEK*)  
Frühgeborenenretinopathie (*ROP*), periventrikuläre Leukomalazie (*PVLM*) [17, 73, 76, 117, 136]

## 1.2 Frühgeborenenretinopathie

In den 1940er Jahren wurde erstmals das Bild der retrolentalen Fibroplasie bei Frühgeborenen beschrieben [67]. Die Erkrankung bezeichnete die vollständige Ablösung der Netzhaut hinter der Linse und resultierte aus einer Hyperoxygenierung Frühgeborener bei Lungenunreife [67, 134]. Trotz verbesserter intensivmedizinischer Maßnahmen ist die ROP aufgrund der erhöhten Überlebenschancen sehr frühgeborener Kinder mit geringem Geburtsgewicht (*GG*) auch heutzutage ein präsenes Krankheitsbild [67, 98].

### 1.2.1 Ätiologie und Pathophysiologie

Ab der 4. Woche der Embryonalperiode sind erstmals grobe Anlagen der Augen als Furchen des noch nicht verschlossenen Vorderhirns erkennbar [129]. In der 7. Woche beginnt die Differenzierung der Netzhaut aus dem Augenbecher, einer Ausbuchtung des Vorderhirns [129]. Die Netzhaut selbst ist im ersten Trimester noch nicht vaskularisiert, ihre Oxygenierung wird durch die choroidalen und hyaloiden Gefäße sichergestellt [130]. Die retinale Angiogenese wird erst durch einen erhöhten Metabolismus in der Netzhaut und damit einhergehender Hypoxie induziert [27, 130]. Dieser Zustand physiologischer Hypoxie führt zu einer vermehrten Expression von vaskulären Wachstumsfaktoren (*vascular endothelial growth factor, VEGF*) und bedingt

somit die retinale Gefäßentwicklung [141]. Unter Einfluss von VEGF wachsen zu Beginn des 4. Monats Gefäße von der Papille ausgehend in Richtung Peripherie. Ab dem 8. Monat ist die nasale Peripherie bereits vollständig vaskularisiert, die temporale Peripherie hingegen erst einen Monat nach termingerechter Entbindung [79]. Der beschriebene Mechanismus ist ein vereinfachtes Modell, die retinale Vaskularisation ist ein komplexer Prozess, dessen Regulation auf eine Vielzahl an Mediator-Zell-Interaktionen zurückgeht [63].

Die physiologische Netzhautvaskularisation und andere Reifungsprozesse können durch eine verfrühte Geburt des Kindes gestört werden [67]. Intrauterin herrscht ein Sauerstoffpartialdruck ( $p_{\text{O}_2}$ ) von ca. 30 mmHg. Bei Geburt wird die unreife Netzhaut einem Überangebot an Sauerstoff ( $p_{\text{O}_2}$  60–100 mmHg) ausgesetzt. Die relative Hyperoxie kann zu einer sauerstoffinduzierten Retinopathie führen [120, 135]. Ein verstärkender Faktor zur Entwicklung einer ROP ist die iatrogene Sauerstoffsupplementation. Häufig entwickeln vor allem Extremfrühgeborene durch die mangelnde Sekretion von Surfactant zum Zeitpunkt der verfrühten Geburt ein Atemnotsyndrom mit begleitender Hypoxie. Therapiert wird mit verschiedenen Beatmungsverfahren und der Substitution von Surfactant [94]. Die Beatmung des Neugeborenen führt zu einer Hyperoxygenierung der Retina und verhindert durch Suppression von VEGF das weitere Gefäßwachstum, sodass die schlecht vaskularisierten Netzhautareale nach Einstellung der Beatmung ischämisch werden. Der resultierende  $\text{O}_2$ -Mangel in der Netzhaut führt zu einer Überexpression von VEGF und schließlich zu einer pathologischen Hypervaskularisation [53, 130]. Dieser Pathomechanismus bedingt die Entwicklung einer ROP [67]. VEGF kommt bei der Gefäßentwicklung eine hohe Bedeutung zu und ist ein wichtiger Ansatzpunkt in der aktuellen Therapie der ROP [102].

Ein häufig beschriebener Risikofaktor für die Entwicklung einer ROP ist ein geringes Gestationsalter (GA). Die Inzidenzen schwanken jedoch in Bezug auf Region und medizinische Versorgung. In einer schwedischen Studie [10] belief sich bei Kindern mit einem GA unter 27 Wochen die Inzidenz auf 73% (368/506), in einer norwegischen Studie [108] bei Kindern mit einem GA unter 28 Wochen auf 33% (95/290). Eine brasilianische Studie (GA  $\leq$ 32, GG  $\leq$ 1500g) errechnete in einer Stichprobe von 467 Kindern eine Inzidenz von 23,8% für eine ROP. In einer iranischen Studie erkrankten 20,6% (64/310) der Kinder (GA:  $30,18 \pm 2,28$  SSW, GG:  $1422,8 \pm 420,8$ g) an einer ROP [6] und in einer ägyptischen Studie 69,4% (75/108) der Kinder (GA<37, GG<2500g) [5].

Die Mortalität betrug 2015 in Schweden und Norwegen 2/1000 Neugeborenen, in Brasilien 9, Ägypten 13 und im Iran 10 [144]. Die Wahrscheinlichkeit von Frühgeborenen an einer schweren ROP zu erkranken beliefen sich auf 5-35% bei vergleichbarem GA [10, 43, 142]. Neben dem GA wurden ebenfalls ein geringes GG, die unzureichende postnatale Gewichtszunahme des Kindes sowie erniedrigte Spiegel des Wachstumsfaktors IGF-1 (*insulin like growth factor 1*) als Risikofaktoren ermittelt [67], [66]. IGF-1 steuert die Vaskularisation der Netzhaut, ein Mangel kann mindervaskularisierte Netzhautareale bedingen und somit potentiell zu einer Retinopathie führen [64].

Neben den bekannten Risikofaktoren wurden in aktuellen Studien auch systemische Entzündungen perinatal als potentielle Ursache einer ROP erkannt [91]. Eine retrospektive Studie wertete die Daten von 1389 überlebenden Neugeborenen (GA < 32 SSW) zwischen 1994 und 2008 aus. 217 (15,6%) der Kinder erkrankten an einer ROP. Neben GG wurden Sepsis und nekrotisierende Enterokolitis als unabhängige Risikofaktoren für die Entwicklung einer ROP statistisch nachgewiesen [112]. Hohe Konzentrationen an Zytokinen im Plasma innerhalb der ersten Lebenstage werden als Ursache diskutiert [133].

Zusammenfassend erhöhen eine verfrühte Exposition des Neugeborenen gegenüber Raumluft [120], starke Sauerstoffschwankungen [121], Hyperoxygenierung [67], Hypoxie [34], und ein sehr geringes GA und GG [67] sowie eine verzögerte Gewichtszunahme postpartal [66], geringe IGF-1 Spiegel [65], systemische Entzündungen [91] sowie Sepsis und eine nekrotisierende Enterokolitis [112] das Risiko bei Neugeborenen an einer ROP zu erkranken.

### **1.2.2 Screening**

Gemäß den deutschen Leitlinien sollte die erste ophthalmologische Untersuchung bei Frühgeborenen mit einem Gestationsalter unter 32 Wochen bzw. einem Geburtsgewicht unter 1500g sechs Wochen postpartal erfolgen sowie bei allen Frühgeborenen, die eine O<sub>2</sub>-Gabe von mindestens drei Tagen benötigt haben. Bei Extremfrühgeborenen ist ein Screening erst nach der 31. postmenstruellen Woche indiziert. Die Verlaufskontrollen richten sich nach dem Schweregrad der ROP [77]. In Tab. 2 sind die jeweiligen Stadien und Zonen der ROP beschrieben. Die Untersuchung ist vorzugsweise mit zwei Personen durchzuführen. Nach ausreichender Mydriasis wird das Auge mittels anästhetischer Tropfen betäubt und ein Lidsperrer eingesetzt. Während der Untersuchung sollte eine Krankenpflegekraft den Kopf des Kindes stützen und die Vitalparameter im Blick behalten [98]. Der Vorderabschnitt wird auf

Pupillenrigidität, Irishyperämie und Tunica vasculosa lentis beurteilt und anschließend der Augenhintergrund über die indirekte Ophthalmoskopie eingesehen [77, 98]. Alle Kinder der vorliegenden Studie wurden mittels Fundusweitwinkelkamera (RetCam) untersucht. Diese Untersuchungstechnik erlaubt eine weitflächige Netzhautevaluierung durch den geschulten Ophthalmologen und eine digitale Dokumentation der Befunde. Empfohlen ist dabei die Dokumentation des hinteren Pols sowie von acht Bildern der Netzhautperipherie [99].

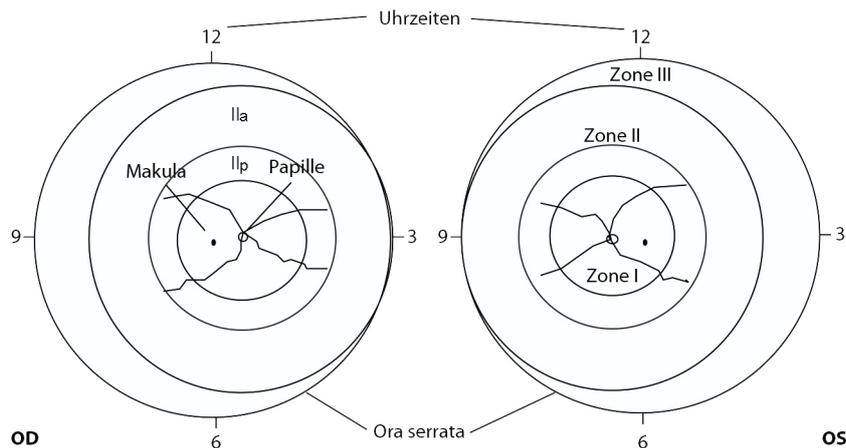
**Tab. 2 Stadien und Zoneneinteilung gemäß internationaler Klassifikation**

Literatur: Leitlinie zur augenärztlichen Untersuchung von Frühgeborenen und der internationalen Klassifikation der ROP [52, 77]

<b>Stadieneinteilung</b>	<b>Funduskopischer Befund</b>
Stadium 1	Demarkationslinie zwischen vaskulärer und avaskulärer Netzhaut
Stadium 2	Demarkationslinie wird prominent und dehnt sich über die Ebene der Netzhaut in Richtung Glaskörper aus
Stadium 3	Prominente Leiste und extraretinale fibrovaskuläre Proliferationen oder Neovaskularisationen in den Glaskörper
Stadium 4	Partielle Netzhautablösung extrafoveal (4a) oder foveal (4b) Vor allem traktiv aufgrund der fibrovaskulären Veränderungen
Stadium 5	Vollständige Netzhautablösung
Plus Disease	Vermehrte Gefäßerweiterung und Füllung sowie Tortuositas in mindestens zwei Quadranten am hinteren Funduspol
Aggressive posteriore ROP	Rasch progrediente, aggressive ROP am hinteren Augenpol mit plus disease und schwer definierbarem ROP Stadium

<b>Zone</b>	<b>Definition</b>
Zone I	Kreis um die Papille mit einem Radius von zweifacher Makula-Papillen-Distanz
Zone II	Kreis um die Papille, der nasal an die Ora Serrata reicht.
Zone II zentral	Kreis mit einem Radius von dreifacher Makula-Papillen-Distanz
Zone II peripher	Verbleibender retinaler Bereich bis zur Ora serrata nasal und Zone III temporal
Zone III	Temporale Sichel außerhalb von Zone II



**Abb. 1 Schematische Darstellung der ROP-Zonen**

Aus der Leitlinie zur augenärztlichen Screening-Untersuchung von Frühgeborenen [77]. Ergänzung der Abbildung um posteriore Zone II (IIp) und anteriore Zone II (IIa); rechtes Auge, oculus dexter (OD); linkes Auge, oculus sinister (OS). Mit freundlicher Genehmigung von der Zeitschrift „Der Ophthalmologe“.

### 1.2.3 Therapie

Vorrangiges Ziel des augenärztlichen Screenings Frühgeborener ist es eine rechtzeitige Therapie bei progredienter Retinopathie einzuleiten [77]. Bei ca. 90% der Kinder in Stadium 1 oder 2 remittiert die ROP spontan, sodass keine Intervention notwendig ist [77]. Das höchste Risiko an einer behandlungsbedürftigen ROP zu erkranken haben Kinder mit einem GA von  $\leq 25$  SSW. Meist muss eine Therapie um die 37. Woche post menstruationem eingeleitet werden [113]. Therapeutisches Ziel ist die intraokuläre Suppression von VEGF. Dies kann erreicht werden über die transpupillare Laserkoagulation der hypoxischen avaskulären VEGF-sezernierenden Netzhautareale oder über eine direkte VEGF-Hemmung durch Injektion von Bevacizumab oder vergleichbarer Substanzen [87].

Die ETROP Studie (*early treatment for retinopathy of prematurity*) verglich bei 317 Kindern mit ROP die anatomischen und funktionellen Unterschiede nach Laserkoagulation bzw. Kryotherapie zwischen früh (pre-threshold) und konventionell (threshold disease) behandelten Augen. Ihren Ergebnissen zufolge sollten folgende funduskopisch gesicherte Befunde abladiert (ROP Typ I) bzw. engmaschig kontrolliert (ROP Typ II) werden [54].

**Tab. 3 Empfehlungen der ETROP Studie zur Behandlung der ROP [54]**

ROP Typ I	ROP Typ II
Zone I, alle ROP Stadien mit +disease	Zone 1, Stadium 1 oder 2 ohne +disease
Zone I, Stadium 3 ohne +disease	Zone 2, Stadium 3 ohne +disease
Zone II, Stadium 2 oder 3 mit + disease	

Die deutschen Leitlinien empfehlen eine Koagulationstherapie bei akuter ROP in Zone I bei Vorliegen von plus disease unabhängig vom ROP Stadium bzw. bei Stadium 3 unabhängig von plus disease sowie in Zone II, Stadium 3 mit plus disease und extraretinalen Vasoproliferationen über mindestens 5 zusammenhängende oder 8 unzusammenhängende Uhrzeiten. Eine Frühere Therapie wird nur im Einzelfall z.B. bei rascher Progression der Erkrankung empfohlen. Eine genaue Definition der Therapieindikation findet sich in der Leitlinie der augenärztlichen Screening-Untersuchung von Frühgeborenen Eine Koagulationstherapie in Zone III ist meist nicht erforderlich [77].

Die BEAT-ROP Studie verglich die Effektivität der Anti-VEGF-Monotherapie mit der konventionellen Laserkoagulation. 150 Kinder mit ROP entsprechend 300 Augen (Stadium 3+, Zone I oder II) wurden intravitreal mit 0,625mg Bevacizumab pro erkranktem Auge behandelt. Dies entspricht 50% der üblichen Dosis von Erwachsenen. Laut Studie profitierten Zone I Patienten signifikant von der Therapie, die erneute Rezidivrate betrug bei einem Beobachtungszeitraum bis zur 54. postmenstruellen Woche lediglich 6% (2/31 Kindern) im Gegensatz zur Laserbehandlung mit 42% (14/33 Kindern). Für posteriore Zone II Patienten traf dieser Erfolg nicht zu (lediglich 12% bzw. 5/40 Kindern vs. 5% bzw. 2/39 Kindern), dennoch wurden die Kinder von der irreversiblen Schädigung der peripheren Netzhaut durch die Laserbehandlung verschont, was möglicherweise für die Größe des Gesichtsfeldes relevant ist. Insgesamt betrug bei einem Beobachtungszeitraum bis zur 54. postmenstruellen Woche die Rezidivrate in der Bevacizumab-Gruppe lediglich 4% (6 von 140 Augen) im Gegensatz zur Laser-Gruppe mit 22% (32 von 146 Augen) [111]. Trotz der geringeren Dosis von Bevacizumab in der BEAT-ROP Studie sind die jungen Patienten im Verhältnis zu ihrem Körpergewicht im Vergleich zu Erwachsenen wesentlich höheren Konzentrationen ausgesetzt [102]. Aktuelle Studien versuchen daher eine angemessene Dosis-Wirkung-Beziehung zu ermitteln. Lorenz et al. beschrieben eine gute Wirksamkeit von Injektionen mit lediglich 0,312mg. In 19 von insgesamt 27 Augen (70%) remittierte die ROP. Bei aggressiver posteriorer ROP betrug der Therapieerfolg nach einer Injektion 25% [103]. Eine retrospektive Studie (29

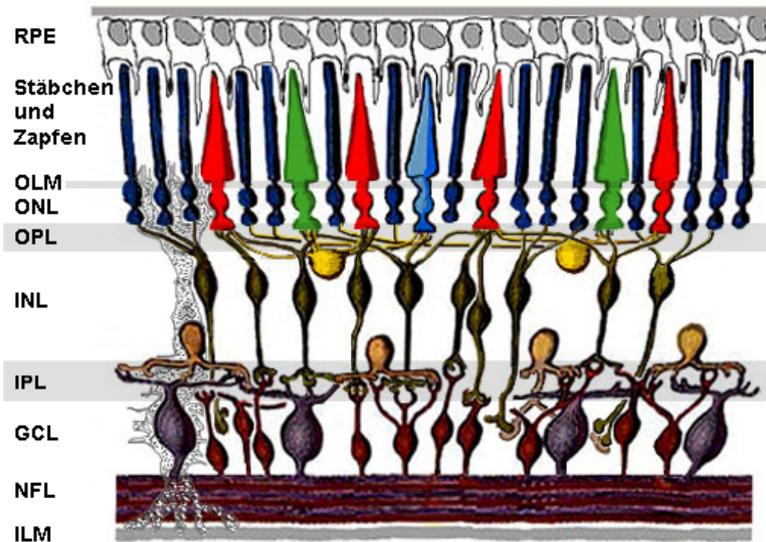
Augen) berichtete über eine hohe Effektivität der Bevacizumab-Therapie mit lediglich 0,16mg bei schwerer und posteriorer ROP [72].

Die Frage nach möglichen Nebenwirkungen der Anti-VEGF Therapie ist bisher noch nicht ausreichend geklärt und die Kontrolle des VEGF-Spiegels zurzeit noch schwierig. Von daher ist vor allem bei milder behandlungsbedürftiger ROP die Laserkoagulation zu empfehlen [102].

## 1.3 Netzhaut

### 1.3.1 Anatomie

Die Netzhaut kleidet die Innenseite des Auges aus, ihr lichtempfindlicher Anteil zieht bis zur Ora serrata, schlägt dort in den weitaus kleineren „blinden“ Anteil um und geht als Pars ciliaris retinae in den Ziliarkörper über. Der lichtempfindliche Abschnitt lässt sich weiterhin in ein Stratum nervosum und ein Stratum pigmentosum (*retinal pigment epithelium*, *RPE*) unterteilen. [9] Das RPE ist nach innen über Mikrovilli mit den Außensegmenten der Photorezeptoren verbunden und nach außen hin mit der Bruchmembran, welche die Netzhaut mit der Aderhaut verbindet [9]. Das Stratum nervosum ist dem Glaskörper zugewandt. Es ist in mehrere hierarchisch geordnete Schichten untergliedert, die jeweils andere Zelllagen enthalten. Die Photorezeptoren liegen in der äußeren Schicht, sodass das Licht die gesamte Netzhaut durchdringen muss, um als Reiz von den Stäbchen und Zapfen wahrgenommen zu werden [62]. In den folgenden Schichten werden die Signale auf Bipolarzellen (*BZ*), Horizontalzellen (*HZ*), Amakrinzellen (*AZ*) und Ganglienzellen (*GZ*) weitergeleitet [9]. Müllerzellen regulieren Metabolismus und Homöostase der Netzhaut, indem sie Stoffwechselendprodukte entfernen und Nervenzellen vor der Exposition zu hoher Neurotransmitterkonzentrationen schützen [86]. Sie sind mit Astrozyten maßgeblich an der Sezernierung von VEGF beteiligt [63]. Die Axone der GZ vereinigen sich zum Sehnerv, der am hinteren Pol das Auge verlässt. Seine Austrittsstelle (Papille) bildet ein physiologisches Skotom (blinder Fleck), da sich hier keine Photorezeptoren befinden [90].

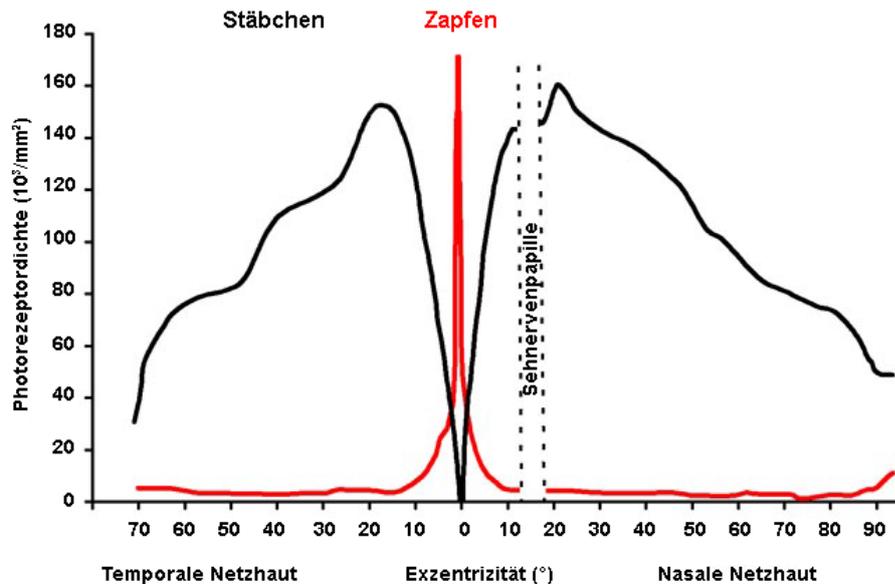


**Abb. 2 Netzhautschichten**

Von innen nach außen: innere limitierende Membran (*inner limiting membrane, ILM*), Nervenfaserschicht (*nerve fiber layer, NFL*), Ganglienzellschicht (*ganglion cell layer, GCL*) mit ipRGCs (*intrinsically photosensitive retinal ganglion cells*), innere plexiforme Schicht (*inner plexiform layer, IPL*), innere nukleäre Schicht (*inner nuclear layer, INL*), äußere plexiforme Schicht (*outer plexiform layer, OPL*), innere nukleäre Schicht (*inner nuclear layer, INL*), äußere limitierende Membran (*outer limiting membrane, ONL*), Stäbchen & Zapfen, Pigmentepithel (*retinal pigment epithelium, RPE*) Modifiziert aus folgender Abbildung aus freier Quelle. Webvision: Simple Anatomy of the Retina by Helga Kolb <http://webvision.med.utah.edu/book/part-i-foundations/simple-anatomy-of-the-retina/>

### 1.3.2 Topographie

Etwa 15° temporal der Papille liegt die Makula lutea, ein gelb erscheinender Fleck am Augenhintergrund mit einem Durchmesser von ca. 5mm, dessen Zentrum eine kleine Vertiefung, die Fovea centralis, bildet. Die stäbchenfreie Fovea ist aufgrund ihrer hohen Zapfendichte mit 160.000/mm<sup>2</sup> von insgesamt 3,2–6,5 Mio. Zapfen der Bereich höchster Bildauflösung [53], [9]. Insgesamt nimmt die Anzahl und Dichte der Zapfen mit zunehmender Exzentrizität hin ab [30]. In der an die Fovea angrenzenden Zone, dem „Stäbchenring“, existiert die höchste Stäbchendichte mit 177.000/mm<sup>2</sup> von insgesamt 60-125 Mio., auch sie nimmt in der Peripherie hin ab [30], [9].



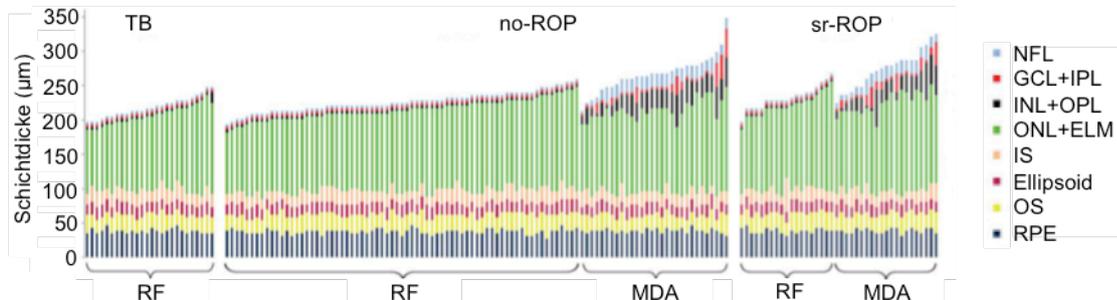
**Abb. 3 Topographische Verteilung der Photorezeptoren**

Übernommen und modifiziert aus Webvision: Photoreceptors by Helga Kolb. <http://webvision.med.utah.edu/book/part-ii-anatomy-and-physiology-of-the-retina/photoreceptors/> Original publiziert von Osterberg 1935. Mit freundlicher Genehmigung von Webvision.

### 1.3.3 Morphologie der unreifen Netzhaut

Die Entwicklung der Fovea beginnt ab der 22. SSW und ist erst 15 Monate nach Geburt abgeschlossen. Die foveale Einsenkung entsteht durch die Migration der inneren retinalen Zellen Richtung Peripherie, gleichzeitig wandern die Zapfen zentralwärts [154]. Eine verfrühte Geburt des Kindes kann diesen Reifungsprozess stören und in einigen Fällen zu morphologischen Anomalien wie einer flachen Fovea mit Persistenz der inneren Netzhautschichten führen, sowie mit einer insgesamt dünneren Photorezeptorschicht und visuellen Defiziten einhergehen [2, 107, 146, 152]. Bowl und Mitarbeiter untersuchten 150 Frühgeborene (100 no-ROP und 50 sr-ROP) sowie 30 Termingeborene im Alter von 6 bis 13 Jahren (gleiche Kohorte wie in der vorliegenden Arbeit) mittels SD-OCT. Sie entdeckten ein Missverhältnis von äußerer nukleärer Schicht (*outer nuclear layer, ONL*) und äußerer limitierender Membran (*external limiting membrane, ELM*) zur inneren Netzhaut (*inner retinal layers, IRL*) bestehend aus innerer nukleärer Schicht (*inner nuclear layer, INL*), äußerer plexiformer Schicht (*outer plexiform layer, OPL*), Ganglienzellschicht (*ganglion cell layer, GCL*), innerer plexiformer Schicht (*inner plexiform layer, IPL*) und Nervenfaserschicht (*nerve fiber layer, NFL*). Dieses Missverhältnis beschrieben sie als makuläre Reifungsstörung (*macular developmental arrest, MDA*) im Vergleich zu Kindern mit einer regulären

Fovea (RF). Als Ursache der vergleichsweise dünnen ONL+ELM Schicht wurde eine möglicherweise reduzierte Zapfendichte genannt. Zur Bestimmung des Grenzwertes zwischen RF und MDA wurde sich an den Termingeborenen orientiert, bei ihnen betrug der relative Anteil der ONL+ELM an der Gesamtretina 49,9%, bei der MDA-no-ROP und der MDA-sr-ROP Gruppe war dieser unter 45% [20].



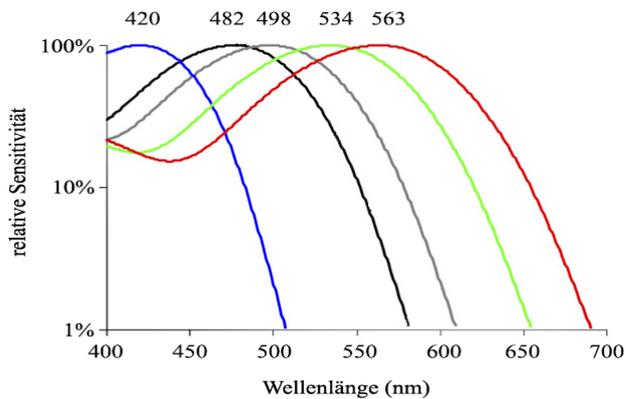
**Abb. 4 Einteilung der Kinder nach ONL+ELM**

Grafik aus Bowl et al [20]. Die Beschriftung wurde überarbeitet. Mit freundlicher Genehmigung von ARVO Journals.

## 1.4 Photorezeptoren

Photorezeptoren sind spezialisierte Sinneszellen in der Netzhaut zur Wahrnehmung von Lichtreizen. Im konventionellen Modell wird lediglich zwischen zwei Rezeptorstrukturen unterschieden, den Stäbchen und den Zapfen. Sie transduzieren Photonen in elektrische Signale und projizieren diese über die mehrere Verschaltungswege ins Gehirn für eine weitere Verarbeitung in den visuellen Kortex [53].

Forschungsergebnisse der letzten Jahrzehnte haben zur Entdeckung eines zweiten lichtempfindlichen Systems geführt, welches die Bestrahlungsstärke detektiert und hauptsächlich lichtabhängige Steuermechanismen (*non-image-forming, NIF*) und auch das Formensehen reguliert [132, 138]. Maßgebend beteiligt an der Regulation dieser Funktionen sind neben Stäbchen und Zapfen eine kleine Subpopulation innerhalb der Ganglienzellen, welche die dritte Photorezeptorgruppe ausmacht [132].



**Abb. 5 Absorptionsmaxima der Photorezeptoren**

Modifiziert nach Zaidi et al. 2007 [155]. Die Beschriftung wurde überarbeitet. Abbildung aus freier Quelle: [http://www.cell.com/current-biology/abstract/S0960-9822\(07\)02273-7](http://www.cell.com/current-biology/abstract/S0960-9822(07)02273-7)

### 1.4.1 Stäbchen

Stäbchen ermöglichen das Dämmerungssehen und die Wahrnehmung von Hell-Dunkel-Kontrasten. Sie bestehen aus einem Kern, einem Außen- (*outer segment, OS*) und einem Innensegment (*inner segment, IS*). Das IS enthält wichtige Zellorganellen, wie Ribosomen und Mitochondrien [85].

Das OS der Stäbchen besteht aus Membranscheiben, den so genannten Disks. Sie enthalten das Sehpigment Rhodopsin in ihren Membranen [62]. Rhodopsin besteht aus einer chromophoren Gruppe, dem 11-cis-Retinal und einem Glykoprotein (Opsin). Das Absorptionsmaximum des Rhodopsins liegt bei 498nm [23, 155] und stimmt mit der spektralen Empfindlichkeit des dunkeladaptierten menschlichen Auges annähernd überein [131].

Die Absorption von Licht führt zu einer Isomerisierung des Retinals, induziert eine Konformationsänderung des Opsins und aktiviert es. Das aktivierte Opsin aktiviert wiederum das G-Protein Transducin, welches eine Phosphodiesterase in Gang setzt, die über eine Hydrolyse des cGMP die cGMP-abhängigen Ionenkanäle schließt. Daraus resultiert eine Hyperpolarisation der Zellmembran, welche sich als Aktionspotential auf die BZ fortpflanzt [62]. Die Potentialänderungen können entweder über direkte Bahnen auf die BZ weitergeleitet werden oder indirekt über zwischengeschaltete HZ. BZ lassen sich in OFF-Bipolarzellen (OFF-BZ) und ON-Bipolarzellen (ON-BZ) einteilen. Die Bezeichnung OFF und ON bezieht sich darauf, ob

die BZ bei Lichteinstrahlung depolarisiert [12]. Diese neuronale Verschaltung führt zur Bildung von rezeptiven Feldern (*RF*) mit konzentrischem Aufbau. Direkte Verbindungen finden sich im Zentrum, indirekte Verbindungen im Umfeld des RF. Das RF ergibt sich aus dem Netzhautbezirk, über den ein bestimmtes Neuron erregt oder gehemmt werden kann. Lichteinstrahlung im Zentrum des RF führt zu einer Depolarisation der ON-BZ, Lichteinstrahlung im Umfeld des RF dagegen zu einer Hyperpolarisation [12]. Da die Hemmung sozusagen von „seitwärts“ ausgeht, spricht man von lateraler Hemmung [131]. Die Zentrum-Umfeld-Struktur des RF wird von den BZ über Synapsen in der inneren plexiformen Schicht an die GZ weitergegeben [33].

### 1.4.2 Zapfen

Helles Sonnenlicht führt zu einer vollständigen Sättigung der Stäbchen, sodass zusätzliches Licht keine weitere Hyperpolarisation hervorrufen kann. Das Sehvermögen während des Tages hängt vollständig von den Zapfen ab, deren Photopigmente mehr Energie benötigen, um gesättigt zu werden [12].

Zapfen bestehen ebenfalls aus einem Kern sowie einem OS und IS. Das OS setzt sich aus Membraneinfaltungen zusammen, in denen das Zapfenpigment, bestehend aus 11-cis-Retinal und einem Opsin, eingelagert ist. Es gibt drei Isoformen des Opsins mit jeweils unterschiedlichen spektralen Empfindlichkeitsmaxima. Demnach lassen sich Zapfen in blau-, grün- und rot empfindliche Subtypen unterteilen. Bezeichnet werden sie als S-, M- und L-Zapfen (*short, middle, long*) entsprechend ihrer Absorptionsmaxima [148]. Die maximale spektrale Empfindlichkeit für S-Zapfen beträgt ~420nm, für M-Zapfen ~534nm und L-Zapfen ~563nm [23, 155].

Farbsehen ist auf der Ebene der Photorezeptoren trichromatisch, durch die relative Beteiligung der S-, M- und L-Zapfen am Netzhautsignal wird die Farbigekeit bestimmt. Die Erregung aller Zapfentypen führt zum Seheindruck weiß [33]. Über die Verschaltungskette der Netzhaut werden die Zapfensignale von den BZ über Synapsen in der inneren plexiformen Schicht an die GZ und schließlich über den Sehnerv an das Gehirn weitergegeben. [33]. In der primären Sehrinde (*V1*) werden Informationen zur Objektfarbe, Objektbewegung und Objektform verarbeitet [12, 60]. In höheren extrastriären Arealen (*V2, V3, V4*) treten farbspezifische Neurone auf [82]. Besonders *V4* scheint für die Wahrnehmung von Farbe eine wichtige Rolle zu spielen [12]. Farbselektive Zellen sind auch immer selektiv für andere Eigenschaften. Sehen beinhaltet die Wahrnehmung zahlreicher verschiedener Objekteigenschaften wie Farbe, Form und Bewegung, diese Eigenschaften werden parallel von verschiedenen

Zellen des visuellen Systems verarbeitet. Auf bislang ungeklärte Weise führt diese ausgedehnte kortikale Aktivität zu einer einzelnen kohärenten Wahrnehmung der Umwelt [12].

### 1.4.3 Photosensitive Ganglienzellen

1998 wurde erstmals ein neuartiges opsin-ähnliches Pigment entdeckt. Es wurde nach den dermalen photosensitiven Melanophoren des afrikanischen Krallenfrosches (*Xenopus laevis*) Melanopsin benannt [125]. Im Jahre 2000 wurde Melanopsin erstmals in einer kleinen Subpopulation retinaler Ganglienzellen beschrieben [126] und bereits 2002 seine Rolle als Signaltransduktor erkannt [14, 84]. Diese Zellen wurden nach ihrem Pigmentgehalt und ihrer intrinsischen Aktivität als photosensitive melanopsinhaltige Ganglienzellen (*intrinsic photosensitive retinal ganglion cells, ipRGCs*) beschrieben. Ihr Absorptionsmaximum liegt bei  $482\text{nm} \pm 2\text{nm}$  [11, 14, 31]. IpRGCs machen lediglich 0,2% der Ganglienzellen aus, dies entspricht etwa 3000 Zellen pro Auge [31] und sind vorwiegend in der Ganglienzellschicht lokalisiert, ein geringer Prozentsatz findet sich ebenfalls in der inneren Körnerschicht [84]. IpRGCs sind Teil des sogenannten zweiten lichtsensitiven Systems, welches die Bestrahlungsstärke detektiert und lichtabhängige NIF Mechanismen (*non-image-forming functions*) steuert. Dabei sind nicht die ipRGCs allein, sondern die Summation aller Photorezeptorsignale an NIF-Funktionen beteiligt [114, 132]. Neuere Erkenntnisse gehen mittlerweile davon aus, dass den ipRGCs auch eine Rolle in der Verarbeitung von Seheindrücken wie der Mustererkennung zukommt [138]. Im Gegensatz zu Stäbchen und Zapfen, welche bei Bestrahlung hyperpolarisieren, reagieren ipRGCs mit einer Depolarisation auf Licht. IpRGCs sind im Vergleich zu Stäbchen und Zapfen signifikant weniger sensitiv auf Lichtreize und reagieren mit einer verzögerten Depolarisation, die auch nach Stimulusende eine lange Latenz aufweist (verlängerte Repolarisation) [31, 44]. Klinisch ist dies an der verlängerten Pupillenkonstriktion erkennbar (*post illumination pupil response, PIPR*) [51]. Die geringere Lichtempfindlichkeit lässt sich auf den im Vergleich zu Stäbchen und Zapfen 10.000-fach geringeren Pigmentgehalt in ihren Membranen zurückführen. IpRGCs haben daher zwar eine statistisch geringere Chance ein Photon zu absorbieren, reagieren aber mit einer starken und langanhaltenden Depolarisation. Bereits ein einziges Photon ist ausreichend, um eine Reizweiterleitung bis ins Gehirn zu triggern [35, 36]. Hohe Bestrahlungsintensitäten hingegen führen zu einer frequenten Photonenbestrahlung, die eine Summenantwort induziert und somit eine schneller einsetzende Feuerrate und höhere Depolarisationspeaks generiert [36]. Die isolierte intrinsische Reaktionskinetik

scheint demnach die akkumulierte Netzhautbestrahlung über einen längeren Zeitraum zu reflektieren. Diese Fähigkeit könnte als neuronales „Licht-Gedächtnis“ verstanden werden, welches der Regulierung der zirkadianen Rhythmik dient [31].

Wenngleich ipRGCs bei Lichteinstrahlung direkt depolarisieren können, erhalten sie transsynaptischen Input von Stäbchen und Zapfen. Diese extrinsischen Signale erweitern das Reaktionsvermögen der ipRGCs auf eine große Bandbreite an Lichtstimuli. Bereits schwächere Lichtreize führen so zu schnelleren und stärkeren Antworten als es mit der melanopsinmedierten Antwort je möglich wäre [114]. Eine Hyperpolarisation der Stäbchen und Zapfen führt demnach zu einer schnelleren Depolarisation der GZ mit sofortiger Entladung und ebenso schnellem Abklingen der Feuerrate. Über die synaptischen Verbindungen sind Stäbchen und Zapfen ebenfalls an der Steuerung von NIF-Funktionen beteiligt [80].

## 1.5 Pupillenlichtreflex

Die Pupille bildet die zentrale Öffnung der Iris, über ihre Kontraktion bzw. Dilatation wird der Lichteinfall auf die Netzhaut reguliert. Ein funktionierender Pupillenlichtreflex (PLR) ist daher entscheidend um möglichst optimale Sehverhältnisse bei sich ständig ändernden Lichtverhältnissen zu garantieren [53]. Sowohl in der Klinik als auch in der klinischen Forschung wird der PLR als objektive Messmethode zur Beurteilung der Funktion von Netzhaut und Sehnerv herangezogen [118].

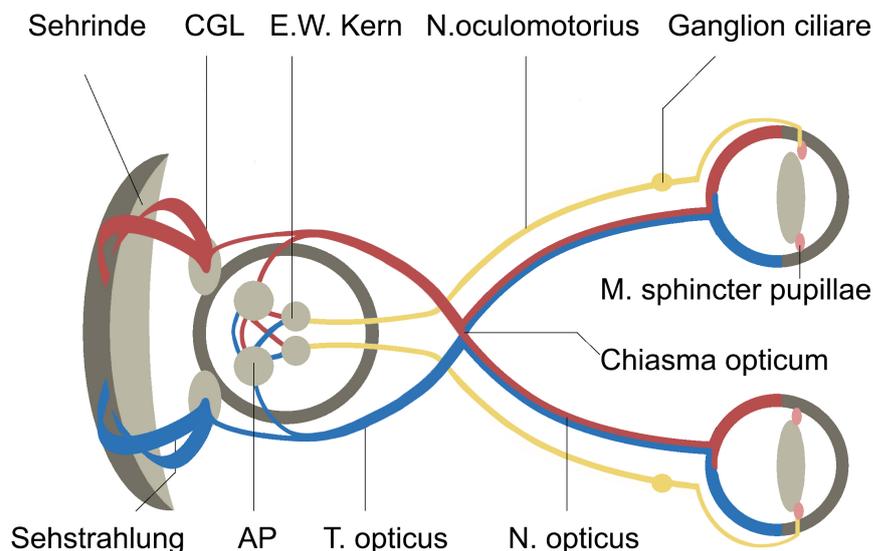
### 1.5.1 Reflexkette

Der PLR gliedert sich in einen afferenten, sensorischen Schenkel und einen efferenten motorischen Schenkel. Der afferente Schenkel folgt der Sehbahn. Die Potentialänderungen der Photorezeptoren werden über einige Zwischenneuronen schließlich auf die GZ übertragen, deren Axone den Sehnerv formen. Die Sehnervenfasern der nasalen Netzhauthälfte kreuzen am Chiasma opticum zur Gegenseite und ziehen mit den temporalen kontralateralen Fasern als Tractus opticus zum beidseitig angelegten lateralen Kniehöcker (*corpus geniculatum laterale, CGL*). Von hieraus ziehen die Fasern des vierten Neurons, als Sehstrahlung bezeichnet, zur Sehrinde [9].

Ein Teil der Fasern des dritten Neurons zieht vor dem CGL über die Schaltneurone der Area praetectalis des Mittelhirns zu den Edinger-Westphal Kernen. Da sowohl die ipsilateralen als auch die kontralateralen Kerne erreicht werden, führt ein einseitiger Stimulus zu einem bilateralen symmetrischen PLR [79]. Weiterhin werden

Naheinstellungszentren für Akkommodation, Konvergenz und Miosis sowie Hypothalamus und Kortex erreicht [128].

Die Edinger-Westphal Kerne sind Ausgang der efferenten motorischen Pupillenbahn [79]. Von dort ziehen präganglionäre parasympathische Fasern im N. oculomotorius zum Ganglion ciliare, welches im orbitalen Fettgewebe liegt, werden dort umgeschaltet und innervieren als Nn. ciliares breves den M. sphincter pupillae [53], [128]. Der efferente sympathische Schenkel nimmt seinen Ausgang im Hypothalamus. Die Fasern verlaufen über das Centrum ciliospinale im Halsmark (C8 und Th1) und den Truncus sympathicus, wo sie auf postganglionäre Fasern umgeschaltet werden. Sie ziehen entlang der A. carotis interna über die A. ophthalmica zum Ganglion ciliare und innervieren den M. dilatator pupillae. Dieser Muskel sorgt für die Pupillenweitstellung [53].



**Abb. 6 Pupillenlichtreflex**

Area Praetectalis (AP), Tractus opticus (*T. opticus*), Nervus opticus (*N. opticus*), Corpus geniculatum laterale (CGL), Edinger Westphal Kern (*E.W. Kern*). Die Abbildung wurde selbst erstellt, Literatur aus [53].

### 1.5.2 Einfluss der Photorezeptoren auf den PLR

Die Pupillenkonstriktion einer dunkeladaptierten Pupille kann bei starker Lichteinstrahlung bis zu 95% betragen. Bei niedriger Beleuchtung beträgt die Kontraktion lediglich 50% und wird vorwiegend über Stäbchen und Zapfen vermittelt. Eine maximale Kontraktion wird jedoch nur über ein Zusammenspiel beider Signaltransduktionsprozesse erreicht [106]. Versuche mit transgenen Mäusen zeigen:

Weder die isolierte Abwesenheit der extrinsischen noch der intrinsischen Signaltransduktion vermögen den PLR komplett auszulöschen. Daraus folgernd medieren sowohl stäbchen- und zapfenvermittelte als auch melanopsinvermittelte Signale den PLR. Die Auswirkungen der Blockade eines Systems sind abhängig von der Beleuchtungsintensität [114]. Studien zeigen, dass bei geringer Bestrahlungsstärke der PLR hauptsächlich von Stäbchen und Zapfen mediiert zu sein scheint, indessen hohe Intensitäten eher zu einem melanopsinvermittelten PLR führen. Dennoch sind die ipRGCs, auch in Melanopsin-Knockout Mäusen, von überragender Bedeutung für die Signalvermittlung von Stäbchen und Zapfen und spielen daher auch bei geringen Intensitäten eine zentrale Rolle [56, 132]. Die Beteiligung der ipRGCs konnte über eine Quantifizierung des PLR beurteilt werden. Melanopsin-Knockout Mäuse mit regelrechten ipRGCs wiesen eine Pupillenkonstriktion von bis zu 80% auf [36]. Im Tierversuch zeigten Güler und Kollegen, dass Mäuse mit genetisch ablatierten ipRGCs weiterhin ihre Umwelt wahrnehmen konnten, aber einen weitaus unzureichenderen PLR und zirkadianen Rhythmus aufwiesen als Melanopsin-Knockout Mäuse, deren ipRGCs in Zahl, Morphologie und Projektionen unverändert blieben. Selbst der vorwiegend stäbchen-zapfenmedierte PLR bei niedriger Bestrahlungsstärke erlosch bei diesen Mäusen. Folglich werden ipRGCs, selbst ohne Melanopsin, als Verschaltungsebenen der Stäbchen- und Zapfensignale für NIF-Funktionen benötigt [56].

## **1.6 Pupillometrie**

Die Pupillometrie ist eine Methode zur Erfassung des Pupillendurchmessers. Sie stellt ein nicht-invasives, für die Patienten meist wenig belastendes Verfahren ohne aufwändige Vorbereitung dar. Über die Veränderungen des Pupillendurchmessers lassen sich physiologische und pathologische vegetative Veränderungen des Nervensystems erkennen [28, 45].

### **1.6.1 Geschichte**

Der folgende Abschnitt basiert auf den Publikationen von I. Löwenfeld und O. Lowenstein und ihrem Buch *The Pupil: Anatomy, Physiology and Clinical Applications*, welches 1993 veröffentlicht wurde.

Die ersten Aufzeichnungen der Pupille gehen bis ins späte 19. Jahrhundert zurück. Erste Versuche erfolgten mit teils lebensgefährlichen Magnesiumblitzen. 1905 kombinierte Weiler seine Pupillenmessapparatur mit einem Kinematographen und

konnte nun bewegte Bilder der Pupille aufnehmen [97]. Derzeit konnte die Pupille nur bei hoher Umgebungshelligkeit fotografiert werden, um eine ausreichende Bildqualität zu gewährleisten. Lowenstein bediente sich daher eines dunkelblauen Filters aus Glas und tangential angeordneten Lichtquellen [104]. Mitte der 1930er Jahre ermöglichte die Infrarotfotographie die Aufzeichnungen der Pupille auch bei niedrigen Beleuchtungsverhältnissen. Die einzelnen Fotos mussten jedoch manuell ausgewertet werden. Löwenfeld berichtete zwischen 1925 und 1947 12. Mio. Bilder in ihrem Labor ausgewertet zu haben [97]. Diese enormen Datenmengen zeitsparend bearbeiten zu können ermöglichte erst die Entwicklung eines automatisierten Messinstruments 1947, welches mit Hilfe eines rotierenden Spiegels, einer Fotozelle und eines Oszillographen die Pupillenbewegungen maß und bis zu 7200 Pupillen pro Stunde aufzeichnete [96]. 1958 etablierte sich die elektronische Infrarot-Pupillographie, diese Methodik erlaubte die Aufzeichnung der Pupille auch bei Dunkelheit. Das Patientenaugen wurde beleuchtet und reflektiertes Licht photoelektrisch erfasst, wobei eine Pupillendilatation zu einem größeren Ausschlag des Messinstruments führte als eine enge Pupille [104]. In den Folgejahren wurden verschiedene Messmethoden entwickelt und optimiert, einige Geräte maßen den horizontalen, andere wiederum den vertikalen Durchmesser oder die Pupillenfläche. In den 1980er Jahren ermöglichte die computerbasierte Aufzeichnung der Pupille die digitale Bearbeitung der Messprotokolle [97]. Heutzutage wird mit Hilfe digitaler Infrarotkameras die Pupille aufgezeichnet und die Daten des Pupillendurchmessers am Computer mittels spezifischer Analysesoftware in einer Graphik als Funktion der Zeit aufgetragen.

### **1.6.2 Anwendungsgebiete**

Die Pupillometrie ist vielseitig einsetzbar und gibt je nach Abwandlung des Untersuchungskonzepts Aufschluss über verschiedene Parameter. Die klinische Diagnostik interessiert sich v.a. für den Einfluss pharmakologischer und toxikologischer Substanzen sowie bestimmter Erkrankungen auf den PLR. So wurde beispielsweise eine Abweichung der Pupillenreaktion bei Alkoholkonsum, Depression, Alzheimer-Patienten und vegetativ wirksamen Substanzen erkannt [45, 46, 95, 151]. Im Schlaflabor dient der pupillographische Schläfrigkeitstest durch Analyse der Pupillenoszillation (Pupillenbewegung bei konstanter Leuchtdichte) zur Erfassung von Müdigkeit und Vigilanz [150]. Diese „Schläfrigkeitwellen“ korrelieren mit dem Ausmaß des Schlafentzugs [105]. In der psychologischen Forschung etablierte sich die Pupillometrie bereits in den 60er Jahren. Die Pupillenreaktion wurde auf emotional wirkende visuelle Stimuli und während der Bewältigung kognitiver Leistungen getestet

[69, 70, 78]. Die Studien indizieren einen Zusammenhang zwischen mentaler Aktivität und Pupillenreaktion [89]. Angst, Wut und Stress führen zu einer Pupillendilatation, dieser Effekt wird psychosensorische Pupillenantwort genannt, kann aber von gewöhnlichen spontanen Oszillationen überlagert werden [151]. Die zitierte Literatur bietet lediglich einen kleinen Einblick in die Verschiedenartigkeit der Anwendungsmöglichkeiten der Pupillometrie.

### 1.6.3 Chromatische Pupillometrie

Die chromatische Pupillometrie basiert auf den unterschiedlichen Sensibilitäten der jeweiligen Photorezeptoren für bestimmte Lichtfrequenzen. Die Testung der Zapfen erfolgt über die Applikation von rotem Licht vor blauem Hintergrund, um die Stäbchenfunktion sicher auszuschließen. Blaues Licht niedriger Leuchtdichte vermittelt unter skotopischen Bedingungen eine stäbchenvermittelte Antwort, wohingegen blaues Licht hoher Leuchtdichte eine eher ipRGC-vermittelte Antwort generiert [80].

Generell findet man bei Lichtreizen höherer Leuchtdichte auch größere Konstriktionsamplituden, unabhängig ob rote oder blaue Stimuli verwendet werden. Blaues Licht führt im Vergleich zu rotem Licht identischer Leuchtdichte zu einer stärkeren Pupillenantwort. Zurückzuführen lässt sich diese Erscheinung auf das ungleiche Verhältnis von Stäbchen (60-125 Mio.) zu Zapfen (3,2–6,5 Mio.) und die zusätzliche spektrale Empfindlichkeit der ipRGCs auf blaues Licht [80].

Der PLR bei Applikation von blauem Licht ist stäbchenmediert, die PIPR vorwiegend ipRGC-vermittelt. Bei Rotlicht findet sich keine PIPR aufgrund der Insensitivität der ipRGCs auf den orange-roten Spektralbereich [31, 51, 80]. Die ipRGC-vermittelte PIPR verzögert die Dilatation der Pupille zur Ausgangslinie (*Baseline*) bei ausreichend starkem Stimuli (470nm bei 300cd/m<sup>2</sup> für 20s) auf bis zu 30s oder länger [68].

## 2 Ziele der Arbeit

Die Frühgeburt ist ein Risikofaktor für eine Reihe ophthalmologischer Erkrankungen [32]. So neigen ehemals frühgeborene Patienten häufiger zu Auffälligkeiten wie einer reduzierten Sehschärfe, Ametropien und Strabismus. Gesichtsfelddefekte und eine verringerte Kontrastsensitivität sind ebenfalls möglich [32, 73]. Ein geringes Geburtsgewicht bei verfrühter Geburt sowie die Ausbildung einer ROP sind zusätzliche Risikofaktoren für besagte Erkrankungen [73, 116, 149].

Das Vorhaben der vorliegenden Arbeit war daher die Auswirkungen von Risikofaktoren auf die kindliche Netzhaut mittels chromatischer Pupillometrie genauer zu untersuchen. Konkret wurden folgende Hypothesen formuliert:

- Die retinale Reizverarbeitung auf Ebene der Stäbchen und Zapfen wird durch die Frühgeborenenretinopathie negativ beeinflusst und kann mittels chromatischer Pupillometrie erfasst werden. Zusätzlich soll die intrinsische Lichtreaktion charakterisiert werden.
- Neben der Frühgeborenenretinopathie beeinflussen weitere Faktoren die retinale Entwicklung und Funktion. Reduzierte Antworten in der chromatischen Pupillometrie korrelieren negativ mit Geburtsgewicht, Gestationsalter und makulärer Reifung.
- Reduzierte Antworten in der chromatischen Pupillometrie korrelieren mit pathologischen Werten in der Perimetrie und der Elektroretinographie. In diesem Fall könnte die chromatische Pupillometrie als kinderfreundliche objektive Untersuchungsmethodik die belastende Elektroretinographie und die bei Kindern nur begrenzt zuverlässige Perimetrie zumindest als Screening-Untersuchung ersetzen.

### 3 Material und Methodik

#### 3.1 Studienteilnehmer

Alle Probanden bzw. deren Eltern wurden unter Berücksichtigung der aktuellen Deklaration von Helsinki entsprechend aufgeklärt und stimmten den Untersuchungen zu. Ein positives Votum der Ethik-Kommission der Justus-Liebig-Universität lag vor (bewilligt am 12.10.2012; Az.: 150/09).

Die vorliegende Dissertation ist Teil einer prospektiven Kohortenstudie zur Langzeitnachverfolgung morphologischer und funktioneller Auswirkungen der ROP im Rahmen des DFG-Projektes Lo 457/10-1. Erste Ergebnisse wurden bereits von Bowl und Kollegen publiziert [19, 20]. In Kapitel 4.1 werden ihre Ergebnisse und die vorliegenden Daten im Zusammenhang diskutiert. Bei den Patienten handelt es sich um ehemalige Teilnehmer einer multizentrischen prospektiven Studie von 2001–2007. Alle Frühgeborenen wurden postpartal mittels digital wide-field retinal imaging (RetCam I, Massie Lab California, USA) untersucht [99].

An der aktuellen Studie nahmen insgesamt 191 Kinder (161 Frühgeborene und 30 Termingeborene) im Alter zwischen 6 und 13 Jahren teil von denen 169 pupillometrisch untersucht werden konnten und brauchbare Daten lieferten (siehe Tab 6). Nur diese Kinder wurden in die Datenauswertung einbezogen. Die Studienteilnehmer wurden anhand der Ergebnisse des ROP Screenings in folgende Gruppen eingeteilt. Als Kontrollgruppe wurden termingeborene Kinder gewählt.

mit Laser behandelte ROP (*laser treated ROP, t-ROP*; n=8/11)

spontan rückgebildete ROP (*spontaneously resolved ROP, sr-ROP*; n=47/50)

Frühgeborene ohne ROP (*no ROP, no-ROP*; n=89/100)

Termingeborene (*term born, TB*; n=25/30)

In die Gruppen no-ROP und sr-ROP wurden nur Kinder ohne erkennbare psychologische oder neurologische Defizite und ohne Hinweise auf neonatale Hypoglykämie, interventrikuläre Hämorrhagie oder hypoxische Enzephalopathie eingeschlossen. Die Kinder besuchten Regelschulen [20]. Eine Ausnahme bildete die Gruppe der Kinder mit behandlungsbedürftiger ROP (t-ROP). Alle Kinder der t-ROP Gruppe wurden in die Studie aufgenommen, unabhängig ihrer Vorerkrankungen. Als Kontrollgruppe, wurden gleichaltrige gesunde termingeborene Kinder gewählt. Sie wurden ebenfalls voruntersucht und hatten keine ophthalmologischen

Vorerkrankungen. Ausschlusskriterien waren Strabismus, Amblyopie oder höhere Refraktionsfehler [20].

**Tab. 4 Tabellarische Darstellung der probandenbezogenen Daten**

J=Jahre, w=weiblich, m=männlich, W=Wochen, g=Gramm

Gruppe	Alter (J.)	w / m	Gestationsalter (W)	Geburtsgewicht (g)
t-ROP	9,75 ± 0,59	6/ 2	26,52 ± 1,52	786,25 ± 128,02
sr-ROP	9,36 ± 0,52	19/28	28,11 ± 0,59	1070,10 ± 90,35
no-ROP	9,20 ± 0,31	42/47	30,95 ± 0,43	1472,40 ± 77,21
Termingeborene	8,24 ± 0,89	16/ 9	40,03 ± 0,44	3518,20 ± 187,83

### 3.2 Pupillometer und Ganzfeld-Stimulator

Die Untersuchung aller Studienteilnehmer erfolgte mittels chromatischer Pupillometrie. Die beiden dazugehörigen Komponenten waren die Brille (Pupillometer, BINO-I, AMTech, Dossenheim, Deutschland) und der Color Dome Ganzfeld-Stimulator (Diagnosys LLC, Espion E, Lowell, MA, USA). In die Brille sind zwei Videokameras mit Infrarotbeleuchtung integriert, die beide Augen des Probanden durch zwei halbdurchlässige Spiegel mit einer Bildrate von 25 Hz filmen. Rechtes und linkes Auge waren durch eine Wand lichtdicht voneinander getrennt und konnten so unabhängig voneinander stimuliert werden [101]. Zusätzlich wurde die Brille mit einer mechanischen Klappe aufgerüstet, welche die Beleuchtung von nur einem Auge ermöglichte.

Die Bilder wurden über eine USB-Schnittstelle in das mitgelieferte Programm Eyelab eingelesen, über welches die Pupille detektiert und alle 40ms der Durchmesser bestimmt wurde. Artefakte durch störende Wimpern und Lidschluss wurden automatisch erkannt. Selbst bei einer vom Lid bis zu 50% bedeckten Pupille konnten Position und Durchmesser noch korrekt erkannt werden. Die Detektion der Pupille erfolgte nicht automatisch, sie musste vorher gut eingestellt werden. Dazu wurden die Kameras über die Bedienknöpfe an den Seiten der Videobrille so eingestellt, dass die Pupille möglichst in der Mitte des Kontrollbildes erschien und scharf abgebildet wurde. Für eine optimale Fixierung der Pupille wurde der Proband gebeten die rote Punktbeleuchtung, welche beim Aufsetzen der Brille erkennbar ist, zu visieren. Ist die Pupille gefunden, werden im Kontrollbild vier Punkte um die Pupille angezeigt und die Suche konnte gestartet werden [8]. Die Punktbeleuchtung als Fixationspunkt ist notwendig. Fehlt ein Bezugspunkt, führt dies zu erhöhten Pupillenfluktuationen und

instabiler Akkommodation [24]. Unterschiedliche Abstände von Auge und Lichtquelle beeinflussen ebenfalls die Messungen. Eine nähere Lichtquelle beleuchtet eine größere Netzhautfläche und führt zu einer stärkeren Miosis. Daher wurde in der vorliegenden Arbeit ein Abstand von 50 cm gewählt.



**Abb. 7 Schematische Darstellung der Pupillendetektion**

Die Abbildung wurde selbst erstellt.

Die Lichtblitze zur Reizung der Netzhaut wurden mittels Ganzfeld-Stimulator generiert. Der Ganzfeld-Stimulator enthält neben einer Xenonröhre vier farbige LED-Leuchten. Die Xenonröhre ermöglicht Lichtblitze einer Helligkeit von bis zu  $3000\text{cd/m}^2$ , über die LED-Leuchten (Blau, Grün, Orange, Rot) wird Farbige erzeugt, die Mischung aller Spektralfarben ergibt weißes Licht. Helligkeit ( $10^{-9}$  -  $3000\text{cd/m}^2$ ), Dauer und Wellenlänge der applizierten Lichtblitze waren frei einstellbar und konnten mit farbiger Hintergrundbeleuchtung ( $10^{-9}$  -  $500\text{cd/m}^2$ ) kombiniert werden. Dies ermöglichte die Erstellung von individuellen Stimulusabfolgen zur objektiven und quantifizierbaren Funktionstestung der Photorezeptoren [101].



**Abb. 8 Pupillometer und Ganzfeld-Stimulator**

Das Bild links zeigt den Untersuchungsaufbau. Die Probandin trägt die Brille zur Detektion und Messung ihrer Pupillenbewegung. Das Gerät auf dem Tisch ist der Ganzfeld- Stimulator zur Applikation von Lichtblitzen auf die Netzhaut. Das Bild rechts zeigt eine Nahaufnahme der Brille. Bild rechts übernommen aus Lorenz et al. 2013

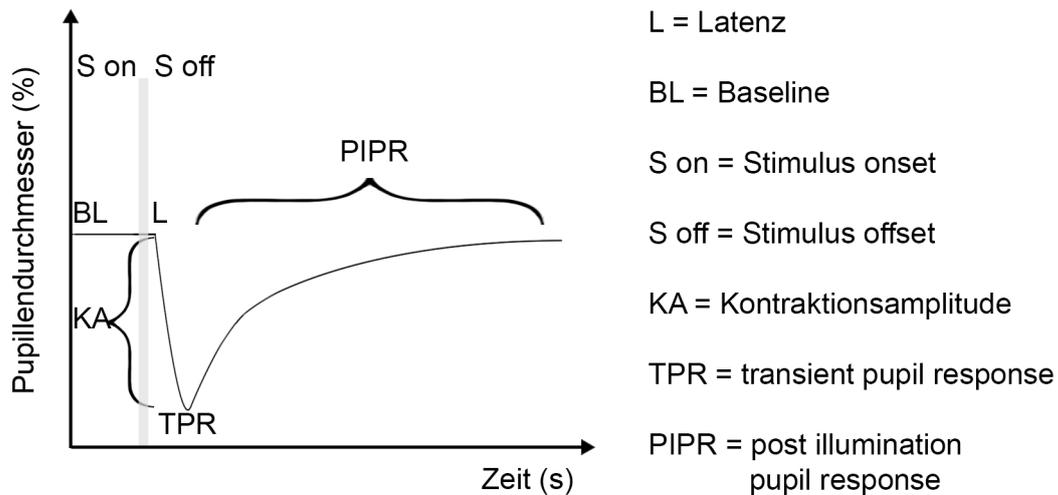
[101]. Mit freundlicher Genehmigung von Dr. Wadim Bowl (links) und Dr. Reinhard Kaden Verlag GmbH (rechts).

### 3.3 Messprotokoll

Der Kurvenverlauf des Pupillendurchmessers wurde als Funktion der Zeit aufgetragen und lässt sich in einzelne Abschnitte differenzieren. Am Anfang steht die Grundlinie, die den regelrechten Pupillendurchmesser bei konstanter Beleuchtung repräsentiert (*baseline pupil size=baseline*). Die Applikation eines Lichtreizes (*Stimulus Onset*) führt nach angehender Latenzzeit zur Pupillenkonstriktion, die sich im Verlauf der Kontraktionsamplitude widerspiegelt und im Minimaldurchmesser mündet. Von diesem Punkt ausgehend beginnt die Dilatation, sie repräsentiert den Verlauf zur Baseline. Die Dilatationsamplitude definiert den Anstieg der Kurve vom Minimaldurchmesser bis zur maximal möglichen Dilatation der Pupille, die sich auch unterhalb der Baseline befinden kann [13, 25]. Amplitude, Geschwindigkeit und Latenzzeit sind abhängig von der Netzhautaktivität, der Reizvermittlung über den Sehnerv und den Eigenschaften des pupillomotorischen Systems [55].

Diagnostisch relevant ist die transiente Pupillenkonstriktion (*transient pupil response, TPR*), sie beschreibt die maximale Kontraktion nach Applikation des Lichtreizes. Seit der Erforschung der ipRGCs und deren Einfluss auf den PLR ist ebenfalls die Dilatationsphase nach vorangegangener Konstriktion der Pupille (*post illumination pupil response, PIPR* auch bezeichnet als *sustained pupil response, SPR*) von Interesse [92]. Da interindividuelle Variablen wie die Ausgangspupillenweite keine Vergleichbarkeit zwischen den Probanden zulassen [151], wurde die prozentuale Abweichung der Kontraktionsamplitude zur Baseline mathematisch berechnet. Die prozentuale Differenz ist auch interindividuell vergleichbar.

Um die Aussagefähigkeit bzw. Messgenauigkeit des Pupillographen zu ermitteln wurden Wiederholungsmessungen (*test-retest variability*) von zehn Augen entsprechend fünf Probanden durchgeführt. Die Probanden wurden entweder noch am gleichen Tag oder aber an verschiedenen Tagen der Messwiederholung unterzogen. Dabei fanden sich in beiden Fällen keine signifikanten Abweichungen zwischen den Untersuchungen [100]. Diese Beobachtungen korrelieren mit den Ergebnissen anderer Arbeitsgruppen [68, 93].



**Abb. 9 Schematische Darstellung der Messparameter**

Die dargestellten Parameter charakterisieren den Verlauf des PLRs. Zur Evaluierung der Photorezeptorfunktion wurden in dieser Arbeit die TPR (Stäbchen, Zapfen) und die PIPR (ipRGCs) herangezogen. Abbildung wurde selbst erstellt.

### 3.4 Stäbchen- und Zapfenprotokoll

Die chromatische Pupillometrie kann durch Wahl des richtigen Stimulusprotokolls als diagnostisches Verfahren zur Überprüfung der retinalen Funktion herangezogen werden und erlaubt eine Beurteilung des stäbchen- und zapfenvermittelten Sehens sowie des Farbsehens [80, 118]. Ziel der Untersuchung war es, durch eine genau determinierte Abfolge von roten und blauen Stimuli mit definierten Helligkeiten eine isolierte stäbchen-, zapfen- und ipRGC-vermittelte Antwort zu erhalten. Die Erstellung der Protokolle wurde angelehnt an die von Park [118] und Kardon [80] publizierten Arbeiten. Entsprechend dem Protokoll von Park wurde eine Stimulusdauer von einer Sekunde für alle Protokolle festgelegt (eine genaue Übersicht findet sich in Tab. 5).

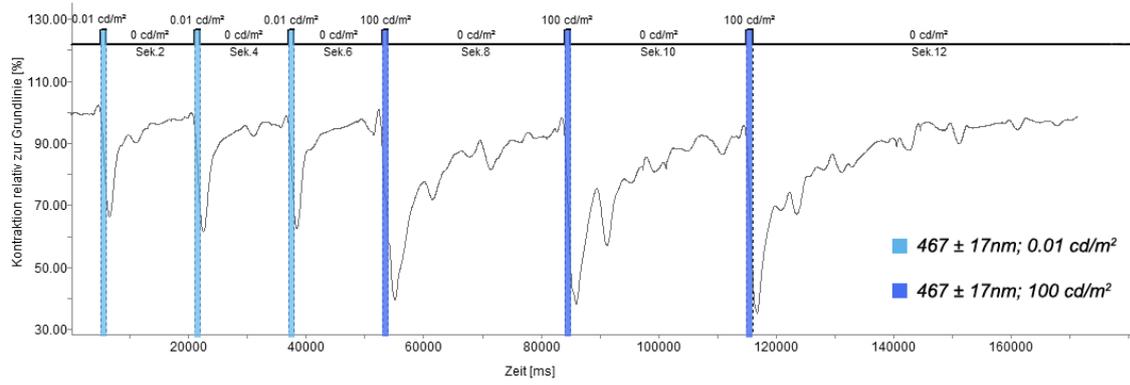
Stäbchen sind besonders sensitiv auf Licht und ermöglichen skotopisches Sehen. Eine stäbchengenerierte Antwort ist bereits bei Absorption eines einzigen Photons möglich [83]. Um eine möglichst selektive Stäbchenantwort zu erhalten wurden daher nach zwanzigminütiger Dunkeladaptation Lichtblitze geringer Intensität ( $0,01\text{cd/m}^2$ ) und einer Wellenlänge von  $467 \pm 17\text{nm}$  gewählt. Dieser Spektralbereich entspricht annähernd dem Absorptionsmaximum des Rhodopsins ( $496\text{nm}$ ) [85]. Zapfen werden bei Dunkelheit von schwachen ( $0,01\text{cd/m}^2$ ) blauen Stimuli nur in geringem Umfang aktiviert

(Absorptionsmaximum für S-Zapfen: ~420nm [155]). Zusätzlich wurden blaue Lichtblitze der gleichen Wellenlänge mit einer Intensität von  $100\text{cd/m}^2$  auf die Netzhaut appliziert zur Messung der ipRGC-Aktivität.

Um möglichst nur das Stäbchensystem anzusprechen, ist eine mindestens zehnminütige Dunkeladaptation notwendig, da dies die Sensitivität der Stäbchen gegenüber den Zapfen auf das 1000-fache steigert [47]. Park et al. zeigten [118] in ihren Versuchen ebenfalls, dass bereits eine zehnminütige Dunkeladaptation eine stäbchendominierte retinale Antwort begünstigt. In der vorliegenden Arbeit wurde die Adaptationszeit auf zwanzig Minuten verlängert, um eine möglichst selektive Stäbchenantwort bei Messung zu generieren. Um die Kinder nicht kompletter Dunkelheit auszusetzen und die Untersuchung etwas angenehmer zu gestalten, wurde der Raum mit einer schwachen Rotlichtquelle erhellt. Eine weitere Lichtquelle bildete der mit roter Folie abgedeckte Bildschirm des Laptops. Eine etwaige Beeinflussung dieser Lichtquellen und der Infrarotbeleuchtung des Pupillometers auf den Adaptationszustand der Probanden ist nicht auszuschließen. Zudem ist die Infrarotbelichtung notwendig zur Detektion der Pupille.

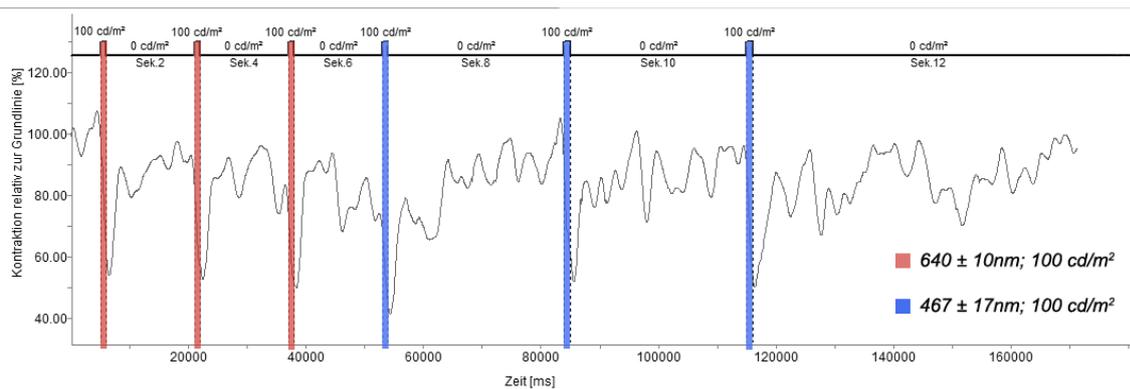
Im Gegensatz zum Stäbchenprotokoll wurde für die Aktivierung des Zapfensystems ein Lichtblitz der Helligkeit von  $100\text{cd/m}^2$  gewählt. Zapfen sind weniger sensitiv auf Lichtreize und können Helligkeiten unterscheiden, bei denen Stäbchen bereits gesättigt sind. Sie ermöglichen das Tagessehen [71] und reagieren dementsprechend erst bei höheren Lichtintensitäten adäquat auf Lichtreize. Die spektrale Sensitivität der Zapfen ergibt sich aus der Summe der Absorptionsmaxima aller Zapfentypen und liegt mit etwa 560nm im orangen Bereich [123]. Da jedoch Stäbchen bis zu einer Wellenlänge von 620nm sensitiver reagieren als Zapfen, wurde Rotlicht einer Wellenlänge von  $640 \pm 10\text{nm}$  als Reiz gewählt [123]. Drei Minuten vor sowie während des gesamten Zapfenprotokolls wurde die Halbkugel mit blauem Hintergrundlicht von  $0,78\text{cd/m}^2$  beleuchtet [100], um eine Stäbchen- bzw. ipRGC vermittelte Signaltransduktion weitgehend zu unterdrücken.

Der Pupillometer zeichnete den Pupillendurchmesser fünf Sekunden vor dem ersten Stimulus bis 60 Sekunden nach dem letzten Stimulus auf.



**Abb. 10 Stäbchenprotokoll**

Dargestellt ist das Messprotokoll des rechten Auges eines gesunden Normalprobanden. Vor Pupillenaufzeichnung wird der Proband 20 Minuten an die Dunkelheit adaptiert. Nach einer Anlaufzeit von 5s setzt der erste Stimulus ein. Jeder Stimulus dauert 1s. Zwischen den ersten 3 Stimuli liegen Dunkelphasen von jeweils 15s. Nach den ersten 3 Stimuli wird jeweils eine Pause von 30s eingehalten. 1000ms=1s



**Abb. 11 Zapfenprotokoll**

Es handelt sich um den gleichen Probanden wie in Abb. 10. Zur Sättigung von Stäbchen und ipRGCs wird die Halbkugel mit blauem Licht von  $0,78\text{cd/m}^2$  erfüllt. Auch hier wird nach einer Anlaufzeit von 5s der erste Stimulus appliziert. Jeder Stimulus dauert 1s. Zwischen den ersten 3 Stimuli liegen Dunkelphasen von jeweils 15s. Nach den ersten 3 Stimuli wird jeweils eine Pause von 30s eingehalten. 1000ms=1s

**Tab. 5 Tabellarische Darstellung des Stäbchen- und Zapfenprotokolls**

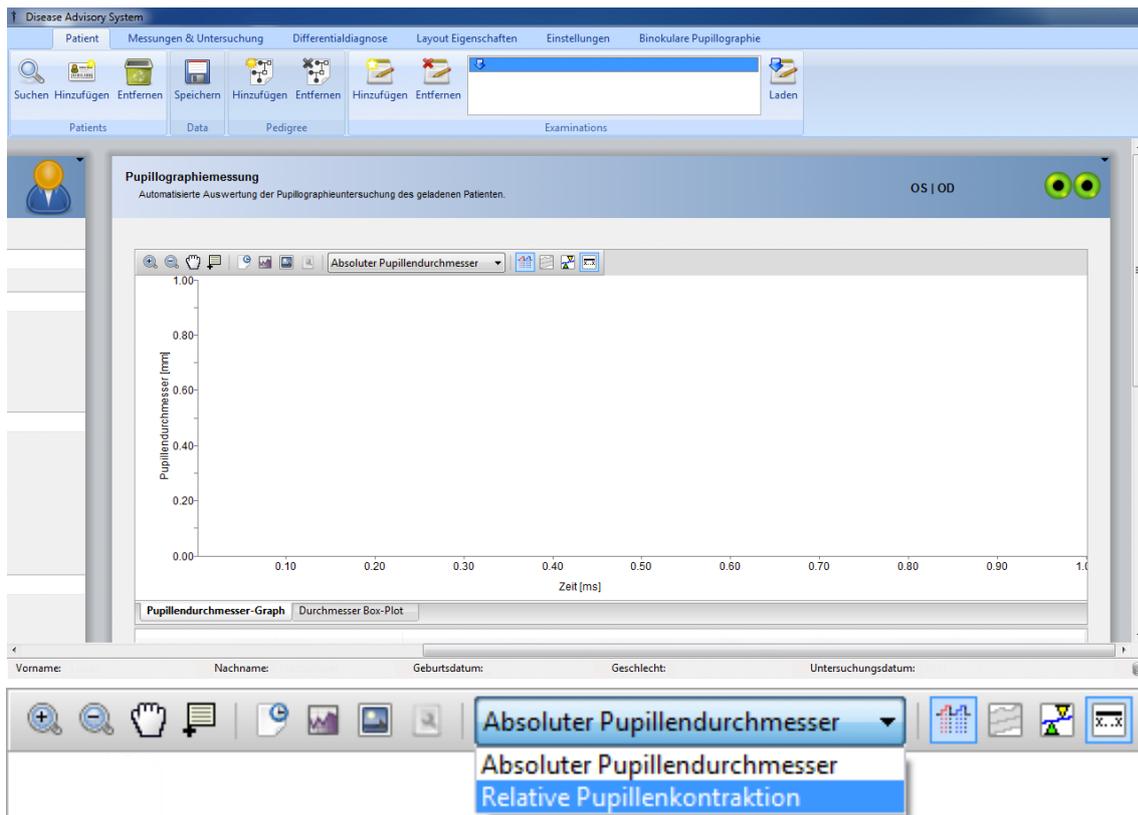
Zeit in s	Stäbchenprotokoll	Zapfenprotokoll
	20 min Dunkeladaptation	Blaues Hintergrundlicht ( $0,78\text{cd/m}^2$ )
5	Anlaufzeit bis zum ersten Stimulus	Anlaufzeit bis zum ersten Stimulus
1	Blaulichtstimulus $0,01\text{cd/m}^2$	Rotlichtstimulus $100\text{cd/m}^2$

15	Dunkelphase	Dunkelphase
1	Blaulichtstimulus 0,01cd/m <sup>2</sup>	Rotlichtstimulus 100cd/m <sup>2</sup>
15	Dunkelphase	Dunkelphase
1	Blaulichtstimulus 0,01cd/m <sup>2</sup>	Rotlichtstimulus 100cd/m <sup>2</sup>
15	Dunkelphase	Dunkelphase
1	Blaulichtstimulus 100cd/m <sup>2</sup>	Blaulichtstimulus 100cd/m <sup>2</sup>
30	Dunkelphase	Dunkelphase
1	Blaulichtstimulus 100cd/m <sup>2</sup>	Blaulichtstimulus 100cd/m <sup>2</sup>
30	Dunkelphase	Dunkelphase
1	Blaulichtstimulus 100cd/m <sup>2</sup>	Blaulichtstimulus 100cd/m <sup>2</sup>
60	Fortführung der Messung	Fortführung der Messung

### 3.5 Datenerhebung und –analyse

Die Probanden durchliefen beide Stimulusprotokolle jeweils für beide Augen, entsprechend vier Durchläufen pro Proband. Begonnen wurde mit dem Stäbchenprotokoll. Im ersten Durchlauf wurde das rechte Auge beleuchtet wobei der direkte PLR des rechten Auges sowie der konsensuelle PLR des linken Auges erfasst und aufgezeichnet wurden. Im zweiten Durchlauf wurde das linke Auge gemessen und anschließend zum Zapfenprotokoll gewechselt. In Anlehnung an Park [118] und die in Studien beschriebene Kontraktionsanisokorie [26, 137] wurde nach Datenerfassung nur die direkte Lichtreaktion in die Auswertung einbezogen.

Die gemessenen Rohdaten (Pupillendurchmesser in mm + Zeit in ms) wurden als Textdatei gespeichert und in ein Computerprogramm (*Disease Advisory System, DAS*) der Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde, Gießen exportiert und analysiert. Entwickelt wurde das DAS von Herrn Steffen Zahn, die Urheberrechte besitzt die Justus-Liebig-Universität Gießen. Eine Studie von Lorenz et al., welche pupillometrisch erhobene Daten mittels DAS auswertete wurde bereits veröffentlicht [100]. Die Software dient der Erstellung der Messprotokolle und ermittelt die TPR und die SPR.



**Abb. 12 Darstellung des DAS mit Vergrößerung der Menüleiste**

Von links nach rechts: Vergrößern, Verkleinern, Schwenken, Daten Cursor, neues Messprotokoll erstellen, Messdateienmanager öffnen, Graph als Bild speichern, Konfiguriere die Informationsextraktion aus den Messdateien, Auswahl absoluter Pupillendurchmesser bzw. relative Pupillenkontraktion, zeige Sektionen des Messprotokolls, zeige Normdaten, zeige transient und sustained Messpunkte, zeige Sektionsnummern

Die TPR wurde im Boxplot dargestellt und konnte manuell ausgelesen werden. Der Boxplot ergab sich aus dem Normkollektiv, welches für die Erstellung eines Referenzbereiches rekrutiert wurde. In der hier vorgestellten Studie wurde jedoch ein auf das Patientenkollektiv zugeschnittenes Normkollektiv gesunder Kinder im Alter von 6 bis 13 Jahre hinzugezogen, sodass der im DAS integrierte Normbereich vernachlässigt wurde. Studien beschreiben eine größere Ausgangspupillenweite bei Kindern [15, 124]. Um vergleichbare Daten zu erheben, wurden daher Normalprobanden im gleichen Alter rekrutiert. Die TPR wurde anschließend tabellarisch erfasst und statistisch ausgewertet.

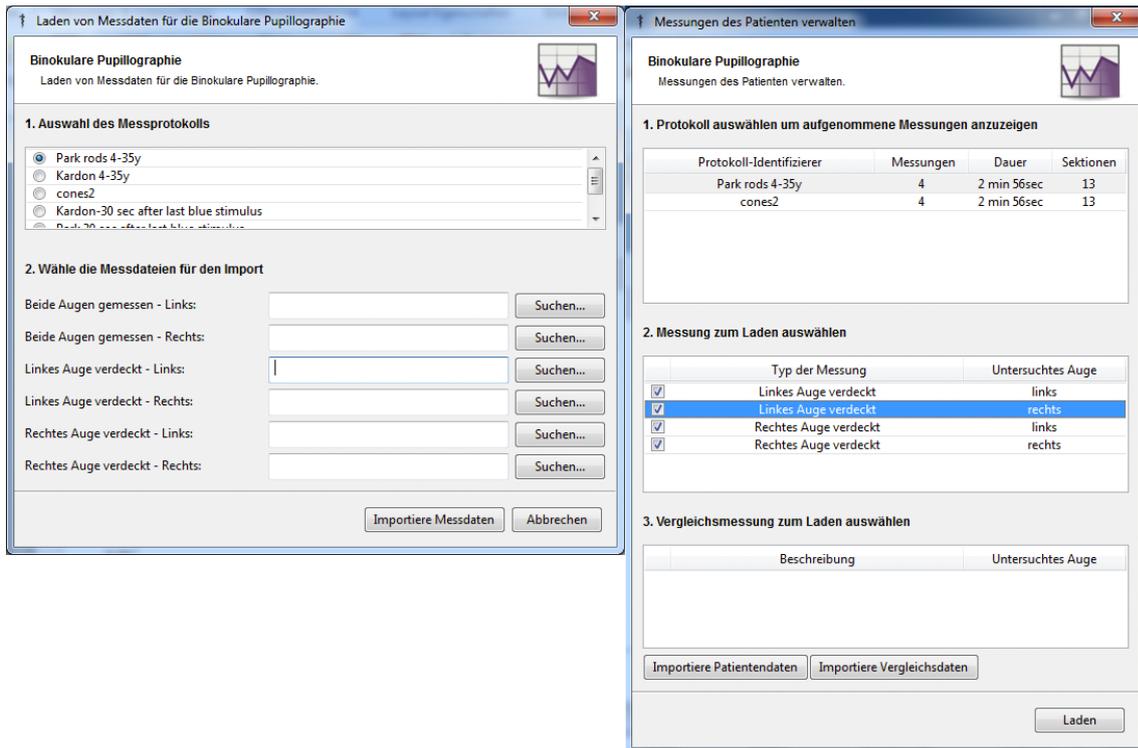


Abb. 13 Fenster zum Einlesen der Rohdaten in das DAS

Links: Einlesen der Rohdaten, Rechts: Erstellen des Messprotokolls nach Einlesen der Rohdaten.

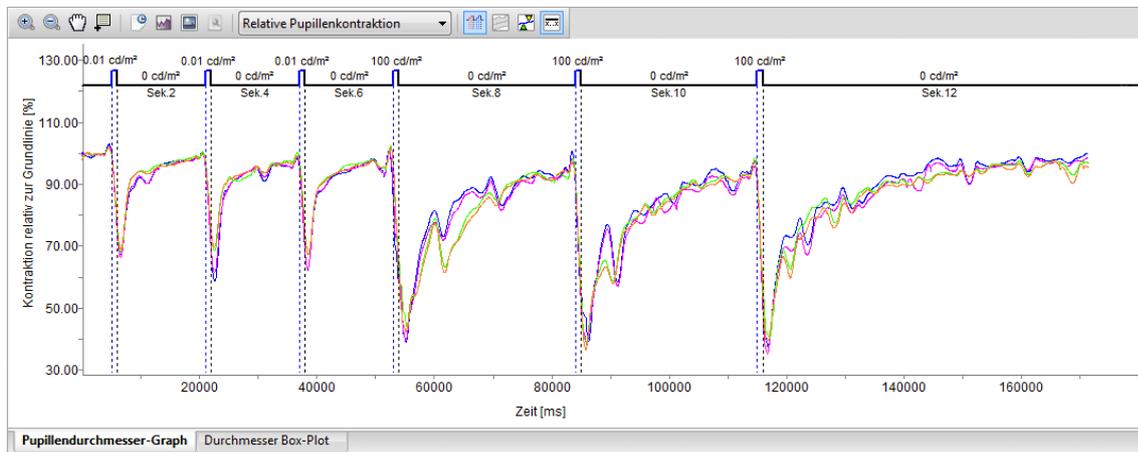
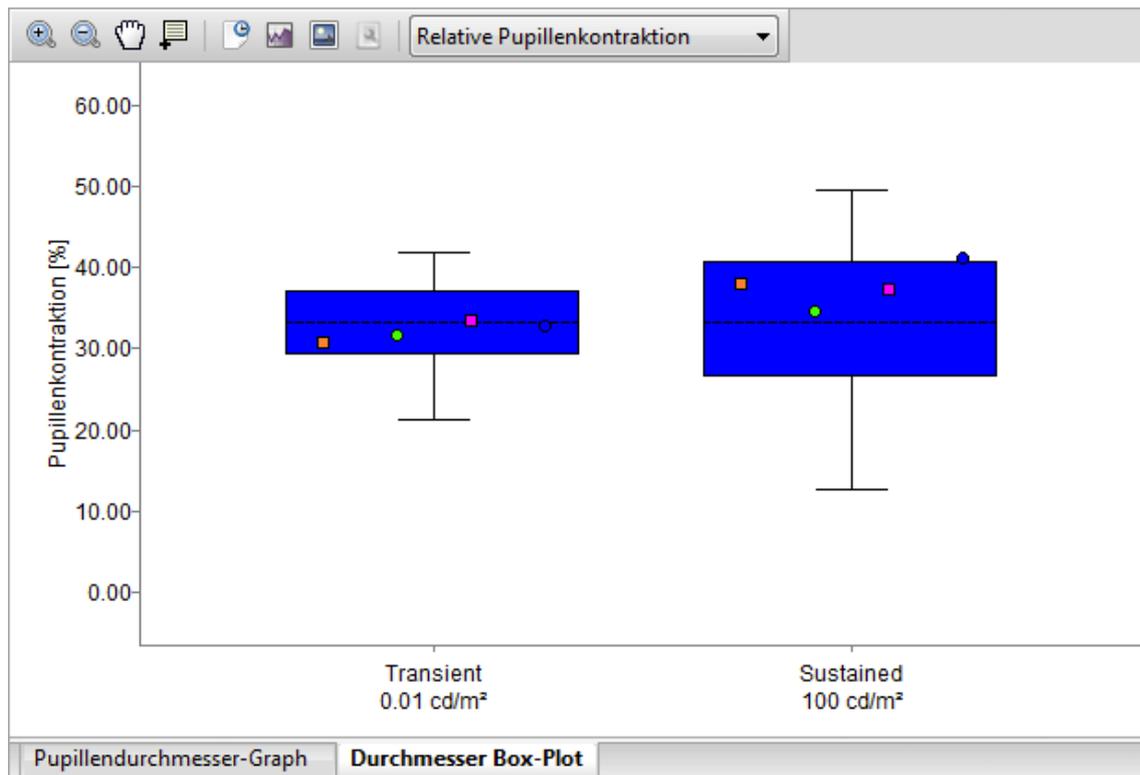


Abb. 14 Screenshot DAS: Messprotokoll

Es handelt sich um den gleichen Probanden wie in Abb. 10. Zu sehen sind die vier erhobenen Messprotokolle eines Probanden: Rot: Direkter PLR des rechten Auges, Blau: Konsensueller PLR des rechten Auges. Grün: Direkter PLR des linken Auges, Orange: Konsensueller PLR des linken Auges



**Abb. 15 Screenshot DAS Boxplot mit TPR**

Es handelt sich um den gleichen Probanden wie in Abb. 10. Abgebildet sind die TPRs der jeweiligen Messprotokolle in Abb. 14. Das DAS errechnet aus den ersten 3 Pupillenreaktionen des Messprotokolls die TPR, welche im Boxplot-Fenster ausgelesen werden kann. Die Boxplots ergeben sich aus den Daten der gesunden Probanden, die während der Programmierung des DAS erhoben und in das DAS eingepflegt wurden. Sie sind für die aktuelle Studie irrelevant, da in der vorliegenden Arbeit auf ein Normkollektiv gesunder Kinder im Alter von 6 bis 13 Jahren zurückgegriffen wurde. Dieses Fenster dient lediglich dem Auslesen der TPRs.

Das DAS entfernt invalide bzw. physiologisch unmögliche Messpunkte und glättet die Kurve mittels Savitzky-Golay Filter vierter Ordnung [100]. Die Fensterbreite konnte frei eingestellt werden, hier wurde eine Fensterbreite von 100 Tupel gewählt. Die aufbereiteten Daten wurden mit dem Lichtstimulus synchronisiert und in Hell- und Dunkelintervalle ( $0\text{cd/m}^2$ ) unterteilt. Für jede unbelichtete Sektion (Dunkelintervall) wurde die Baseline (Kontraktion=0%) aus den letzten 20% der Tupel vor Stimulus Onset neu berechnet aufgrund der Tatsache, dass eine vollständige Redilatation nach Stimulus Offset nicht zwangsläufig stattfand und die initiale Baseline vor dem ersten Stimulus keine geeignete Referenzgröße mehr darstellte. Der Verlauf des Messprotokolls wurde als prozentuale Abweichung vom Ausgangsdurchmesser der Pupille errechnet. Die Berechnung der relativen Werte ermöglichte die Vergleichbarkeit der Datensätze untereinander trotz physiologisch abweichender Pupillengröße. Die Formel zur Berechnung wurde von Kardon und Kollegen erstellt [80].

$$f(x) = \frac{base - g(x)}{base} * 100$$

$f(x)$  = relativer Pupillendurchmesser zum Zeitpunkt  $x$

$g(x)$  = absoluter Pupillendurchmesser zum Zeitpunkt  $x$

base = absolute baseline pupil size

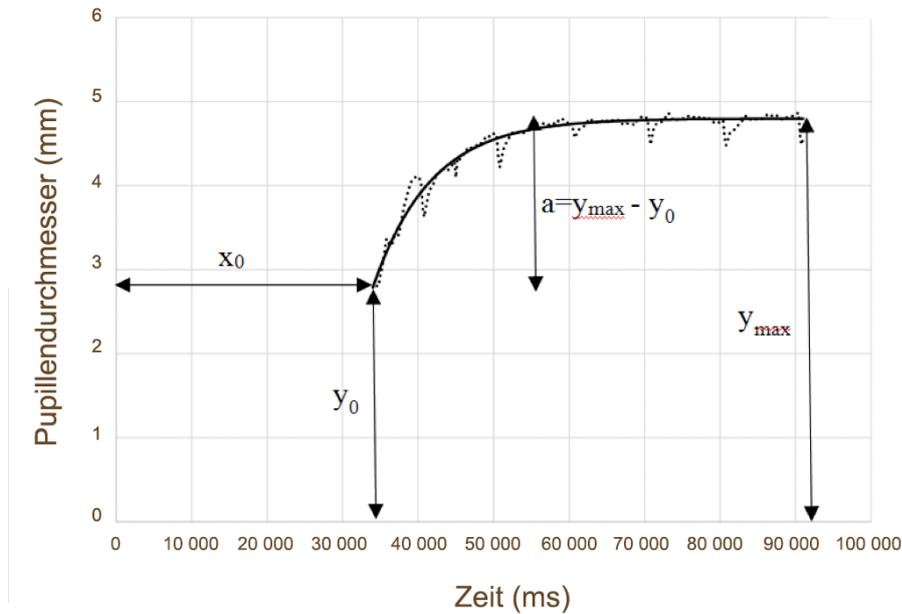
### 3.6 Ermittlung der ipRGC-Aktivität über die Redilatationszeit

Die Reaktion der Stäbchen und Zapfen auf Licht löst nach kurzer Latenzphase von wenigen Millisekunden eine Pupillenkonstriktion aus, deren Maximum als definierbarer Punkt im Messprotokoll beschrieben und daher quantitativ erfasst werden kann. Über die Stimulusprotokolle konnte ein stäbchen- ( $0,01\text{cd/m}^2 / 467 \pm 17\text{nm}$ ) bzw. zapfenvermittelter ( $100\text{cd/m}^2 / 640 \pm 10\text{nm}$ ) PLR provoziert werden.

Die Reaktion der ipRGCs ist eine verlängerte Redilatation nach erfolgtem Lichtreiz [31], im Messprotokoll erkennbar an der verlängerten Pupillenkonstriktion nach bereits erloschenem Lichtreiz [1]. Mehreren Studien [31, 118, 153] zufolge ist ihre Aktivität v.a. auf Lichtreize vergleichsweise hoher Intensität und niedriger Wellenlänge messbar, daher wurden dem Stäbchenprotokoll drei weitere Stimuli einer Intensität von  $100\text{cd/m}^2$  und einer Wellenlänge von  $467 \pm 17\text{nm}$  angeschlossen (siehe Abb. 10).

Verschiedene Studien versuchten über objektive Parameter wie 6s-PIPR [118], die Redilatationsgeschwindigkeit [39], die Ermittlung der Fläche unterhalb der Baseline [68] oder die Ermittlung des durchschnittlichen Pupillendurchmessers nach Stimulus Offset innerhalb eines definierten Intervalls die PIPR zu erfassen.

Das DAS ermöglicht die Quantifizierung der PIPR über einen definierten Punkt sechs Sekunden nach Stimulus Offset, welcher auf dem Messprotokoll abgelesen werden kann und im Boxplot dargestellt wird. Diese Herangehensweise ist jedoch nur begrenzt aussagefähig, da ein einzelner Punkt zwar einen flacheren Kurvenanstieg zu einem bestimmten Zeitpunkt erfassen kann, aber die gesamte Steigung bis zum nächsten Stimulus nicht repräsentiert und somit kein hinreichendes Maß über die Reaktionskinetik der ipRGCs darstellt. Daher soll in der vorliegenden Arbeit über die Erfassung des gesamten Kurvenanstiegs nach vorangegangener Pupillenkonstriktion die PIPR vollends quantifiziert werden. Die Berechnung der PIPR ist z.Z. Forschungsprojekt der Arbeitsgruppe um Prof. Dr. B. Lorenz und Dr. W. Bowl. Ihren Berechnungen zufolge lässt sich die PIPR über eine exponentielle Annäherung an das Messprotokoll mittels optimierter Kurve beschreiben (Abb. 16). Sie wird durch folgende Formel beschrieben:  $y = a \times (1 - e^{-b \times (x-x_0)}) + y_0$



**Abb. 16 Grafische Darstellung der Parameter**

Annäherung der Funktion (durchgehende Linie) an die Rohdaten (gepunktete Linie). Parameter  $b$  kann über die gegebenen Parameter  $x$ ,  $y$  und  $a$  errechnet werden, welcher die Geschwindigkeit der exponentiell inversen Zerfallsfunktion beschreibt.

$X_0$  und  $Y_0$  repräsentieren den Abstand von der Y- bzw. X Achse und werden manuell durch Bestimmung des Startpunktes der Redilatationsphase festgelegt. Der Punkt  $(X_{max}, Y_{max})$  beschreibt die maximale Redilatation.  $a$  ist ein dynamischer Parameter innerhalb des Intervalls zwischen  $Y_0$  und  $Y_{max}$ . Der wichtigste Faktor ist Parameter  $b$ , welcher die Geschwindigkeit der Annäherungsfunktion beschreibt und als Maß für die ipRGC Aktivität angenommen wird. Ein kleineres  $b$  verweist auf einen flacheren Kurvenanstieg und dementsprechend auf eine verlängerte Redilatationszeit. Bowl und Kollegen entwickelten ein VBA (visual basic for applications) Skript zur automatisierten Berechnung der Parameter  $a$  und  $b$  mittels der Methode der kleinsten Quadrate bzw. die Anpassung der Annäherungsfunktion an die gemessenen Rohdaten.

Die Rohdaten wurden in ein Datenbankmanagementsystem (DBMS) eingelesen und jedem Studienteilnehmer eine Identifikationsnummer (ID) zugeordnet. Die ID wurde in ein Tabellenkalkulationsprogramm eingegeben und die Rohdaten aus dem DBMS importiert und anschließend analysiert. Zur Erfassung der korrekten Redilatationszeit wurde für jedes der sechs Intervalle die Start- und Endzeit eingetragen und im roten Feld das zu ermittelnde Intervall angegeben. Die ersten drei Intervalle im Messprotokoll repräsentieren die Stäbchenantwort ( $0,01\text{cd/m}^2 / 467 \pm 17\text{nm}$ ), die folgenden drei Intervalle die ipRGC Antwort ( $100\text{cd/m}^2 / 467 \pm 17\text{nm}$ ). Nach den ersten drei Stimuli

schließen sich Dunkelphasen von jeweils 15s an, ab dem vierten Stimulus von jeweils 30s. Der Variationskoeffizient (CV) und Summe der kleinsten Quadrate ( $\Sigma R^2$ ) sind Parameter zur Evaluierung der Qualität der Annäherung der Kurve an das Messprotokoll. Der CV repräsentiert die Messgenauigkeit,  $\Sigma R^2$  ist der mittlere quadratische Fehler zwischen dem tatsächlichen Messpunkt zu einem bestimmten Zeitpunkt und der angenommenen logarithmischen Funktion. Da alle 40 ms der kleinste Fehler gesucht wird, ist eine hohe Rechenleistung erforderlich.

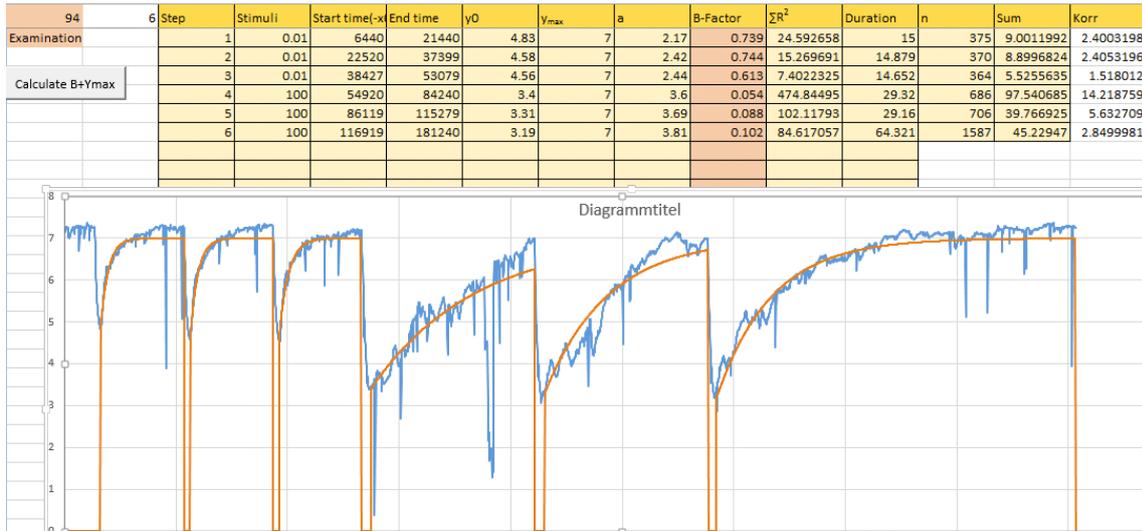


Abb. 17 Ermittlung des b-Faktors

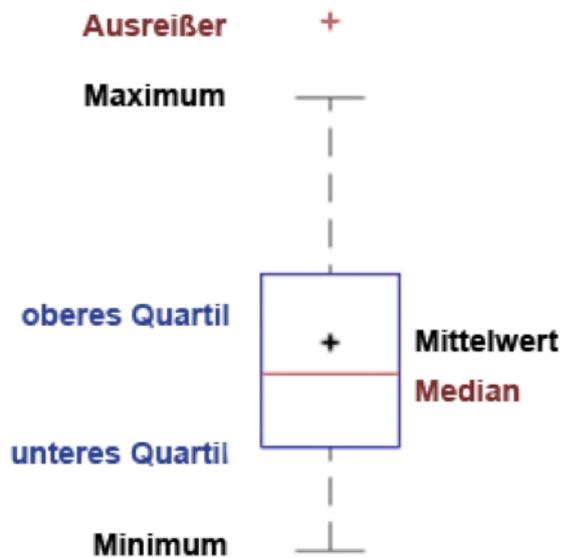
PIPR eines Normalprobanden. Die Rohdaten sind in blau, die errechnete Annäherung in orange dargestellt. Die Intensität der ersten 3 Lichtblitze beträgt  $0,01\text{cd/m}^2$  und der folgenden 3 Lichtblitze  $100\text{cd/m}^2$ . Der Geschwindigkeitsparameter b (rote Spalte) sowie die Fehlerparameter  $\Sigma R^2$  und CV (in der Abb. Als "Korr" bezeichnet) sind für jede Messung angezeigt.

### 3.7 Grafische Darstellung und Statistik

#### 3.7.1 Boxplot

Boxplots veranschaulichen die Verteilung ordinalskalierten und metrischer Daten und sind geeignet zum Vergleich mehrerer Stichproben. Die Box wird vom unteren bzw. 25% Quartil und vom oberen bzw. 75% Quartil begrenzt. Ihre Länge entspricht dem Interquartilsabstand ( $IQR = Q_{0.75} - Q_{0.25}$ ) und erfasst 50% der Daten. Der Median teilt die Box und unterteilt die gesamte Grafik in zwei Bereiche mit jeweils 50% der Daten. Anhand seiner Lage im Diagramm lässt sich erkennen ob die Variable schief oder symmetrisch ist [88]. Das arithmetische Mittel ist durch ein Kreuz gekennzeichnet. Die

beiden Whisker (= Schnurrhaare) erstrecken sich bis zum Minimum bzw. Maximum. Im erweiterten Fall (wie in dieser Arbeit) werden die Whisker auf das 1,5 fache des IQR bzw. beschränkt und Daten jenseits dieses Bereichs isoliert als Ausreißer dargestellt. Der Whisker kann auch kürzer ausfallen, wenn der kleinste bzw. größte Wert der Daten kleiner ausfällt als  $1,5 \times \text{IQR}$  [140].



**Abb. 18** Boxplot mit Kennwerten

Das Minimum entspricht einem Wert unterhalb des  $1,5 \times \text{IQR}$ . Der obere Whisker erstreckt sich bis zum  $1,5 \times \text{IQR}$ . Der Ausreißer liegt oberhalb dieses Bereichs.

### 3.7.2 Regressionsanalyse

Die Regressionsanalyse dient der Vorhersage eines Sachverhalts. Die lineare Regression prüft welchen Einfluss eine unabhängige Variable (X) auf eine abhängige Variable (Y) hat bzw. ob es eine Beziehung zwischen diesen Variablen gibt [88]. X und Y sind metrische Merkmale [140]. Das Bestimmtheitsmaß  $R^2$  hat einen Referenzbereich zwischen 0 (nicht aussagefähig) und 1 (gutes Modell).  $R^2$  gilt als Gütemaß des Regressionsmodells. Es gibt an welchen Anteil der Varianz in der abhängigen Variablen Y durch die unabhängigen Variablen erklärt wird [88].

### 3.7.3 Netzhautmorphologie

Von allen Kindern wurden Rekonstruktionen der zentralen Netzhaut mittels optischer Kohärenztomographie (spectral domain optical coherence tomography, SD-OCT) angefertigt. Die Bilder wurden in das an der Augenklinik Gießen von der Arbeitsgruppe

um Frau Prof. Lorenz entwickelte Programm DiOCTA eingelesen und analysiert. Mit Hilfe dieser Software können Netzhautschichten automatisiert segmentiert und die Schichtdicken ermittelt werden [38]. Die Ergebnisse wurden bereits veröffentlicht [20] (siehe Einleitung, Kapitel Netzhaut). Die no-ROP und die sr-ROP Kinder wurden entsprechend ihrer äußeren nukleären Schicht + externen limitierenden Membran (*ONL+ELM*) sortiert und in reguläre Fovea (*RF*) und macular developmental arrest (*MDA*) unterteilt (siehe Abb. 4).

## 4 Ergebnisse

### 4.1 Anzahl der Messdaten

Die Anzahl der Daten ergibt sich aus den untersuchten Augen, dementsprechend zwei Augen pro Patient. Bei einigen Kindern konnte nur ein oder gar kein Auge gemessen werden. Die Ergebnisse beziehen sich auf den direkten PLR. Genauere Angaben zum Probandenkollektiv können Tab. 4 entnommen werden.

Insgesamt war die Compliance der jungen Studienteilnehmer gut. Eine Übersicht der Messdaten findet sich in Tab. 6. Vor der Untersuchung wurde auf eine entspannte Haltung der Kinder geachtet und bei Wunsch die Eltern hinzugezogen. Dennoch empfanden einige der Kinder die Messungen als belastend, einigen waren die Lichtblitze zu grell, andere störten sich an der Pupillometer-Brille. Waren die Kinder zu angespannt bzw. die Compliance gering, wurde die Untersuchung abgebrochen. Artefakte entstanden meistens durch Blinzeln und Pupillenfluktuationen, weitere Störfaktoren waren Lidschluss und Kopfbewegungen. Wurden die Augen von den Probanden aufgrund der Lichteinstrahlung nicht ausreichend geöffnet, konnte der Pupillometer die Pupille nicht detektieren und der Durchmesser nicht bestimmt werden.

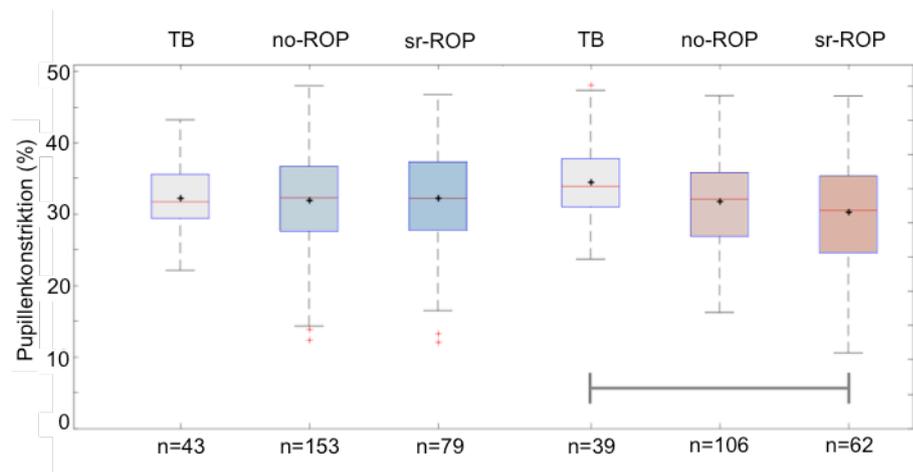
**Tab. 6 Anzahl der erhobenen Messdaten**

Gesamtheit der erhobenen Messdaten. Die prozentualen Angaben beziehen sich auf die rekrutierten Probanden pro Gruppe, die pupillometrisch untersucht werden konnten und brauchbare Daten lieferten (169 von 191). Oculus dexter (OD), Oculus sinister (OS)

	Stäbchen OD		Stäbchen OS		Zapfen OD		Zapfen OS	
Gesamt (n=169)	145	85,80%	144	85,21%	102	60,36%	114	67,46%
TB (n=25)	23	92,00%	20	80,00%	18	72,00%	21	84,00%
no-ROP (n=89)	76	85,39%	77	86,52%	48	53,93%	58	65,17%
sr-ROP (n=47)	39	82,98%	40	85,10%	32	68,08%	30	63,83%
t-ROP (n=8)	7	87,50%	7	87,50%	4	50,00%	5	62,50%

## 4.2 Stäbchen- und Zapfenfunktion

Getestet wurde inwieweit die relative Stäbchen- bzw. Zapfenantwort sich zwischen den Gruppen TB, no-ROP und sr-ROP voneinander unterscheidet. In den Boxplots sind die Daten aus rechtem und linkem Auge zusammengefasst.



**Abb. 19** Relative stäbchen- (blau) und zapfengewichtete (rot) Pupillenantwort

Relative Pupillenkonstriktion nach Stäbchen- (blau) und Zapfenprotokoll (rot). Die durchgezogene Linie verdeutlicht die Signifikanz. Termingeborene (*term born, TB*), Frühgeborene ohne ROP (*no-ROP*), Frühgeborene mit spontan remittierter ROP (*sr-ROP*), n=Anzahl der Augen

**Tab. 7** Kennwerte der Boxplots und Standardabweichung ( $\sigma$ )

Zu beachten ist v.a. der Median, welcher bei den Normalprobanden im Zapfenprotokoll weit höher liegt als im Stäbchenprotokoll.

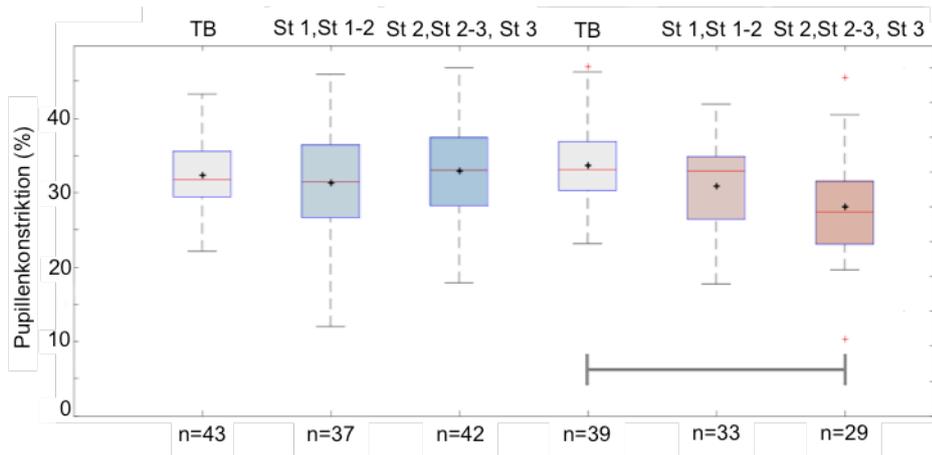
	Stäbchen			Zapfen		
	TB	no-ROP	sr-ROP	TB	no-ROP	sr-ROP
Maximum	43,23	48,00	46,79	50,28	48,73	48,68
O. Whisker	43,23	48,00	46,79	49,52	48,73	48,68
O. Quartil	35,60	36,69	37,35	39,45	37,45	36,92
Median	31,73	32,30	32,19	35,45	33,58	31,89
U. Quartil	29,45	27,62	27,73	32,45	28,10	25,70
U. Whisker	22,14	14,33	16,47	24,80	16,96	11,05
Minimum	22,14	12,32	11,99	24,80	16,96	11,05
Mittelwert	32,29	31,88	32,20	35,94	33,18	31,63
$\sigma$	$\pm 4,93$	$\pm 7,43$	$\pm 7,92$	$\pm 5,46$	$\pm 6,28$	$\pm 7,43$

Die statistische Auswertung erfolgte in Matlab Version R2014a. Mit dem Levene Test und Brown-Forsythe Test wurde auf Varianzhomogenität überprüft. Beide Signifikanztests konnten diese für die Grundgesamtheit der Stäbchendaten ( $p < 0,05$ ) nicht bestätigen. Bei den Zapfendaten ermittelte nur der Levene Test eine Varianzhomogenität. Der Shapiro-Wilk Test zeigte eine durchgehende Normalverteilung in allen Gruppierungen. Aufgrund dieser Ergebnisse wurden die Gruppensignifikanzen mit dem Kruskal Wallis Test berechnet. Als multiple Testung wurde die Bonferroni Korrektur verwendet, um eine Kumulierung des Alphafehlers zu neutralisieren.

Die Stäbchen- und Zapfenreaktion wurde für die Kontrollgruppe und die beiden Probandengruppen no-ROP und sr-ROP in Boxplots dargestellt. Der Datensatz der Stäbchen verzeichnete keinen signifikanten Unterschied zwischen den einzelnen Gruppen ( $p > 0,05$ ). Beim zapfenvermittelten PLR zeigte sich eine Gruppensignifikanz ( $p = 0,0137$ ) (siehe Abb. 19). Die Bonferroni Korrektur ergab zwischen Termingeborenen und Frühgeborenen ohne ROP einen tendenziell verringerten PLR ( $p = 0,074$ ). Kinder mit ROP in der Anamnese wiesen einen statistisch signifikant reduzierten PLR im Vergleich zu Termingeborenen auf ( $p = 0,004$ ). Zwischen Frühgeborenen ohne und mit ROP gab es keine relevante Differenz ( $p = 0,413$ ).

### 4.3 ROP Stadium

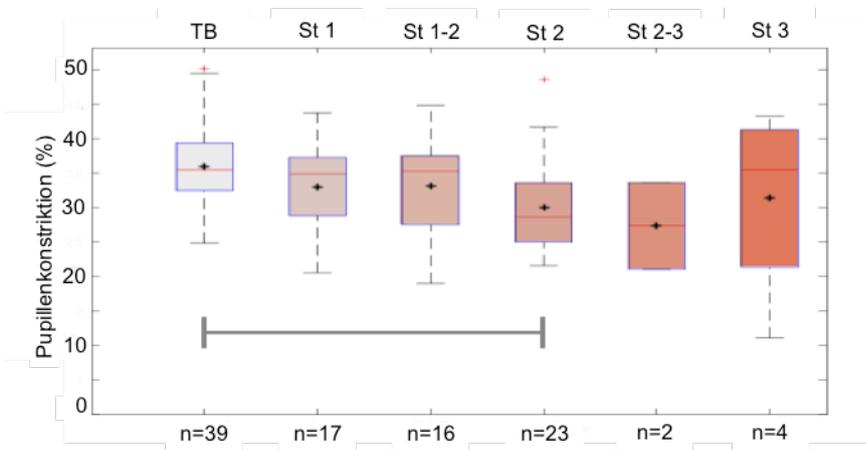
Zur Evaluierung der stäbchen- und zapfenmedierten Pupillenantwort in Bezug auf das ROP Stadium (*St*) der Probanden wurde die sr-ROP Gruppe in zwei Untergruppen entsprechend ihres ROP Stadiums aufgeteilt. Die Termingeborenen wurden als Referenz den Untergruppen gegenübergestellt. Die no-ROP Gruppe wurden aus der Statistik genommen, da diese Probanden nicht an einer ROP erkrankt waren. Alle Gruppen waren normalverteilt. Die Stichprobe der Stäbchen wies keine Varianzhomogenität auf, daraufhin wurden die Gruppensignifikanzen mittels Kruskal Wallis Test überprüft und bestätigten sich nur für den Datensatz der Zapfen. Nur zwischen den Termingeborenen und der Gruppe St 2, St 2-3, St 3 konnte ein signifikanter Unterschied verzeichnet werden ( $p = 0,001$ ).



**Abb. 20 Relative stäbchen- (blau) und zapfengewichtete (rot) Pupillenantwort in Bezug auf das ROP Stadium**

Einteilung der Kinder mit remittierter ROP in zwei Untergruppen und Vergleich dieser beiden Einteilungen mit den Termingeborenen.

Eine genauere Einteilung der Probanden in Termingeborene, Frühgeborene mit ROP St 1, St 1-2, St 2, St 2-3 und St 3 ergab einen differenzierten Überblick. Lediglich Probanden der Gruppe St 2 wiesen einen signifikant reduzierten PLR im Zapfenprotokoll im Vergleich zu Termingeborenen auf ( $p=0,018$ ).



**Abb. 21 Zapfenprotokoll: Weitere Differenzierung in alle ROP Stadien**

Der graue Boxplot zeigt die Verteilung der Termingeborenen und die roten Boxplots das jeweilige ROP Stadium. Zu beachten ist, dass es nur wenige Messungen von Kindern im Stadium 2-3 und 3 gibt.

#### 4.4 Gestationsalter und Geburtsgewicht

Unabhängig von der Gruppierung der Studienteilnehmer wurde auf eine Korrelation des PLR mit GA und GG geprüft. Als Referenz wurden wieder alle Normalprobanden zusammengefasst. Die Gruppen no-ROP und sr-ROP wurden nach ihrem GA und ihrem GG in die Gruppen  $\geq 32$  SSW,  $>28 < 32$  SSW,  $\leq 28$  SSW bzw.  $>1500$ g, 1000-1500g und  $<1000$ g eingeteilt. Alle Gruppen waren normalverteilt. Eine Gleichheit der Varianzen konnte nur bei den Zapfen ermittelt werden.

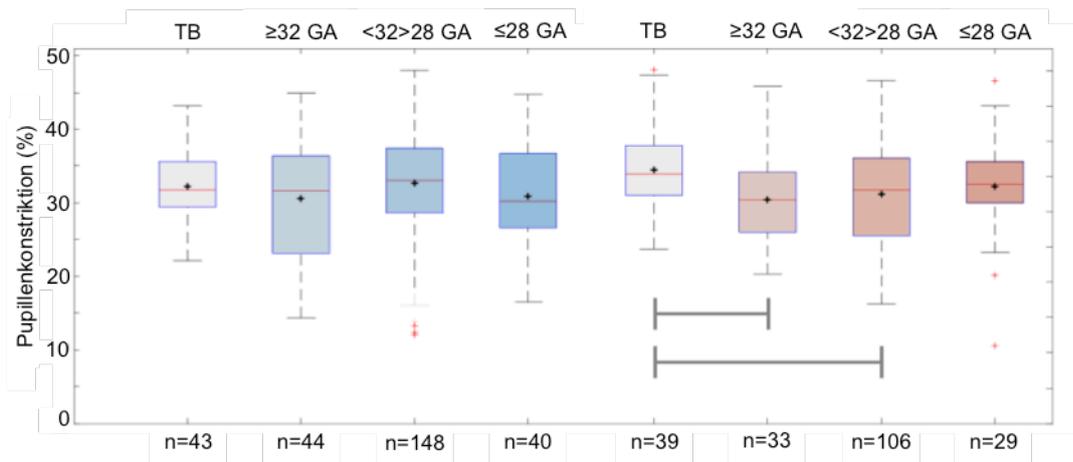


Abb. 22 Stäbchen- und Zapfen-PLR in Korrelation zum Gestationsalter

Stäbchenantwort (blau) und Zapfenantwort (rot). Der graue Boxplot repräsentiert die Termingeborenen, no-ROP und sr-ROP sind nach Gestationsalter in 3 Gruppen eingeteilt.

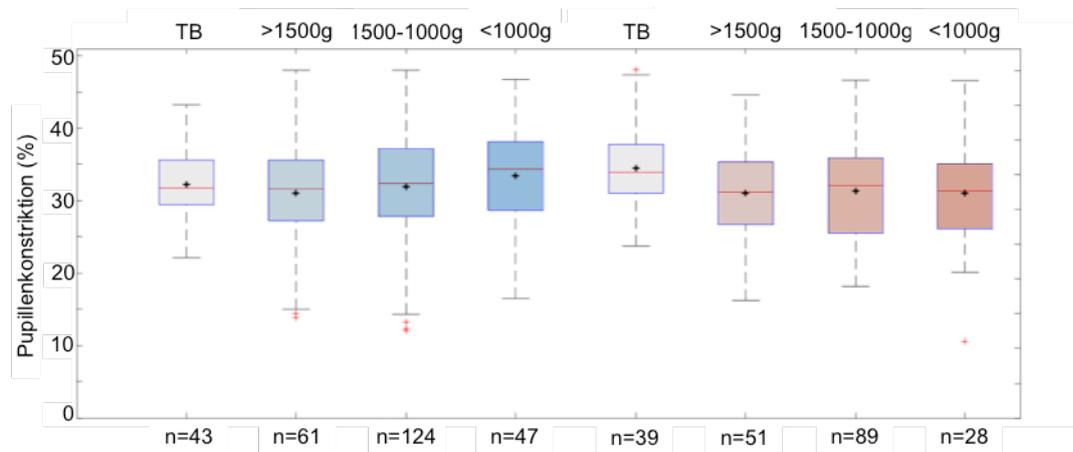


Abb. 23 Stäbchen- und Zapfen-PLR in Korrelation zum Geburtsgewicht

Stäbchenantwort (blau) und Zapfenantwort (rot). Der graue Boxplot repräsentiert die Termingeborenen, no-ROP und sr-ROP sind nach Geburtsgewicht in 3 Gruppen eingeteilt.

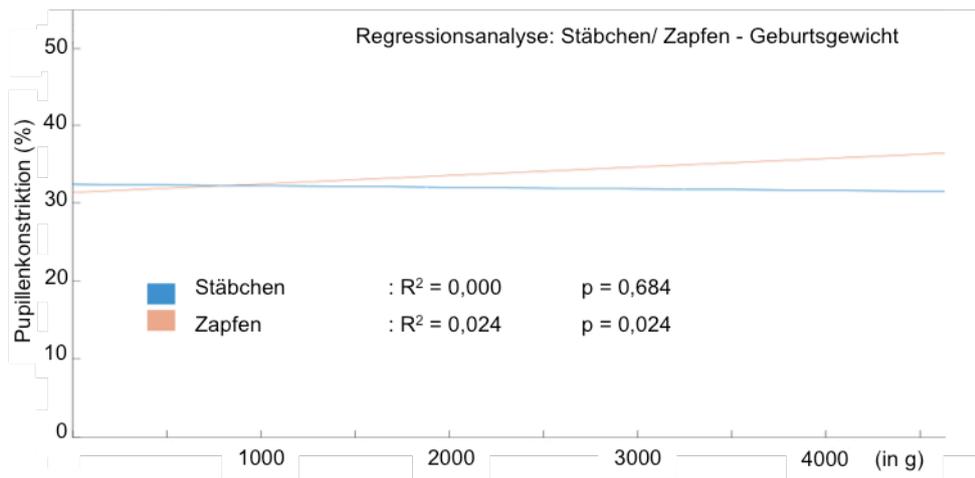
Die Gruppensignifikanzen wurden jeweils für die Stäbchen ( $p=0,3942$ ) und Zapfen ( $p=0,0336$ ) mit dem Kruskal Wallis Test ermittelt. Als Post-Hoc Tests wurden der Tukey Kramer Test und die Bonferroni Korrektur verwendet. Die Einteilung der Kinder nach postpartalem Gewicht und Korrelation der Gewichtsklassen zum Stäbchen- und Zapfen-PLR ergab für alle Gruppen nur geringfügige Abweichungen (siehe Abb. 23). Der Zapfen-PLR bei Kindern mit einem GA von  $\geq 32$  SSW ( $p=0,0391$ ) bzw.  $>28<32$  SSW ( $p=0,0304$ ) war vermindert, interessanterweise konnte dieser Unterschied zwischen Termingeborenen und Frühgeborenen  $\leq 28$  SSW nicht nachgewiesen werden (siehe Abb. 22). Die Bonferroni Korrektur errechnete nur eine Signifikanz zwischen der Gruppe  $>28<32$  SSW und den Termingeborenen ( $p=0,0391$ ).

Neben der Einteilung in Boxplots und Überprüfung auf Signifikanzen wurde ebenfalls mittels linearer Regression überprüft, ob eine Korrelation zwischen Stäbchen- und Zapfenfunktion und GG bzw. GA besteht. Eine solche signifikante Korrelation konnte zwischen Zapfenfunktion und GG ( $p=0,024$ ) bzw. GA ( $p=0,049$ ) ermittelt werden. Allerdings gilt es zu bedenken, dass die unabhängigen Variablen nur einen geringen Anteil der Varianz in Y erklären, da  $R^2$  relativ klein ist (siehe Abb. 24 und Abb. 25).



**Abb. 24 Korrelation von Stäbchen- und Zapfen-PLR zum Gestationsalter**

Die Daten aller Kinder unabhängig ihrer Gruppierung (außer t-ROP) wurden in die Berechnung der Regression aufgenommen.

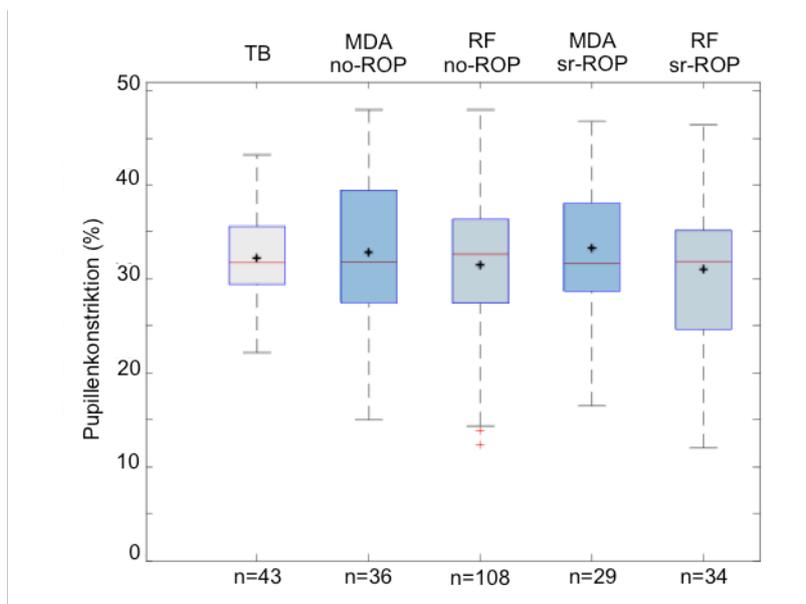


**Abb. 25 Korrelation von Stäbchen- und Zapfen-PLR zum Geburtsgewicht**

Die Daten aller Kinder unabhängig ihrer Gruppierung (außer t-ROP) wurden in die Berechnung der Regression aufgenommen.

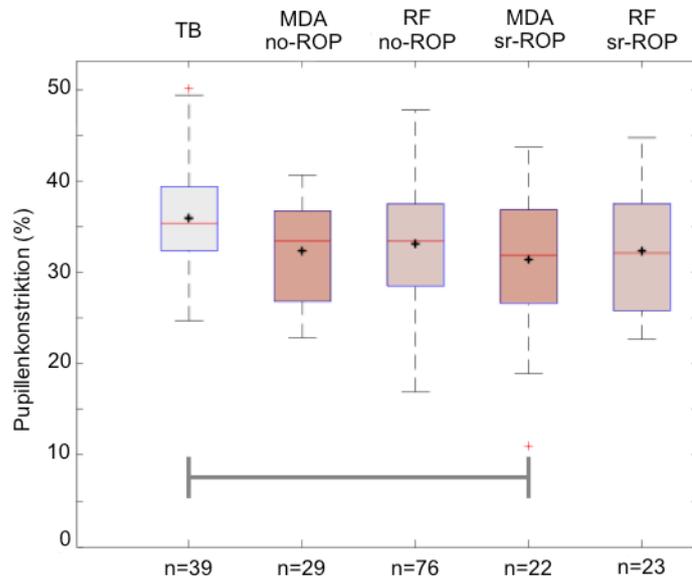
#### 4.5 Macular developmental arrest

Unabhängig von ROP Stadium, GG und GA der Studienteilnehmer wurde getestet inwieweit der OCT Befund Rückschlüsse auf die Stäbchen- und Zapfenantwort zulässt. Verglichen wurden die Kinder mit unauffälliger Foveamorphologie (*RF*) und Kinder mit einem ONL+ELM Missverhältnis im Vergleich zur inneren Netzhaut (*MDA*). Kontrollgruppe waren wieder die Termingeborenen.



**Abb. 26 Stäbchen-PLR in Abhängigkeit von ROP und MDA**

Differenzierung der Studienteilnehmer in Frühgeborene mit regelrecht entwickelter Makula (*RF-no-ROP*), Frühgeborene mit morphologischer Varianz der Makula (*MDA-no-ROP*), Frühgeborene mit remittierter ROP und regelrecht entwickelter Makula (*RF-sr-ROP*) und Frühgeborene mit remittierter ROP und morphologischer Varianz der Makula (*MDA-sr-ROP*) sowie Termgeborene (*TB*).



**Abb. 27 Zapfen-PLR in Abhängigkeit von ROP und MDA**

Differenzierung der Studienteilnehmer in Frühgeborene mit regelrecht entwickelter Makula (*RF-no-ROP*), Frühgeborene mit morphologischer Varianz der Makula (*MDA-no-ROP*), Frühgeborene mit remittierter ROP und regelrecht entwickelter Makula (*RF-sr-ROP*) und Frühgeborene mit remittierter ROP und morphologischer Varianz der Makula (*MDA-sr-ROP*) sowie Termgeborene (*TB*).

Die Daten wiesen eine weitgehende Normalverteilung und Varianzhomogenität in beiden Datensätzen auf (Brown-Forsythe Test + Shapiro-Wilk Test > 0,05). Lediglich eine Gruppe im Stäbchenprotokoll (*RF-no-ROP*:  $p=0,01$ ) wies keine Normalverteilung auf. Der Levene Test konnte bei den Stäbchen keine Varianzhomogenität ermitteln ( $p=0,041$ ). Infolge dessen wurde der Datensatz der Stäbchen mittels Kruskal Wallis Test auf Gruppensignifikanz überprüft, der Datensatz der Zapfen mittels Varianzanalyse (*Analysis of variance, ANOVA*). Die ANOVA ermittelte eine Gruppensignifikanz ( $p=0,044$ ). Als multiple Vergleichstests wurden die Bonferroni Korrektur und Tukey Kramer angewandt. Dabei ergab die Prüfung mit dem Tukey Kramer Test eine knapp signifikant reduzierte zapfenmedierte TPR der *MDA-sr-ROP* Gruppe im Vergleich zu den Termgeborenen ( $p=0,05$ ) (siehe Abb. 27). Mittels Bonferroni Korrektur, einem konservativeren Test, wurde das Signifikanzniveau nicht

erreicht. Bei der stäbchenvermittelten Antwort wurde das Signifikanzniveau unabhängig vom Post Hoc Test nicht erreicht (Abb. 26).

#### 4.6 Betrachtung der behandelten Patienten

Insgesamt wurden 11 Probanden mit behandelter ROP rekrutiert von denen wiederum 8 pupillometrisch untersucht werden konnten. Die Kinder konnten meistens nur eingeschränkt an den Untersuchungen teilnehmen und lieferten gehäuft verzerrte Messprotokolle, da einige dieser Patienten teils schwerwiegendere Erkrankungen aufwiesen (siehe Tab. 9). Aus diesem Grund wurde jeder Patient einzeln in den folgenden Tab. 8 und Tab. 9 sowie den Abb. 28 und Abb. 29 dargestellt um mögliche Korrelationen zwischen GA, GG, ROP Stadium und weiteren Erkrankungen mit den Untersuchungsergebnissen festzustellen.

**Tab. 8 Patientendaten der behandelten Kinder**

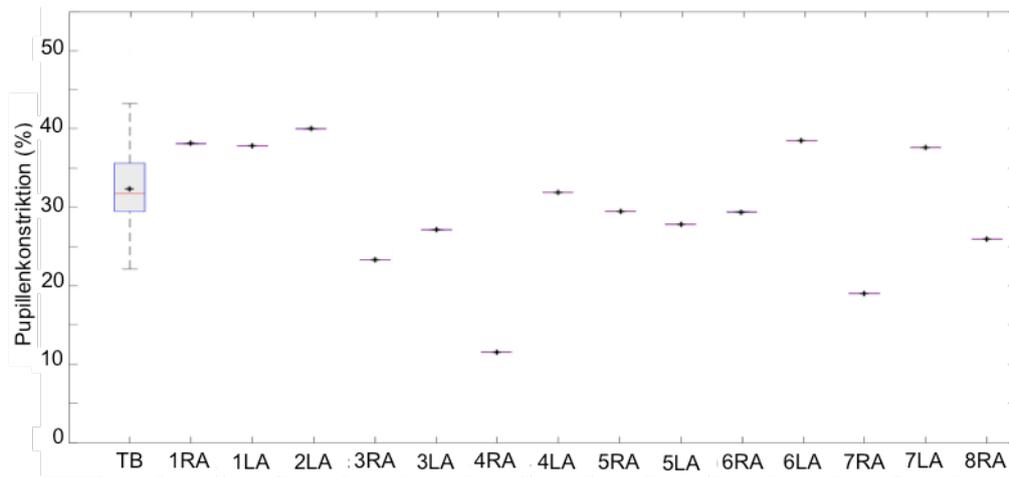
Nr	Alter	Geschlecht	GA	GG	Auge	ROP-Stadium	Zone	+Disease
1	10	m	30+0	990	R/L	3	2	
2	10	w	25+3	775	R/L	3		+
3	11	w	25+0	615		2-3	2	
4	11	w	25+0	570		3	2	+
5	10	w	28+3	910	R<L	3	2	+
6	10	w	26+0	920	R/L	3		+
7	10	m	25+3	830	R/L	2-3	2	+
8	12	w	25+6	680	R/L	3	2	+

**Tab. 9 Vorerkrankungen der behandelten Kinder**

\*Erkrankungen zusätzlich zur ROP. Alle Kinder litten bei Geburt an einem IRDS. Intrazerebrale Hämorrhagie (*ICH*), intraventrikuläre Hämorrhagie (*IVC*), Lasertherapie (*LT*), rechtes Auge (*RA*), linkes Auge (*LA*), rechts (*re*), links (*li*), Rechts/Links (*R/L*), beidseits (*bds*), Entlassung (*E*), temporal (*temp.*)

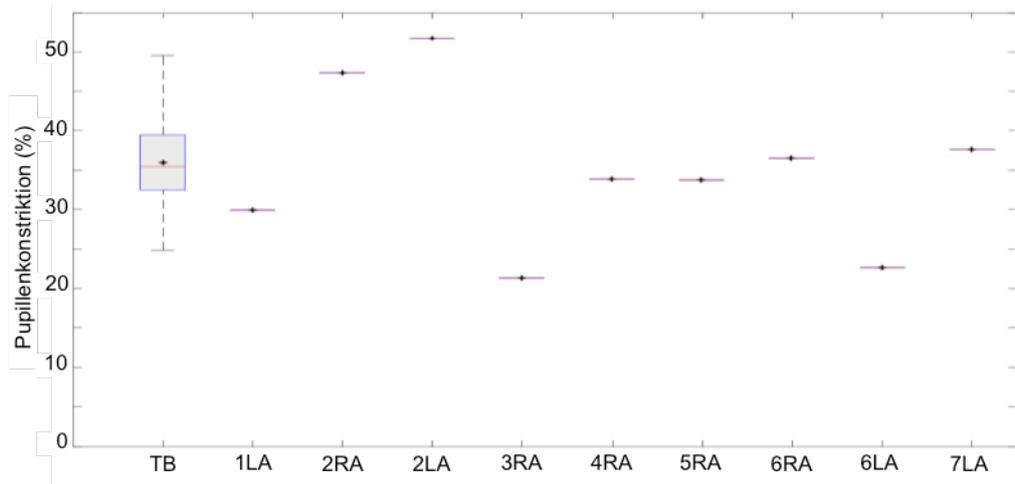
Nr.	Neurologische Erkrankungen	Ophthalmologische Erkrankungen*	Lasertherapie/ Fundus-Befunde
1	ICH, bds. II-III + beginnende Hirnatrophie	LA: Ambyopie + Esotropie Kopfzwangshaltung Idiopathischer Nystagmus	RA: Zentrale Laserherde nach LT
2	ICH I li, Bei E neurologischer Status	Leichte Linsentrübung bds	RA: Ablatio retinae nach LT, darauffolgend

	unauffällig		erneute LT, Laserherde peripher
3	IVH III, Mikrozephalie, Krampfanfälle	LA: Esotropie	LT
4	IVH III, Mikrozephalie, Krampfanfälle	LA: Esotropie	LT
5	Keine neurologischen Defizite	R/L: Strabismus deorsoadductorius, Amblyopie R>L, Astigmatismus, Anisometropie, LA: Myopie, RA: Hyperopie	LT, RA: funduskopisch flächige Narbe von 8-1 Uhr
6	Krampfanfälle, IVH II-III bds.	LA: Mikrostrabismus convergens, Amblyopie, R/L Myopie, Astigmatismus	LT, periphere Laserherde auf 2 Uhr
7	IVH II li.	R/L Konvergenzschwäche, Hyperopie, Astigmatismus	LT
8	Einmaliger tonisch klonischer Krampfanfall, schädelsonographisch extrem unreifes Gehirn	R/L: Myopie, Astigmatismus manifester Nystagmus vom Latenttyp RA: Esotropie, Z.n Amotio.	LT, Cryotherapie, Cerclage re



**Abb. 28 Stäbchenprotokoll: Einzelwerte jedes Probanden der Gruppe t-ROP**

Die Nummer steht für den jeweiligen Patienten (Tabelle s.o.) und RA bzw. LA für das rechte bzw. linke Auge. Nicht aufgeführte Daten konnten nicht erhoben werden. Der graue Boxplot repräsentiert den durch die Termingeborenen ermittelten Referenzbereich.



**Abb. 29 Zapfenprotokoll: Einzelwerte jedes Probanden der Gruppe t-ROP**

Die Nummer steht für den jeweiligen Patienten (Tabelle s.o.) und RA bzw. LA für das rechte bzw. linke Auge. Nicht aufgeführte Daten konnten nicht erhoben werden. Der graue Boxplot repräsentiert den durch die Termingeborenen ermittelten Referenzbereich.

**Tab. 10 Zusammenfassende Übersicht über die behandelten Patienten**

Stäbchen (S), Zapfen (Z). Eine Beurteilung folgt in der Diskussion.

Nr.	S/Z	Zusammenfassung
1	S: R/L Z: LA	Starke zerebrale Schäden und zentrale Laserherde → vergleichsweise niedriger Z-PLR bei gutem S-PLR
2	S: LA Z: R/L	Guter PLR (S/Z). Neurologischer Status unauffällig. Z.n. Netzhautablösung und Re-Laserkoagulation
3	S: R/L Z: RA	Relativ niedriger PLR (S/Z). Starke neurologische Defizite. In der Anamnese. 3 und 4 sind Zwillinge.
4	S: R/L Z: RA	Stäbchen: LA>RA. Keine Korrelation zwischen Ergebnissen von Proband 3 und 4. Neurologische Defizite wie Proband 3.
5	S: R/L Z: RA	Regulärer PLR (S/Z). Keine neurologischen Defizite.
6	S: R/L Z: R/L	Stäbchen: LA>RA Zapfen: RA>LA
	S: R/L Z: LA	Stäbchen: LA>RA Z-PLR links regelrecht.
8	S: RA	Extrem unreifes Gehirn in der Anamnese. Pupillometrie war nur eingeschränkt durchführbar. Lediglich S-PLR rechts messbar.

#### 4.7 Analyse der Redilatationszeit

Neben dem Stäbchen- und Zapfensystem wurde zudem die Aktivität der ipRGCs quantifiziert mit der Intention ein möglichst komplettes Bild der retinalen Reizverarbeitung zu erstellen. Ihre Potentiale können im ERG nicht erfasst werden und sind einzig mit der Pupillometrie zu detektieren [84]. Ihre verzögerte und verlängerte Feuerrate spiegelt sich in der Redilatationszeit wider, diese wurde bei 0,01cd/m<sup>2</sup> und 100cd/m<sup>2</sup> gemessen und in Abb. 30 dargestellt. Zwischen den einzelnen Gruppen konnten keine signifikanten Abweichungen sowohl bei 0,01cd/m<sup>2</sup> als auch bei 100cd/m<sup>2</sup> festgestellt werden.

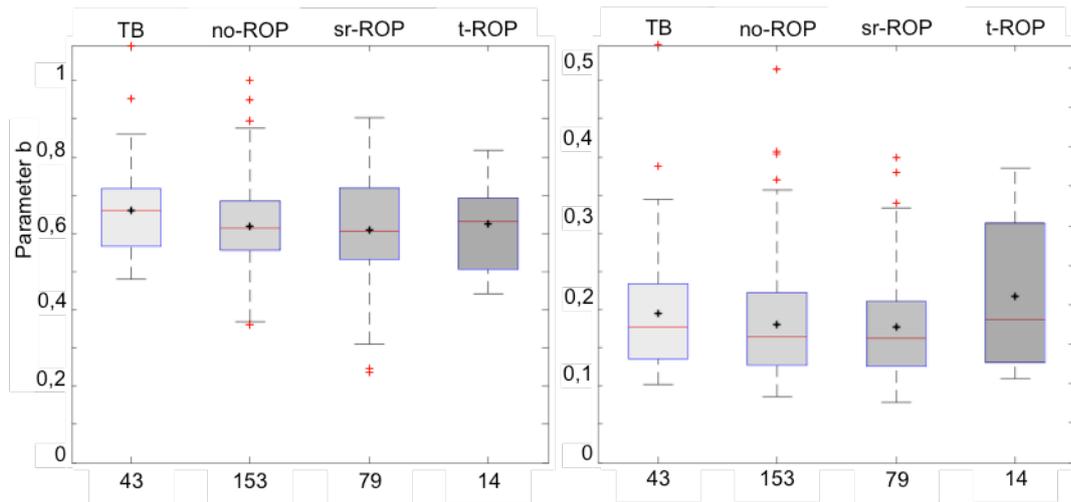
**Tab. 11 Anzahl der erhobenen Messwerte**

Gesamtheit der erhobenen Messdaten. Die prozentualen Angaben beziehen sich auf die rekrutierten Probanden pro Gruppe, die pupillometrisch untersucht werden konnten und brauchbare Daten lieferten (169 von 191). Oculus dexter (OD), Oculus sinister (OS)

	TPR OD		TPR OS		PIPR OD		PIPR OS	
Gesamt (n=169)	145	85,80%	144	85,21%	144	85,21%	144	85,21%
TB (n=25)	23	92,00%	20	80,00%	23	92,00%	20	80,00%
no-ROP (n=89)	76	85,40%	77	86,52%	76	85,40%	77	86,52%
sr-ROP (n=47)	39	82,98%	40	85,11%	38	80,85%	40	85,11%
t-ROP (n=8)	7	87,50%	7	87,50%	7	87,50%	7	87,50%

**Tab. 12 Kennwerte der Boxplots und Standardabweichung ( $\sigma$ )**

	Parameter b 0,01cd/m <sup>2</sup>				Parameter b 100cd/m <sup>2</sup>			
	TB	no-ROP	sr-ROP	t-ROP	TB	no-ROP	sr-ROP	t-ROP
Maximum	1,09	0,36	0,23	0,82	0,52	0,50	0,39	0,37
O. Whisker	0,86	0,37	0,31	0,82	0,33	0,35	0,32	0,37
O. Quartil	0,72	0,56	0,53	0,69	0,23	0,22	0,20	0,30
Median	0,66	0,61	0,61	0,63	0,17	0,16	0,16	0,18
U. Quartil	0,57	0,68	0,72	0,51	0,13	0,12	0,12	0,13
U. Whisker	0,48	0,88	0,90	0,44	0,10	0,08	0,08	0,11
Minimum	0,48	1,00	0,90	0,44	0,10	0,08	0,08	0,11
Mittelwert	0,66	0,62	0,61	0,62	0,19	0,19	0,17	0,21
$\sigma$	±0,13	±0,11	±0,14	±0,12	±0,08	±0,08	±0,07	±0,09



**Abb. 30 Redilatationszeit der einzelnen Gruppen**

Darstellung der Redilatationszeit nach retinaler Belichtung mit einer Intensität von 0,01cd/m<sup>2</sup> (links) und 100cd/m<sup>2</sup> (rechts).

## 5 Diskussion

### 5.1 ROP Stadium und MDA beeinflussen die zentrale Netzhautfunktion

In der vorliegenden Studie wurde erstmals die Photorezeptoraktivität von 144 ehemaligen Frühgeborenen im Vergleich zu 25 termingeborenen Kindern pupillometrisch quantifiziert und auf Abhängigkeitsfaktoren statistisch untersucht. Getestet wurde über Applikation chromatischer Lichtreize die Stäbchen-, Zapfen- und ipRGC-Funktion von Termingeborenen und Frühgeborenen ohne ROP und mit ROP in der Anamnese im Alter von 6 bis 13 Jahren unter Berücksichtigung von GG, GA, ROP Stadium und OCT Befund.

Hierbei ergab die Datenanalyse einen insgesamt reduzierten zapfenvermittelten PLR innerhalb der Gruppe Frühgeborener mit spontan zurückgebildeter ROP St 2, St 2-3 und St 3 (siehe Abb. 20). Bei Aufteilung der Kinder in alle ROP Stadien konnte eine statistische Signifikanz zwischen Termingeborenen und ROP St 2 Probanden errechnet werden (siehe Abb. 21). Unabhängig vom ROP Stadium ergab sich für Kinder mit MDA im Vergleich zur Kontrollgruppe eine leicht reduzierte ( $p=0,05$ ) zapfenvermittelte Pupillenreaktion.

Geburtsgewicht und vor allem das Gestationsalter beeinflussen den Daten zufolge zumindest tendenziell die Zapfenfunktion (siehe Abb. 22 und Abb. 23). Die Gruppe der Kinder mit einem GA von  $>28<32$  wies im Vergleich zu den Termingeborenen einen reduzierten Zapfen-PLR auf. Die Regressionsanalysen waren ebenfalls für beide Variablen (GA und GGA) signifikant, der Wert des  $R^2$  jedoch relativ gering (siehe Abb. 24 und Abb. 25).

Zur genaueren Evaluation der Ergebnisse wurden ebenfalls die Daten aus den elektrophysiologischen Untersuchungen der Kinder herangezogen, da es sich hierbei um eine bereits im klinischen Alltag etablierte und weit verbreitete objektive Methode zur Analyse der Netzhautfunktion handelt. Das Elektroretinogramm (*ERG*) stellt eine lichtevozierte Summenantwort neuronaler Zellen dar, hierbei werden die Potentialänderungen während der Signaltransduktion abgeleitet. Das ERG gliedert sich in verschiedene Komponenten, welche die Ebenen der retinalen Reizverarbeitung differenziert darstellen. Die negative a-Welle reflektiert die Hyperpolarisation der Photorezeptor-OS. Im Dunklen werden vornehmlich die Stäbchen, im Hellen vornehmlich die Zapfen angesprochen. Die positive b-Welle resultiert aus der Depolarisation der BZ und überlagert zum Teil die a-Welle [9].

Die Aussagekraft des ERGs misst sich anhand der Amplitudenhöhe und der Gipfelzeit, Zeitspanne zwischen Stimulusbeginn und Amplitudenmaximum. Eine Reduktion der Amplitude sowie eine verlängerte Gipfelzeit deuten auf normabweichende, eventuell degenerative Prozesse hin [9]. Im Gegensatz zum Ganzfeld-ERG (*ff-ERG*, *full-field*), welches die Summenantwort der Netzhaut repräsentiert und zur Diagnostik generalisierter Dystrophien geeignet ist, beschränkt sich das multifokale-ERG (*mf-ERG*) auf kleine Netzhautareale wie z.B. die Makula und deckt somit lokale Funktionsbeeinträchtigungen auf [9].

Photopische *ff-ERG* Untersuchungen bei Frühgeborenen mit und ohne ROP zeigten nur minimale Abweichungen im Vergleich zu Termingeborenen. Allein bei schwerer ROP wurden reduzierte Potentiale gemessen [50]. Fulton und Kollegen postulierten aufgrund ihrer Ergebnisse eine durch die vorgezogene Geburt wenig beeinträchtigte Zapfenfunktion. Tatsächlich haben Zapfen mehr Mitochondrien und eine größere aerobe ATP-Produktion [122] und scheinen dementsprechend robuster gegenüber Sauerstoffschwankungen im Vergleich zu Stäbchen [50].

Elektrophysiologische Untersuchungen der zentralen Netzhaut bei Frühgeborenen mit milder ROP deuteten jedoch auf eine subtile makuläre Dysfunktion [49]. Fulton deutete ihre Ergebnisse als Folge einer reduzierten zapfeninitiierten BZ-Aktivität [50] stützend auf die Publikation von Hood et al. die *mf-ERG* Antwort beziehe sich maßgeblich auf die BZ-Aktivität [74]. Dieser Beobachtung aus dem Jahre 2005 folgte eine Reihe an Studien zur Evaluierung der photopischen Netzhautfunktion.

Bowl und Mitarbeiter untersuchten Frühgeborene mit und ohne ROP und ermittelten im photopischen *ff-ERG* eine reguläre a-Welle und nur eine tendenziell reduzierte b-Welle in allen Gruppen. Im *mf-ERG* ergaben sich niedrigere Antworten der Kinder mit MDA im Vergleich zu Termingeborenen und Frühgeborenen mit morphologisch unauffälliger Fovea [21]. Mögliche Erklärungsansätze wären eine veränderte Zapfenmorphologie [127] bzw. eine reduzierte BZ-Dichte [58].

Akerblom et al. berichteten von einer kombinierten Stäbchen-Zapfen Dysfunktion im *ff-ERG*, wobei die Stäbchen stärker betroffen schienen als die Zapfen [3]. Altschweiger et al. unterteilten ihre Probanden in no-ROP, sr-ROP, t-ROP und termingeborene Kinder. Sie kamen zu dem Ergebnis, dass bereits Frühgeborene signifikant reduzierte *mf-ERG* Antworten aufwiesen und ihre Potentiale denen der sr-ROP Gruppe vergleichbar sind. Die *mf-ERG* Potentiale der t-ROP Gruppe waren signifikant niedriger als die der anderen Gruppen. Eine Erklärung konnte nicht gefunden werden. Der Autor geht von einem kombinierten Einfluss von Frühgeburtslichkeit, schwerer ROP und Lasertherapie aus [7]. Die vorliegenden Daten stützen Altschwagers Vermutung, die schwere des ROP Stadiums beeinflusse die retinale Funktion insoweit, da bereits Kinder mit nicht

behandlungsbedürftiger ROP einen signifikant reduzierten PLR im Zapfenprotokoll aufwiesen (siehe Abb. 20).

In der Perimetrie wurde eine signifikant reduzierte zentrale ( $0^\circ$  und  $2,8^\circ$ ) photopische, d.h. zapfenvermittelte, Lichtunterschiedsempfindlichkeit (*LUE*), bei Frühgeborenen unabhängig von ROP ermittelt [19]. Die LUE beschreibt die Differenzierung zwischen Beleuchtungsstärken bzw. den geringsten benötigten Intensitätsunterschied zwischen Lichtpunkt und Hintergrundbeleuchtung, der eine Abgrenzung beider Lichtquellen ermöglicht [18]. In einer weiteren Publikation der gleichen Arbeitsgruppe wurde auf eine Korrelation von MDA und LIS hingewiesen. Bowl und Mitarbeiter nennen eine möglicherweise reduzierte Zapfendichte in der Fovea als Erklärung. In der Studie zeigte sich jedoch keine statistische Korrelation zwischen Visus und MDA [20].

In der 22. SSW sind die Zapfen noch kurz und dick. Ihre Außensegmente wachsen von  $3\mu\text{m}$  bei Geburt auf bis zu  $40\text{-}50\mu\text{m}$  [154]. Mit zunehmendem Alter wird ihre Struktur länger und schmaler und ihre Dichte/ $\text{mm}^2$  nimmt zu. Die Sehschärfe des Heranwachsenden wird besser [59]. ROP Patienten leiden gehäuft unter einer reduzierten Sehschärfe und weiteren ophthalmologischen Defiziten [41, 152]. In OCT-Studien wurde daher versucht die Entwicklung der Netzhaut dieser Kinder zu verfolgen, um mögliche Erklärungen für ihre Erkrankungen zu finden.

Mehrere Studien beschrieben verdickte Netzhautschichten und eine abgeflachte Fovea im OCT-Befund bei einigen Frühgeborenen [2, 146, 152]. Die Befunde deuten auf eine gestörte makuläre Entwicklung als Folge einer unvollständigen zentrifugalen Zellmigration der den Photorezeptoren nachgeschalteten Zellen (*post-receptor structures*) [59]. Ramamirtham et al. berichteten über eine veränderte Zapfenstruktur bei t-ROP Patienten [127]. Villegas et al. wiesen allerdings darauf hin, dass eine Ausreifung der Photorezeptoren trotz flacher Fovea möglich ist [146]. Bowl et al. beschrieben in ihrer Publikation 2016 eine starke Abhängigkeit von Foveadicke, ONL+ELM und GCL zum GA, jedoch einen geringeren Zusammenhang zum GG [20]. Die Arbeitsgruppe um Menghini untersuchte den Zusammenhang zwischen ONL und Zapfendichte. Sie konnten eine positive Korrelation der beiden Größen zueinander nachweisen, v.a. zwischen  $0,5^\circ$  und  $1,5^\circ$  Exzentrizität, jedoch seien die interindividuelle Variabilität der Zapfendichte und ONL Dicke zu hoch, sodass die ONL Dicke keine Rückschlüsse auf die tatsächliche Zapfendichte schließen lässt [110].

ROP beeinflusst das retinale Gefäßsystem und kann zu Netzhautischämien führen [4]. OCT-Studien bei Frühgeborenen mit ROP zeigten, dass einige der Kinder in der Neonatalperiode Makulazysten, -ödeme und subretinale Flüssigkeit aufwiesen [4].

Diese Pathologien begründen sich vermutlich aufgrund erhöhter VEGF Spiegel [37] [147]. Selbst bei vollständiger Regression dieser Erkrankungen sind bleibende funktionelle Defizite nicht auszuschließen [4].

Die Zusammenschau der Befunde verdeutlicht, dass eine verfrühte Geburt des Kindes auch ohne Ausbildung einer ROP einen Einfluss auf die makuläre Entwicklung und die Netzhautfunktion haben kann. Eine ROP kann jedoch einen zusätzlichen negativen Effekt auf das Sehsystem der Kinder haben [3, 19, 20]. Diese Hypothese wird durch die pupillometrisch erhobenen Daten gestützt, wobei in der vorliegenden Studie eher das ROP Stadium als die makuläre Reifungsstörung zu einem reduzierten PLR führte.

**Tab. 13 Auswahl wichtiger Studienergebnisse**

Jahr (*J*), Monat (*M*), Wochen (*W*), Minuten (*min.*), Dunkeladaptation (*DA*), Stimulus (*S*), Sekunden (*s*)

Studie	Probanden	Methodik	Ergebnisse
Fulton et al. 2005 [49]	11 Probanden mit milder ROP (11-23 J.)+ 9 Erwachsene (23-51 J.)	Mf-ERG Stimulus: 100cd/m <sup>2</sup>	Im Vergleich zur Kontrollgruppe wiesen die ROP Patienten abgeflachte Amplituden auf. Mit zunehmender Exzentrizität nahm dieser Unterschied ab.
Fulton et al. 2008 [50]	42 Frühgeborene mit (n=34) und ohne ROP (8) Alter: 10 W.- 3 J.	Photopisches ff-ERG, 3-5 min Adaptation an Helligkeit. S: 610-630nm	Nur minimal abgeschwächtes ERG bei Kindern mit milder ROP und etwas schwächere Potentiale bei Kindern mit schwerer ROP.
Villegas et al. 2014	44 Kinder mit ROP, 2-18 J.	Retrospektive Studie	Vermehrt flache Fovea und Makulaödem bei ROP Patienten
Akerblom et al. 2014 [3]	35 ehemals Frühgeborene (GA<32 SSW)	ff-ERG unterschiedlicher Stimuli	Signifikant reduzierte kombinierte Stäbchen-Zapfen Antwort.
Bowl et al. 2016 [19]	100 no-ROP, 50 sr-ROP, 30 TB 6-13 J.	Datenanalyse Perimetrie, Visusprüfung	Geringes GA, GG und ROP korrelieren mit reduzierter zentraler Netzhautfunktion
Bowl et al. 2016 [20]	100 no-ROP, 50 sr-ROP, 30 TB 6-13 J.	SD-OCT	Reduzierte photopische LUE (0° & 2,8°) bei Kindern mit MDA
Altschwager	40 Frühgeborene	mf-ERG	Frühgeburtslichkeit reduziert die

et al. 2017 [7]	(mittleres Alter 15J. (keine/milde /schwere ROP)	Frequenz: 0,3-100Hz S: 100cd/m <sup>2</sup>	zentrale Zapfenantwort und wird zusätzlich vom Schweregrad der ROP beeinflusst.
Bowl et al. 2017 [21]	45 sr-ROP 15 no-ROP 10 Termin-geborene	ff-ERG: S: 0,01, 3, 10cd/m <sup>2</sup> mf-ERG: Frame-Rate 75Hz	Reduzierte skotopische ff-ERG Antworten und P1 Komponente im mf-ERG deuten auf Beteiligung von BZ bei MDA hin

## 5.2 Stäbchenfunktion bei Frühgeborenen

Den Studienergebnissen zufolge scheint die Gesamtheit der Frühgeborenen mit und ohne ROP eine reguläre Stäbchenfunktion im Vergleich zu Termingeborenen aufzuweisen. Ein Zusammenhang zwischen Photorezeptoraktivität der Stäbchen und GG bzw. GA, ROP Stadium oder Netzhautschichtdicken konnte ebenfalls nicht aufgezeichnet werden.

Die Publikation von Bowl und Kollegen 2017 bezieht sich auf die gleiche Kohorte wie in der vorliegenden Studie, es wurden jedoch nur 70 Kinder elektrophysiologisch untersucht (TB=10, no-ROP=45, sr-ROP=15 [21]). In der skotopischen a- und b-Wellen-Analyse konnten zwischen den einzelnen Gruppen TB, no-ROP und sr-ROP keine signifikanten Unterschiede gemessen werden und decken sich daher mit den Ergebnissen der Pupillometrie. Lediglich bei Kindern mit MDA wurden im skotopischen ERG bei Lichtblitzen einer Stärke von 10cd/m<sup>2</sup> signifikant reduzierte Potentiale der b-Welle gemessen. Hierbei handelt es sich jedoch um eine Mischantwort aus Stäbchen und Zapfen sowie deren dazugehörige BZ. Pupillometrisch konnte unter skotopischen Bedingungen keine Korrelation zwischen Stäbchenantwort und MDA nachgewiesen werden. Eine morphologische Reifungsstörung der kindlichen Netzhaut scheint demnach mit einer attenuierten BZ-Aktivität einherzugehen. Da die BZ pupillometrisch nicht erfasst werden, sind in der vorliegenden Arbeit keine relevanten Abweichungen in der Stäbchenfunktion erkennbar.

Die Arbeitsgruppe um A. B. Fulton zeichnete bei Kindern mit zunehmend schwerer ausgeprägter ROP schwächere Potentiale im skotopischen ERG auf, Frühgeborene ohne ROP hingegen wiesen ein unauffälliges ERG auf [48]. Als Ursache für die ERG Veränderungen vermutete die Autorin eine fortwährende abnorme Synthese des Zytoskeletts und der OS [48]. Harris et al. zufolge scheint sich die reduzierte Netzhautantwort jedoch im Verlauf des Heranwachsens bei Frühgeborenen mit milder ROP zu bessern. Es wird eine Reorganisation der den Photorezeptoren nachgeschalteten Neurone angenommen. Harris et al. untersuchten 35 Säuglinge im

Alter von 7,4 bis 36,3 Wochen (Median 10,3) und 50 Kinder im Alter von 3,1 bis 23 Jahren (Median 10,5) [61].

In der Pupillometrie konnten weder bei Frühgeborenen ohne ROP noch mit ROP Defizite in der skotopischen Pupillenreaktion beobachtet werden. Zu beachten ist jedoch, dass der PLR auch die intrinsische Reaktion integriert [56], die im ERG nicht messbar ist. Das ERG hingegen testet in der b-Welle die BZ Funktion, welche in der Pupillometrie nicht erfasst werden kann. Zudem sind die Teilnehmer der vorliegenden Studie im Gegensatz zu Fultons Studie (13 von 25 Kinder waren ein Jahr oder jünger) sechs Jahre oder älter und da zumindest bei milder ROP mit zunehmendem Alter die retinale Funktion teil-regeneriert kann kein direkter Vergleich gezogen werden [61].

### 5.3 Zerfallsfunktion und ipRGC-Aktivität

Ziel der mathematischen Annäherung war das gesamte Intervall nach Stimulus Offset zu beschreiben. Über die mathematische Funktion wird eine negativ logarithmische Kurve errechnet, welche sich den Rohdaten annähert. Die Geschwindigkeit ihres Verlaufs wird über den Parameter  $b$  quantifiziert. Der Algorithmus errechnet einen Parameter zur Bestimmung der Redilatationsgeschwindigkeit direkt aus den Rohdaten. In der aktuellen Studie wurde lediglich die PIPR beschrieben. In folgenden Arbeiten könnte ebenfalls die TPR errechnet werden, sodass die Glättung der Rohdaten oder Errechnung der Baseline mittels diverser Formeln wegfallen würde. Die mathematische Funktion entfernt durch Zwinkern oder unterbrochene Detektion der Pupille entstandene Artefakte. Die Qualität der Annäherung kann über die Summe der kleinsten Quadrate bzw. den Variationskoeffizient ermittelt werden, sodass es nicht mehr notwendig ist nach visuell subjektiven Kriterien bei der Akzeptanz oder Verwerfung des Messprotokolls vorzugehen. Zusätzlich würden beliebige Parameter wie der 6s-PIPR, die Fläche unterhalb der Baseline oder der durchschnittliche Pupillendurchmesser innerhalb eines bestimmten Intervalls entfallen. Die Reaktion der ipRGCs auf Lichtreize beträgt mehrere hundert Millisekunden bis Sekunden [14] und korreliert reziprok mit der Stimulusintensität [56], sodass die 6s-PIPR vor allem bei Reizen geringerer Leuchtdichte in Einzelfällen kein hinreichender Marker zur ipRGC-Aktivität darstellen könnte. Die PIPR 10s bis 30s nach Stimulus Offset wäre daher ein validerer Parameter zur Charakterisierung der melanopsininduzierten Pupillenantwort nach vorangegangener Pupillenkonstriktion [92].

Mittels beschriebener Methodik wurde die PIPR nach Reizapplikation auf die kindliche Retina mit zwei Beleuchtungsintensitäten ( $0,01\text{cd/m}^2$  und  $100\text{cd/m}^2$ ) errechnet. Die

Bestrahlung mit Blaulicht einer Leuchtdichte von  $0,01\text{cd/m}^2$  führt eher zu einer stäbchengewichteten Lichtreaktion [118], sodass wie in den vorliegenden Ergebnissen keine signifikanten Abweichungen der Redilatationsphase zu erwarten waren (Abb. 30). Stimuli hoher Intensität führten zu einer verlängerten Pupillenkonstriktion in der Dunkelphase (siehe exemplarisch Abb. 10). Zwischen den einzelnen Gruppen konnten hier ebenfalls keine signifikanten Abweichungen ermittelt werden. Die ipRGC-vermittelte Lichtreaktion bei Frühgeborenen mit und ohne ROP war im gleichen Maße ausgeprägt wie bei termingeborenen Kindern. In der optischen Kohärenztomographie der Kinder zeigten sich bei Frühgeborenen sowohl mit einer ROP in der Anamnese als auch ohne signifikant dickere GCL+IPL bei  $0^\circ$  im Vergleich zur Kontrollgruppe. Bei  $2,8^\circ$  war dieser Unterschied nur noch bei Termingeborenen und der sr-ROP Gruppe erkennbar und bei  $8^\circ$  vollständig aufgelöst [20]. Eine ausgedünnte GCL Schicht, welche eine attenuierte intrinsische Lichtreaktion vermuten lassen könnte, war nicht nachweisbar und korreliert mit den pupillometrisch erhobenen Daten dieser Arbeit. Die Autoren bestätigten zudem, dass die dickere GCL zu keinen funktionellen Defiziten führte, sondern die relativ zu dünnen ONL+ELM Schichten im Vergleich zu den inneren Netzhautschichten (MDA) [20]. Weitere Studien sind notwendig zur Erforschung der Auswirkungen neuroophthalmologischer Erkrankungen auf die PIRP und daraus folgend auf die ipRGCs.

#### 5.4 Diagnostisches Potential der chromatischen Pupillometrie

Kawasaki und Kardon untersuchten einen Patienten mit x-chromosomal vererbter Retinitis pigmentosa (RP) auf nur einem Auge mittels chromatischer Pupillometrie. In beiden Augen wurden jeweils rote und blaue Lichtreize mit einer Dauer von jeweils 10 Sekunden und steigender Leuchtdichte ( $1, 10, 100\text{cd/m}^2$ ) appliziert. Im gesunden Auge führten blaue Stimuli zu einer größeren Pupillenkonstriktion als rote Stimuli gleicher Helligkeit und Dauer. Im erkrankten Auge war bei roten Stimuli und blauen Stimuli geringer Helligkeit kein messbarer PLR erkennbar. Nur Blaulicht mit einer Leuchtdichte von  $100\text{cd/m}^2$  konnte einen messbaren PLR erzeugen. Die Pupillenkonstriktion auf Blaulicht hoher Intensität wurde auf die ipRGCs zurückgeführt [84]. In einer weiteren Studie zur RP verglichen Kardon et al. die Ergebnisse der chromatischen Pupillometrie mit denen des Elektroretinogramms. Ein Großteil der Probanden zeigte eine reduzierte Pupillenantwort auf blaue ( $467 \pm 17\text{nm}$ ;  $1\text{cd/m}^2$ ) und rote Stimuli ( $640 \pm 10\text{nm}$ ;  $100\text{cd/m}^2$ ). RP-Patienten mit einem unauffälligen ERG zeigten einen suffizienten PLR und RP-Patienten mit einem nicht erfassbaren Elektroretinogramm (ERG) wiesen einen unzureichenden PLR auf. Bemerkenswert war, dass die Studie mehrere

Patienten mit einem nicht erfassbaren ERG, aber nur einen Patienten mit einem nicht messbaren PLR verzeichnete [81]. Beide Studien sind ein gutes Beispiel für die Ergänzung von ERG und Pupillometrie in der klinischen Diagnostik.

Das Glaukom definiert eine Anzahl ätiologisch unterschiedlicher Krankheitsbilder, die mit einer Schädigung der Papille und einem progredienten Verlust der Sehnervenfasern einhergehen. Als wichtigster Risikofaktor wird ein zu hoher intraokulärer Druck angesehen. Langfristig kommt es zu charakteristischen Gesichtsfelddefekten und zur Sehverschlechterung [53] [9]. In einer 2014 veröffentlichten Studie wurden Glaukompatienten entsprechend des Schweregrades ihrer Erkrankung in fünf Stadien eingeteilt und pupillometrisch mit weißem Licht untersucht. Die Ergebnisse zeigten, dass die Kontraktionsamplitude mit zunehmender Progredienz der Erkrankung abnimmt [109]. In einer weiteren Studie wurden rote und blaue Reize auf die Netzhaut appliziert. Es bestätigte sich eine reduzierte Pupillenantwort bei Rot- und Blaulicht und eine verringerte PIPR unter Blaulicht. Die Datenlage indiziert sowohl eine gestörte synaptische Reizweiterleitung der GZ als auch eine beeinträchtigte intrinsische Aktivität der ipRGCs [115].

Die anteriore ischämische Optikusneuropathie (*AION*) ist meist vaskulärer Genese durch Verschluss einer posterioren Ziliararterie bedingt, in seltenen Fällen entzündlicher Genese bei Riesenzellarteritis [53]. Tsika et al. [143] wiesen eine reduzierte photopische und skotopische Pupillenantwort sowie eine reduzierte PIPR bei Patienten mit AION nach. Als Ursache wurde ein Verlust an Ganglionzellen und die damit einhergehende axonale Ausdünnung als Folge der Ischämie diskutiert. Zu ähnlichen Ergebnissen kam die Arbeitsgruppe um J. C. Park bei Patienten mit intrakranieller Hypertension und Papillenödem bzw. ehemals beschriebenem Papillenödem. Sie wiesen eine signifikant reduzierte PIPR und Stäbchenaktivität in der chromatischen Pupillometrie nach sowie eine tendenziell attenuierte Zapfenfunktion [119].

Die Studie von Bowl et al. 2019 untersuchte, inwieweit die Morphologie der Makula ehemals Frühgeborener Rückschlüsse auf die zentrale Photorezeptoraktivität schließen lässt [22]. Hierzu wurden die Daten der chromatischen Pupillometrie (aus der vorliegenden Studie), der chromatischen funduskontrollierten Perimetrie und der SD-OCT Untersuchung herangezogen. Analysiert wurden die Daten von 59 Frühgeborenen ohne ROP, 34 Frühgeborenen mit spontan zurückgebildeter ROP und 14 Termingeborenen. Untersuchungsablauf wie Datenerhebung mittels chromatischer

Pupillometrie entsprachen der in dieser Arbeit beschriebenen Methodik [22]. Die Methodik der chromatischen funduskontrollierten Perimetrie wurde bereits veröffentlicht [18]. Unter skotopischen und photopischen Bedingungen wurden jeweils 27 rote und blaue Lichtblitze in einem Gesichtsfeld von bis zu 8° appliziert während die Probanden ein zentrales Fadenkreuz anvisierten. Unter skotopischen Bedingungen und Applikation blauer Stimuli konnten keine Differenzen zwischen TB, no-ROP und sr-ROP gemessen werden. Auch durch Umverteilung der Gruppen in MDA und RF konnte keine Signifikanz errechnet werden. Bowl et al. wiesen bei Kindern mit MDA eine signifikant reduzierte Pupillenantwort und zentrale LIS unter photopischen Bedingungen bei Applikation roter Stimuli nach [22]. Die Ergebnisse der Pupillometrie, einer objektiven Messmethode, und die Ergebnisse der Perimetrie, einer subjektiven Messmethode, welche bereits im klinischen Alltag etabliert ist und bei der eine gute Compliance notwendig ist, zeigten beide bei Kindern mit makulärer Reifungsstörung eine reduzierte Sensitivität im Zapfenprotokoll. Den Daten zufolge scheint die abweichende Morphologie der zentralen Netzhaut Einfluss auf das Zapfensystem zu haben. Die Arbeitsgruppe vermutet eine fehlende bzw. unvollständige zentrifugale Migration der inneren Netzhautschichten sowie eine gestörte zentripetale Migration der Zapfen bei Frühgeborenen [57, 145, 146].

**Tab. 14 Ausgewählte Publikationen zur diagnostischen Wertigkeit der Pupillometrie**

Leuchtdichte (*LD*), transient pupil response (*TPR*), roter Stimulus (*RS*), blauer Stimulus (*BS*), Stimulusdauer (*SD*), Retinitis Pigmentosa (*RP*), anteriore ischämische Optikusneuropathie (*AION*), nicht proliferative diabetische Retinopathie (*NPDR*), chromatische Pupillometrie (*CP*), Zwei Farben funduskontrollierte Perimetrie (*2C-FCP*)

Studie	Probanden	Methodik	Ergebnisse
Kawasaki & Kardon 2007 [84]	Patient mit einseitiger RP	RS + BS, SD: 10s LD: 1,10,100cd/m <sup>2</sup>	PLR nur bei Blaulicht mit 100cd/m <sup>2</sup> auslösbar, ERG Potentiale nicht messbar
Kardon et al 2011 [81]	32 RP Patienten	RS + BS SD: 13s LD: 1, 10, 100cd/m <sup>2</sup>	Reduzierter PLR bei RS und BS. Kein PLR bzw. keine ERG Potentiale auslösbar bei einem bzw. 13 Patienten
Nissen et al. 2014 [115]	11 Glaukompatienten	RS + BS LD: 300cd/m <sup>2</sup> SD: 20s	Reduzierter PLR auf Blaulicht im erkrankten Auge indiziert eine ipRGCs Dysfunktion bei Glaukom.
Martucci et al.	44 Glaukompatienten	Weißes Licht LD: 100cd/m <sup>2</sup>	Abgeschwächter PLR bei Glaukompatienten. Keine

2014 [109]	diverser Schwere- grade	SD: 0,2s	Differenzierung möglich zwischen ipRGC Dysfunktion oder genereller Ganglienzellschädigung.
Tsika et al. 2015 [143]	18 Patienten mit AION 10 unilateral 8 bilateral	Stäbchen: BS, -4 bis $-1\log \text{ cd/m}^2$ Zapfen: RS, 1 bis $2,5\log \text{ cd/m}^2$ ipRGCs: RS + BS 1 bis $2,5\log \text{ cd/m}^2$ SD je 1s	Reduzierter photopischer und skotopischer PLR sowie reduzierte PIPR. Daraus folgern die Autoren ein funktionelles Defizit der ipRGCs.
Park et al. 2016 [119]	13 Patienten mit idiopath. intra- kranieller Hypertonie	Stäbchen: BS, $0,001\text{cd/m}^2$ ipRGCs: BS, 450 $\text{cd/m}^2$ , Zapfen: RS, $10\text{cd/m}^2$ , SD je 1s	Signifikant reduzierte Melanopsin- ( $p=0,001$ ) und Stäbchenantwort ( $p=0,04$ ). Abgeschwächte Zapfenfunktion ( $p=0,08$ ) im Vergleich zur Kontrollgruppe.
Bowl et al. 2019 [22]	No-ROP: 59 Sr-ROP: 34 TB: 14	Korrelation OCT, 2C –FCP und CP: Stäbchen: BS, 0,01 $\text{cd/m}^2$ , Zapfen: RS, $10\text{cd/m}^2$ , SD je 1s	Kinder mit MDA zeigen im Vergleich zu Kindern mit RF eine signifikant reduzierte zapfenvermittelte Pupillenantwort und zentral reduzierte LIS

## 6 Zusammenfassung

Die Entwicklung der Netzhaut beginnt im 1. Monat der Schwangerschaft und persistiert bis zu einigen Jahren nach der Geburt. Eine verfrühte Entbindung stört diesen Reifungsprozess und kann zu postpartalen retinalen Schäden und einem erhöhten Risiko für Ametropien und Amblyopien im Kindesalter führen. Besonders Frühgeborene vor der 32. Gestationswoche sind von einer Frühgeborenenretinopathie (ROP) bedroht und bedürfen regelmäßiger ophthalmologischer Kontrollen und einer Therapie bei Progredienz der Erkrankung. Die Auswirkungen von Frühgeburt und ROP auf die Netzhaut sind bisher noch nicht vollständig geklärt und werden bisweilen in zahlreichen Studien erforscht. Ziel der vorliegenden Arbeit war es die kindliche Netzhaut durch Applikation rezeptorspezifischer Lichtstimuli und Messung ihrer Aktivität über den Pupillenlichtreflex näher zu beschreiben (Pupillometrie).

Die in dieser Studie durchgeführte Pupillometrie ist Teil einer prospektiven Langzeitnachverfolgungsstudie ehemals frühgeborener Kinder, die nach ihrer Geburt im Rahmen einer multizentrischen Studie in den Jahren 2001-2007 mittels digitaler Weitwinkelkamera (RetCam) untersucht wurden. Der Status der Netzhaut bezüglich akuter ROP sowie Geburtsgewicht, Gestationsalter und Komorbiditäten der Kinder wurde in einer digitalen Datenbank festgehalten. Diese diente als Grundlage der aktuellen Studie, welche 2011 initiiert wurde. Hierfür wurden 191 Kinder im Alter von 6 bis 13 Jahre rekrutiert und in vier Gruppen eingeteilt: Gesunde Frühgeborene ohne ROP, Frühgeborene mit spontan zurückgebildeter ROP, Frühgeborene mit behandlungsbedürftiger ROP und termingeborene Kinder.

Durch Reizung der Netzhaut mittels kurzweiliger Strahlung geringer Leuchtdichte bei dunkler Umgebung wurde vornehmlich das Stäbchensystem angesprochen, durch Applikation langweiliger Strahlung hoher Leuchtdichte bei Raumhelligkeit vornehmlich das Zapfensystem. Die Auswertung der Daten ergab eine signifikant geminderte Aktivität der Zapfen bei Frühgeborenen mit spontan zurückgebildeter ROP in der Anamnese. Eine makuläre Reifungsstörung im Rahmen der Frühgeburt scheint ebenfalls die Photorezeptoren längerfristig negativ zu beeinflussen. Zahlreiche Studien unterstützen unsere Ergebnisse.

Die chromatische Pupillometrie ermöglicht als schnelles und nicht invasives Verfahren ohne Weittropfen des Patientenauges die isolierte Messung der Aktivität von Stäbchen, und Zapfen über den Pupillenlichtreflex. Hierbei könnten in Zukunft nach Etablierung von Standards das Ausmaß retinaler Erkrankungen und deren Therapieverfahren objektiviert werden.

## 7 Summary

Retinal development begins 4 weeks post conception and lasts until early childhood. Preterm birth disrupts ocular development and may cause postpartal retinal dysfunction, ametropia and amblyopia. Especially preterm infants born before the 32nd week of gestation are at risk of developing retinopathy of prematurity (ROP) and thus need frequent ophthalmological eye examinations and, in cases where ROP persists, further treatment. The effect of ROP on the human retina is still not completely understood and is being evaluated in several clinical trials. We aimed to assess retinal function in young children who were born premature to blue and red light stimuli in order to measure rod and cone mediated pupillary responses (pupillometry).

Our pupillometric examinations are part of a long-term follow up study of former preterm children that had previously been screened for ROP employing digital wide-field retinal imaging (RetCam) between 2001 and 2007 and were part of a multicenter study. Status of acute ROP, birth weight, gestational age and comorbidities were compiled in a database used for our study launched in 2011. We examined 191 children between the age of 6 to 13 years and categorised them into four groups: healthy preterms without ROP, preterms with spontaneously regressed ROP, preterms with severe laser treated ROP and term born children.

We applied short wavelength low intensity flash light in the dark to assess rod function and long wavelength high intensity flash light at day light to assess cone function.

Our data suggest a significantly attenuated cone driven light response in former preterms with spontaneously regressed ROP. In addition, macular developmental arrest in children with and without ROP was associated with decreased cone function in comparison to term borns. Our findings are supported by several other studies.

Chromatic pupillometry provides an easy and non-invasive way to examine the eyes without dilating patients' pupils. Different light conditions and stimuli enable the examiner to assess rod and cone mediated retinal activity through measurement of the pupillary light reflex. Further research is needed to standardize chromatic pupillometry for clinical use and could contribute to assess the extent of retinal diseases and the effect of treatments.

## 8 Abbildungsverzeichnis

Abb. 1 Schematische Darstellung der ROP-Zonen.....	6
Abb. 2 Netzhautschichten .....	9
Abb. 3 Topographische Verteilung der Photorezeptoren .....	10
Abb. 4 Einteilung der Kinder nach ONL+ELM.....	11
Abb. 5 Absorptionsmaxima der Photorezeptoren .....	12
Abb. 6 Pupillenlichtreflex.....	16
Abb. 7 Schematische Darstellung der Pupillendetektion .....	23
Abb. 8 Pupillometer und Ganzfeld-Stimulator .....	23
Abb. 9 Schematische Darstellung der Messparameter.....	25
Abb. 10 Stäbchenprotokoll .....	27
Abb. 11 Zapfenprotokoll .....	27
Abb. 12 Darstellung des DAS mit Vergrößerung der Menüleiste .....	29
Abb. 13 Fenster zum Einlesen der Rohdaten in das DAS .....	30
Abb. 14 Screenshot DAS: Messprotokoll .....	30
Abb. 15 Screenshot DAS Boxplot mit TPR .....	31
Abb. 16 Grafische Darstellung der Parameter .....	33
Abb. 17 Ermittlung des b-Faktors.....	34
Abb. 18 Boxplot mit Kennwerten.....	35
Abb. 19 Relative stäbchen- (blau) und zapfengewichtete (rot) Pupillenantwort.....	38
Abb. 20 Relative stäbchen- (blau) und zapfengewichtete (rot) Pupillenantwort in Bezug auf das ROP Stadium.....	40
Abb. 21 Zapfenprotokoll: Weitere Differenzierung in alle ROP Stadien.....	40
Abb. 22 Stäbchen- und Zapfen-PLR in Korrelation zum Gestationsalter.....	41
Abb. 23 Stäbchen- und Zapfen-PLR in Korrelation zum Geburtsgewicht.....	41
Abb. 24 Korrelation von Stäbchen- und Zapfen-PLR zum Gestationsalter.....	42
Abb. 25 Korrelation von Stäbchen- und Zapfen-PLR zum Geburtsgewicht.....	43
Abb. 26 Stäbchen-PLR in Abhängigkeit von ROP und MDA .....	43
Abb. 27 Zapfen-PLR in Abhängigkeit von ROP und MDA .....	44
Abb. 28 Stäbchenprotokoll: Einzelwerte jedes Probanden der Gruppe t-ROP .....	46
Abb. 29 Zapfenprotokoll: Einzelwerte jedes Probanden der Gruppe t-ROP .....	47
Abb. 30 Redilatationszeit der einzelnen Gruppen.....	49

## 9 Tabellenverzeichnis

Tab. 1 Häufige Komplikationen frühgeborener Kinder .....	2
Tab. 2 Stadien und Zoneneinteilung gemäß internationaler Klassifikation .....	5
Tab. 3 Empfehlungen der ETROP Studie zur Behandlung der ROP [54] .....	7
Tab. 4 Tabellarische Darstellung der probandenbezogenen Daten.....	22
Tab. 5 Tabellarische Darstellung des Stäbchen- und Zapfenprotokolls.....	27
Tab. 6 Anzahl der erhobenen Messdaten .....	37
Tab. 7 Kennwerte der Boxplots und Standardabweichung ( $\sigma$ ) .....	38
Tab. 8 Patientendaten der behandelten Kinder .....	45
Tab. 9 Vorerkrankungen der behandelten Kinder .....	45
Tab. 10 Zusammenfassende Übersicht über die behandelten Patienten .....	47
Tab. 11 Anzahl der erhobenen Messwerte .....	48
Tab. 12 Kennwerte der Boxplots und Standardabweichung ( $\sigma$ ) .....	48
Tab. 13 Auswahl wichtiger Studienergebnisse.....	53
Tab. 14 Ausgewählte Publikationen zur diagnostischen Wertigkeit der Pupillometrie.	58

## 10 Literaturverzeichnis

1. Adhikari P, Zele AJ, and Feigl B. The Post-Illumination Pupil Response (PIPR). *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2015. 56(6): p. 3838-49.
2. Akerblom H, Larsson E, Eriksson U and Holmstrom G. Central macular thickness is correlated with gestational age at birth in prematurely born children. *Br J Ophthalmol*, 2011. 95(6): p. 799-803.
3. Akerblom H, Andreasson S, Larsson E and Holmstrom G. Photoreceptor Function in School-Aged Children is Affected by Preterm Birth. *Transl Vis Sci Technol*, 2014. 3(6): p. 7.
4. Akerblom H, Andreasson S and Holmstrom G. Macular function in preterm children at school age. *Doc Ophthalmol*, 2016. 133(3): p. 151-157.
5. Ali AA, Gomaa N, Awadein AR, Al-Hayouti HH and Hegazy, A. Retrospective cohort study shows that the risks for retinopathy of prematurity included birth age and weight, medical conditions and treatment. *Acta Paediatr*, 2017.
6. Alizadeh Y, Zarkesh M, Moghadam RS, Esfandiarpour, B Behboudi H, Karambin MM and Heidarzade A. Incidence and Risk Factors for Retinopathy of Prematurity in North of Iran. *Journal of Ophthalmic & Vision Research*, 2015. 10(4): p. 424-428.
7. Altschwager P, Moskowitz A, Fulton AB and Hansen RM. Multifocal ERG Responses in Subjects With a History of Preterm Birth. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2017. 58(5): p. 2603-2608.
8. AMTech Pupilknowlogy GmbH. Pupillograph BINO-I Benutzerhandbuch Version 1.1. 2010.
9. Augustin, A.J., *Augenheilkunde*. 3. ed. 2007: Springer: p. 309, 402, 1039-1053, 1091, 1124-1125, 1178, 1201-1202.

## LITERATURVERZEICHNIS

10. Austeng D, Kallen KB, Ewald UW, Jakobsson PG and Holmstrom GE. Incidence of retinopathy of prematurity in infants born before 27 weeks' gestation in Sweden. *Arch Ophthalmol*, 2009. 127(10): p. 1315-9.
11. Bailes HJ and Lucas RJ. Melanopsin and inner retinal photoreception. *Cell Mol Life Sci*, 2010. 67(1): p. 99-111.
12. Bear MF, Connors BW, Paradiso MA, Held A, Hornung C, Niehaus-Osterloh M, . . . Seidler, L. *Neurowissenschaften: Ein grundlegendes Lehrbuch für Biologie, Medizin und Psychologie*. 3. ed. 2008: Spektrum Akademischer Verlag: p. 324-331, 350-375.
13. Bergamin O and Kardon RH, Latency of the pupil light reflex: sample rate, stimulus intensity, and variation in normal subjects. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2003. 44(4): p. 1546-54.
14. Berson DM, Dunn FA and Takao M. Phototransduction by retinal ganglion cells that set the circadian clock. *Science*, 2002. 295(5557): p. 1070-3.
15. Bitsios P, Prettyman R and Szabadi E. Changes in autonomic function with age: a study of pupillary kinetics in healthy young and old people. *Age Ageing*, 1996. 25(6): p. 432-8.
16. Blencowe H, Cousens S, Oestergaard MZ, Chou D, Moller AB, Narwal R, . . . Lawn JE. National, regional, and worldwide estimates of preterm birth rates in the year 2010 with time trends since 1990 for selected countries: a systematic analysis and implications. *Lancet*, 2012. 379(9832): p. 2162-72.
17. Blencowe H, Cousens S, Chou D, Oestergaard M, Say L, Moller AB., . . . Lawn J, Born too soon: the global epidemiology of 15 million preterm births. *Reprod Health*, 2013. 10 Suppl 1: p. 2.
18. Bowl W, Stieger, K and Lorenz B. Fundus-controlled two-color dark adaptometry with the Microperimeter MP1. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 2015. 253(6): p. 965-72.

## LITERATURVERZEICHNIS

19. Bowl W, Lorenz B, Stieger K, Schweinfurth S, Holve K, Friedburg C and Andrassi-Darida M. Correlation of central visual function and ROP risk factors in prematures with and without acute ROP at the age of 6-13 years: the Giessen long-term ROP study. *Br J Ophthalmol*, 2016. 100(9): p. 1238-44.
20. Bowl W, Stieger K, Bokun M, Schweinfurth S, Holve K, Andrassi-Darida M and Lorenz B. OCT-Based Macular Structure-Function Correlation in Dependence on Birth Weight and Gestational Age-the Giessen Long-Term ROP Study. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2016. 57(9): p. Oct235-41.
21. Bowl W, Schweinfurth S, Holve K, Stieger K, Lorenz B and Andrassi-Darida M. The Impact of Macular Development on Full-field and Multifocal ERG in Extremely Preterm-born Children with and without Acute Retinopathy of Prematurity. *Klin Monbl Augenheilkd*, 2017. 234(10): p. 1235-1242.
22. Bowl W, Raoof S, Lorenz B, Holve K, Schweinfurth S, Stieger K and Andrassi-Darida M. Cone-Mediated Function Correlates to Altered Foveal Morphology in Preterm-Born Children at School Age. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2019. 60(5): p. 1614-1620.
23. Bowmaker JK and Dartnall HJ. Visual pigments of rods and cones in a human retina. *J Physiol*, 1980. 298: p. 501-11.
24. Brown SM and Bradley JC. Comparison of 2 monocular pupillometers and an autorefractor for measurement of the dark-adapted pupil diameter. *J Cataract Refract Surg*, 2011. 37(4): p. 660-4.
25. Canver MC, Canver AC, Revere KE, Amado D, Bennett J and Chung DC. Novel mathematical algorithm for pupillometric data analysis. *Comput Methods Programs Biomed*, 2014. 113(1): p. 221-5.
26. Carle CF, Maddess T and James AC. Contraction anisocoria: segregation, summation, and saturation in the pupillary pathway. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2011. 52(5): p. 2365-71.

## LITERATURVERZEICHNIS

27. Chan-Ling T, Gock B and Stone J. The effect of oxygen on vasoformative cell division. Evidence that 'physiological hypoxia' is the stimulus for normal retinal vasculogenesis. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 1995. 36(7): p. 1201-14.
28. Cocker KD, Moseley MJ, Stirling HF and Fielder AR. Delayed visual maturation: pupillary responses implicate subcortical and cortical visual systems. *Dev Med Child Neurol*, 1998. 40(3): p. 160-2.
29. Cook A, White S, Batterbury M and Clark D. Ocular growth and refractive error development in premature infants with or without retinopathy of prematurity. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2008. 49(12): p. 5199-207.
30. Curcio CA, Sloan KR, Kalina RE and Hendrickson AE. Human photoreceptor topography. *J Comp Neurol*, 1990. 292(4): p. 497-523.
31. Dacey DM, Liao HW, Peterson BB, Robinson FR, Smith VC, Pokorny J, . . . Gamlin PD. Melanopsin-expressing ganglion cells in primate retina signal colour and irradiance and project to the LGN. *Nature*, 2005. 433(7027): p. 749-54.
32. Darlow BA, Clemett RS, Horwood LJ and Mogridge N. Prospective study of New Zealand infants with birth weight less than 1500g and screened for retinopathy of prematurity: visual outcome at age 7-8 years. *Br J Ophthalmol*, 1997. 81(11): p. 935-40.
33. Deetjen P, Speckmann EJ and Hescheler J. *Physiologie*. 4. ed. 2005: Elsevier Urban & Fischer: p. 98-100.
34. Di Fiore JM, Bloom JN, Orge F, Schutt A, Schluchter M, Cheruvu VK, . . . Martin R. A higher incidence of intermittent hypoxemic episodes is associated with severe retinopathy of prematurity. *J Pediatr*, 2010. 157(1): p. 69-73.
35. Do MT, Kang SH, Xue T, Zhong H, Liao HW, Bergles DE and Yau KW. Photon capture and signalling by melanopsin retinal ganglion cells. *Nature*, 2009. 457(7227): p. 281-7.
36. Do MTH and Yau K-W. *Intrinsically Photosensitive Retinal Ganglion Cells*. Vol. 90. 2010. 1547-1581.

37. Dubis AM, Subramaniam CD, Godara P, Carroll J and Costakos DM. Subclinical macular findings in infants screened for retinopathy of prematurity with spectral-domain optical coherence tomography. *Ophthalmology*, 2013. 120(8): p. 1665-71.
38. Ehnes A, Wenner Y, Friedburg C, Preising MN, Bowl W, Sekundo W, . . . Lorenz B. Optical Coherence Tomography (OCT) Device Independent Intraretinal Layer Segmentation. *Transl Vis Sci Technol*, 2014. 3(1): p. 1.
39. Feigl B, Mattes D, Thomas R and Zele AJ. Intrinsically photosensitive (melanopsin) retinal ganglion cell function in glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2011. 52(7): p. 4362-7.
40. Fellman V, Hellstrom-Westas L, Norman M, Westgren M, Kallen, K, Lagercrantz H, . . . Wennergren M. One-year survival of extremely preterm infants after active perinatal care in Sweden. *Jama*, 2009. 301(21): p. 2225-33.
41. Fielder A, Blencowe H, O'Connor A and Gilbert C. Impact of retinopathy of prematurity on ocular structures and visual functions. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*, 2015. 100(2): p. F179-84.
42. Fledelius HC. Pre-term delivery and subsequent ocular development. A 7-10 year follow-up of children screened 1982-84 for ROP. 4) Oculometric - and other metric considerations. *Acta Ophthalmol Scand*, 1996. 74(3): p. 301-5.
43. Fortes Filho JB, Eckert GU, Valiatti FB, dos Santos PGB, da Costa MC and Procianoy RS. The influence of gestational age on the dynamic behavior of other risk factors associated with retinopathy of prematurity (ROP). *Graefes Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*, 2010. 248(6): p. 893-900.
44. Foster RG and Hankins MW. Non-rod, non-cone photoreception in the vertebrates. *Prog Retin Eye Res*, 2002. 21(6): p. 507-27.
45. Fotiou F, Fountoulakis KN, Goulas A, Alexopoulos L and Palikaras A. Automated standardized pupillometry with optical method for purposes of clinical practice and research. *Clin Physiol*, 2000. 20(5): p. 336-47.

46. Fotiou F, Fountoulakis KN, Tsolaki M, Goulas A and Palikaras A. Changes in pupil reaction to light in Alzheimer's disease patients: a preliminary report. *Int J Psychophysiol*, 2000. 37(1): p. 111-20.
47. Fu Y and Yau KW. Phototransduction in mouse rods and cones. *Pflugers Arch*, 2007. 454(5): p. 805-19.
48. Fulton AB, Hansen RM, Petersen RA and Vanderveen DK. The rod photoreceptors in retinopathy of prematurity: an electroretinographic study. *Arch Ophthalmol*, 2001. 119(4): p. 499-505.
49. Fulton AB, Hansen RM, Moskowitz A and Barnaby AM. Multifocal ERG in subjects with a history of retinopathy of prematurity. *Doc Ophthalmol*, 2005. 111(1): p. 7-13.
50. Fulton A, Hansen RM and Moskowitz A. The cone electroretinogram in retinopathy of prematurity. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2008. 49(2): p. 814-9.
51. Gamlin PD, McDougal DH, Pokorny J, Smith VC, Yau KW and Dacey DM. Human and macaque pupil responses driven by melanopsin-containing retinal ganglion cells. *Vision Res*, 2007. 47(7): p. 946-54.
52. Gole GA, Ells AL, Katz X, Holmstrom G, Fielder AR, Capone A, Flynn JT, Good WG, Holmes JM, McNamara BBJA, Palmer EA, Quinn GE, Shapiro MJ, Trese MGJ, Wallace DK. The International Classification of Retinopathy of Prematurity revisited. *Arch Ophthalmol*, 2005. 123(7): p. 991-9.
53. Grehn F. *Augenheilkunde*. 29. ed. 2006: Springer: p. 7-12, 182-183, 252, 264, 326, 301.
54. Early Treatment for Retinopathy of Prematurity Cooperative Group. Revised indications for the treatment of retinopathy of prematurity: results of the early treatment for retinopathy of prematurity randomized trial. *Arch Ophthalmol*, 2003. 121(12): p. 1684-94.

## LITERATURVERZEICHNIS

55. Grozdanic S, Betts DM, Allbaugh RA, Sakaguchi DS, Kwon YH, Kardon RH and Sonea IM. Characterization of the pupil light reflex, electroretinogram and tonometric parameters in healthy mouse eyes. *Curr Eye Res*, 2003. 26(6): p. 371-8.
56. Guler AD, Ecker JL, Lall GS, Haq S, Altimus CM, Liao HW, . . . Hattar S. Melanopsin cells are the principal conduits for rod-cone input to non-image-forming vision. *Nature*, 2008. 453(7191): p. 102-5.
57. Hammer DX, Iftimia NV, Ferguson RD, Bigelow CE, Ustun TE, Barnaby AM and Fulton AB. Foveal fine structure in retinopathy of prematurity: an adaptive optics Fourier domain optical coherence tomography study. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2008. 49(5): p. 2061-70.
58. Hammer DX, Iftimia NV, Ferguson RD, Bigelow CE, Ustun TE, Barnaby AM and Fulton AB. Foveal Fine Structure in Retinopathy of Prematurity: An Adaptive Optics Fourier Domain Optical Coherence Tomography Study. *Investigative ophthalmology & visual science*, 2008. 49(5): p. 2061-2070.
59. Hansen, R.M., Moskowitz, A., Akula, J.D., and Fulton, A.B., The neural retina in retinopathy of prematurity. *Prog Retin Eye Res*, 2016: p. 13-14, 17-18.
60. Hansen T and Gegenfurtner KR. Kortikale Mechanismen des Farbensehens. *Neuroforum*, 2006: p. 197-203.
61. Harris ME, Moskowitz A, Fulton AB and Hansen RM. Long-term effects of retinopathy of prematurity (ROP) on rod and rod-driven function. *Doc Ophthalmol*, 2011. 122(1): p. 19-27.
62. Heckenlively JR and Arden GB. Principles and Practice of Clinical Electrophysiology of Vision. 2. ed. 2006: MIT Press: p. 47-48, 67.
63. Heckmann M. Pathogenese der Retinopathia praematurorum. *Ophthalmologe*, 2008. 105(12): p. 1101-7.

## LITERATURVERZEICHNIS

64. Hellstrom A, Carlsson B, Niklasson A, Segnestam K, Boguszewski M, de Lacerda L, . . . Laron, Z. IGF-I is critical for normal vascularization of the human retina. *J Clin Endocrinol Metab*, 2002. 87(7): p. 3413-6.
65. Hellstrom A, Engstrom E, Hard AL, Albertsson-Wikland K, Carlsson B, Niklasson A . . . Smith LE. Postnatal serum insulin-like growth factor I deficiency is associated with retinopathy of prematurity and other complications of premature birth. *Pediatrics*, 2003. 112(5): p. 1016-20.
66. Hellstrom A, Ley D, Hansen-Pupp I, Niklasson A, Smith L, Lofqvist C and Hard AL. New insights into the development of retinopathy of prematurity-importance of early weight gain. *Acta Paediatr*, 2010. 99(4): p. 502-8.
67. Hellstrom A, Smith LE and Dammann O. Retinopathy of prematurity. *Lancet*, 2013. 382(9902): p. 1445-57.
68. Herbst K, Sander B, Milea D, Lund-Andersen H and Kawasaki A. Test-retest repeatability of the pupil light response to blue and red light stimuli in normal human eyes using a novel pupillometer. *Front Neurol*, 2011. 2: p. 10.
69. Hess EH and Polt JM. Pupil size as related to interest value of visual stimuli. *Science*, 1960. 132(3423): p. 349-50.
70. Hess EH and Polt JM. Pupil Size in Relation to Mental Activity during Simple Problem-Solving. *Science*, 1964. 143(3611): p. 1190-2.
71. Hestrin S and Korenbrot JI. Activation kinetics of retinal cones and rods: response to intense flashes of light. *J Neurosci*, 1990. 10(6): p. 1967-73.
72. Hillier RJ, Connor AJ and Shafiq AE. Ultra-low-dose intravitreal bevacizumab for the treatment of retinopathy of prematurity: a case series. *Br J Ophthalmol*, 2017;0:1–5. doi:10.1136/bjophthalmol-2017-310408
73. Holmstrom G and Larsson E. Long-term follow-up of visual functions in prematurely born children - a prospective population-based study up to 10 years of age. *J aapos*, 2008. 12(2): p. 157-62.

## LITERATURVERZEICHNIS

74. Hood DC, Frishman LJ, Saszik S and Viswanathan S. Retinal origins of the primate multifocal ERG: implications for the human response. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2002. 43(5): p. 1673-85.
75. Horbar JD, Carpenter JH, Badger GJ, Kenny MJ, Soll RF, Morrow KA and Buzas J.S. Mortality and Neonatal Morbidity Among Infants 501 to 1500 Grams From 2000 to 2009. *Pediatrics*, 2012. 129(6): p. 1019-1026.
76. Behrman RE, Butler AS and Editors. Committee on Understanding Premature Birth and Assuring Healthy Outcomes. Reports funded by National Institutes of Health, in *Preterm Birth: Causes, Consequences, and Prevention*. National Academies Press (US) 2007: p. 348-350.
77. Jandek C, Kellner U, Lorenz, B and Seiberth V. Leitlinie zur augenärztlichen Screening-Untersuchung von Frühgeborenen. *Der Ophthalmologe*, 2008. 105(10): p. 955-964.
78. Kahneman, D. and Beatty, J., Pupil diameter and load on memory. *Science*, 1966. 154(3756): p. 1583-5.
79. Kanski JJ. *Clinical Ophthalmology: A Systematic Approach*. 2007: Georg Thieme Verlag Stuttgart: p. 606, 802-803.
80. Kardon R, Anderson SC, Damarjian TG, Grace EM, Stone E and Kawasaki A. Chromatic pupil responses: preferential activation of the melanopsin-mediated versus outer photoreceptor-mediated pupil light reflex. *Ophthalmology*, 2009. 116(8): p. 1564-73.
81. Kardon R, Anderson SC, Damarjian TG, Grace EM, Stone E and Kawasaki A. Chromatic pupillometry in patients with retinitis pigmentosa. *Ophthalmology*, 2011. 118(2): p. 376-81.
82. Karnath HO and Thier P. *Neuropsychologie*. 2. ed. 2006: Springer: p. 37.
83. Kawamura, S and Tachibanaki S. Rod and cone photoreceptors: molecular basis of the difference in their physiology. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*, 2008. 150(4): p. 369-77.

84. Kawasaki A and Kardon RH. Intrinsically photosensitive retinal ganglion cells. *J Neuroophthalmol*, 2007. 27(3): p. 195-204.
85. Kolb H. Photoreceptors. *WebVision The Organisation of the Retina and the Visual System 2013*: <https://webvision.med.utah.edu/book/part-ii-anatomy-and-physiology-of-the-retina/photoreceptors/>
86. Kolb H. Glial cells of the Retina. *WebVision The Organisation of the Retina and the Visual System 2013*: <https://webvision.med.utah.edu/book/part-ii-anatomy-and-physiology-of-the-retina/glial-cells-of-the-retina/>
87. Krohne TU. Frühgeborenenretinopathie: Aktuelle Aspekte der Pathogenese, Diagnostik und Therapie. *Der Ophthalmologe*, 2012. 109(12): p. 1173-1173.
88. Kronthaler F. *Statistik angewandt: Datenanalyse ist (k)eine Kunst Excel Edition*. 2016: Springer Berlin Heidelberg: p. 51-53, 225-226, 231.
89. Laeng B, Sirois S and Gredebäck G. Pupillometry: A Window to the Preconscious? *Perspectives on Psychological Science*, 2012. 7(1): p. 18-27.
90. Lang F and Lang P. *Basiswissen Physiologie*. 2007: Springer: p. 397.
91. Lee J and Dammann O. Perinatal infection, inflammation, and retinopathy of prematurity. *Seminars in fetal & neonatal medicine*, 2012. 17(1): p. 26-29.
92. Lei S, Goltz HC, Chandrakumar M and Wong AM. Full-field chromatic pupillometry for the assessment of the postillumination pupil response driven by melanopsin-containing retinal ganglion cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2014. 55(7): p. 4496-503.
93. Lei S, Goltz HC, Chandrakumar M and Wong AM. Test-retest reliability of hemifield, central-field, and full-field chromatic pupillometry for assessing the function of melanopsin-containing retinal ganglion cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2015. 56(2): p. 1267-73.

## LITERATURVERZEICHNIS

94. Lentze MJ, Schaub J, Schulte FJ and Spranger J. Pädiatrie: Grundlagen und Praxis. 2008: Springer Berlin Heidelberg: p. 473-476.
95. Lobato-Rincon LL, Cabanillas Campos MC, Navarro-Valls JJ, Bonnin-Arias C, Chamorro E and Sanchez-Ramos Roda C. Utility of dynamic pupillometry in alcohol testing on drivers. *Adicciones*, 2013. 25(2): p. 137-45.
96. Loewenfeld IE. Über die Aufzeichnung des Pupillenspiels und die nervöse Steuerung der Pupillenreflexe. *Albrecht von Graefes Archiv für Ophthalmologie*, 1956. 157(6): p. 628-655.
97. Loewenfeld IE and Lowenstein O. *The Pupil: Anatomy, Physiology and Clinical Applications*. Iowa State University Press, 1993. 124(9): p. 1881-1883.
98. Lorenz B. Aktuelle augenärztliche Aspekte der akuten Retinopathia praematurorum. *Ophthalmologie* 2008. 105(12): p. 1092–1100.
99. Lorenz B, Spasovska K, Elflein H and Schneider N. Wide-field digital imaging based telemedicine for screening for acute retinopathy of prematurity (ROP). Six-year results of a multicentre field study. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 2009. 247(9): p. 1251-62.
100. Lorenz B, Strohmayer E, Zahn S, Friedburg C, Kramer M, Preising M and Stieger K. Chromatic pupillometry dissects function of the three different light-sensitive retinal cell populations in RPE65 deficiency. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2012. 53(9): p. 5641-52.
101. Lorenz B, Bowl W, Bernt S, Holve K and Stieger, K. Chromatische Pupillometrie. *Z. prakt. Augenheilkd.* 2013. 34: p. 293-298.
102. Lorenz B and Stieger K. Retinopathy of prematurity: recent developments in diagnosis and treatment. *Expert Review of Ophthalmology*, 2015. 10(2): p. 167-182.
103. Lorenz B, Stieger K, Jager M, Mais C, Stieger S and Andrassi-Darida M. Retinal Vascular Development With 0.312mg Intravitreal Bevacizumab to Treat Severe

- Posterior Retinopathy of Prematurity: A Longitudinal Fluorescein Angiographic Study. *Retina*, 2017. 37(1): p. 97-111.
104. Lowenstein O and Loewenfeld IE. Electronic pupillography; a new instrument and some clinical applications. *AMA Arch Ophthalmol*, 1958. 59(3): p. 352-63.
105. Lowenstein O, Feinberg R and Loewendeld IE. Pupillary Movements During Acute and Chronic Fatigue: A New Test for the Objective Evaluation of Tiredness. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 1963. 2(2): p. 138-157.
106. Lucas RJ, Hattar S, Takao M, Berson DM, Foster RG and Yau KW. Diminished pupillary light reflex at high irradiances in melanopsin-knockout mice. *Science*, 2003. 299(5604): p. 245-7.
107. Maldonado RS, O'Connell RV, Sarin N, Freedman SF, Wallace DK, Cotten CM, . . .Toth CA. Dynamics of human foveal development after premature birth. *Ophthalmology*, 2011. 118(12): p. 2315-25.
108. Markestad T, Kaaresen PI, Ronnestad A, Reigstad H, Lossius K, Medbo S . . . Irgens LM. Early death, morbidity, and need of treatment among extremely premature infants. *Pediatrics*, 2005. 115(5): p. 1289-98.
109. Martucci A, Cesareo M, Napoli D, Sorge RP, Ricci F, Mancino R and Nucci C. Evaluation of pupillary response to light in patients with glaucoma: a study using computerized pupillometry. *Int Ophthalmol*, 2014. Volume 34 (6), p 1241-1247.
110. Menghini M, Lujan BJ, Zayit-Soudry S, Syed R, Porco TC, Bayabo K. . . Duncan JL. Correlation of outer nuclear layer thickness with cone density values in patients with retinitis pigmentosa and healthy subjects. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2015. 56(1): p. 372-81.
111. Mintz-Hittner HA, Kennedy KA, Chuang AZ and BEAT-ROP Cooperative Group. Efficacy of intravitreal bevacizumab for stage 3+ retinopathy of prematurity. *N Engl J Med*, 2011. 364(7): p. 603-15.

112. Mitsiakos G and Papageorgiou A. Incidence and factors predisposing to retinopathy of prematurity in inborn infants less than 32 weeks of gestation. *Hippokratia*, 2016. 20(2): p. 121-126.
113. Muether PS, Kribs A, Hahn M, Schumacher J, Eifinger F, Kirchhof B . . . Fauser S. No advanced retinopathy of prematurity stages 4 or 5 in a large high-risk German cohort. *Br J Ophthalmol*, 2012. 96(3): p. 400-4.
114. Munch M and Kawasaki A. Intrinsically photosensitive retinal ganglion cells: classification, function and clinical implications. *Curr Opin Neurol*, 2013. 26(1): p. 45-51.
115. Nissen C, Sander B, Milea D, Kolko M, Herbst K, Hamard P and Lund-Andersen H. Monochromatic Pupillometry in Unilateral Glaucoma Discloses no Adaptive Changes Suberved by the ipRGCs. *Front Neurol*, 2014. 5: p. 15.
116. O'Connor, A.R., Stephenson, T., Johnson, A., Tobin, M.J., Moseley, M.J., Ratib, S. . . Fielder, A.R., Long-term ophthalmic outcome of low birth weight children with and without retinopathy of prematurity. *Pediatrics*, 2002. 109(1): p. 12-8.
117. O'Connor AR, Wilson CM and Fielder AR. Ophthalmological problems associated with preterm birth. *Eye (Lond)*, 2007. 21(10): p. 1254-60.
118. Park JC, Moura AL, Raza AS, Rhee DW, Kardon RH and Hood DC. Toward a clinical protocol for assessing rod, cone, and melanopsin contributions to the human pupil response. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2011. 52(9): p. 6624-35.
119. Park JC, Moss HE and McAnany JJ. The Pupillary Light Reflex in Idiopathic Intracranial Hypertension. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2016. 57(1): p. 23-9.
120. Pelken L and Maier RF. Risikofaktoren und Prävention der Retinopathia praematurorum. *Ophthalmologe*, 2008. 105(12): p. 1108–1114.
121. Penn JS, Tolman BL and Lowery LA. Variable oxygen exposure causes preretinal neovascularization in the newborn rat. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 1993. 34(3): p. 576-85.

122. Perkins GA, Ellisman MH and Fox DA. Three-dimensional analysis of mouse rod and cone mitochondrial cristae architecture: bioenergetic and functional implications. *Mol Vis*, 2003. 9: p. 60-73.
123. Perlman I. The Electroretinogram. WebVision Organisation of the Retina and Visual System 2016 <https://webvision.med.utah.edu/book/electrophysiology/the-electroretinogram-erg/>
124. Pozzessere G, Valle E, Rossi P, Petrucci B, Ambrosini A, D'Alessio M. . . Giacomini P. Pupillometric evaluation and analysis of light reflex in healthy subjects as a tool to study autonomic nervous system changes with aging. *Aging (Milano)*, 1996. 8(1): p. 55-60.
125. Provencio I, Jiang G, De Grip WJ, Hayes WP and Rollag MD. Melanopsin: An opsin in melanophores, brain, and eye. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1998. 95(1): p. 340-5.
126. Provencio I, Rodriguez IR, Jiang G, Hayes WP, Moreira EF and Rollag MD. A novel human opsin in the inner retina. *J Neurosci*, 2000. 20(2): p. 600-5.
127. Ramamirtham R, Akula JD, Soni G, Swanson MJ, Bush JN, Moskowitz A. . . Fulton AB. Extrafoveal Cone Packing in Eyes With a History of Retinopathy of Prematurity. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2016. 57(2): p. 467-75.
128. Sachsenweger M, Klauß V and Nasemann J. *Duale Reihe Augenheilkunde*. 2002: Thieme: p. 200.
129. Sadler TW and Langman J. *Medizinische Embryologie: die normale menschliche Entwicklung und ihre Fehlbildungen*. 2003: Thieme: p. 369.
130. Saint-Geniez M and D'Amore PA. Development and pathology of the hyaloid, choroidal and retinal vasculature. *Int J Dev Biol*, 2004. 48(8-9): p. 1045-58.
131. Schmidt RF, Lang F and Heckmann M. *Physiologie des Menschen: mit Pathophysiologie*. 31. ed. 2010: Springer Berlin Heidelberg: 263-346, 377.

132. Schmidt TM, Chen SK and Hattar S. Intrinsically photosensitive retinal ganglion cells: many subtypes, diverse functions. *Trends Neurosci*, 2011. 34(11): p. 572-80.
133. Silveira RC, Fortes Filho JB and Procianny RS. Assessment of the contribution of cytokine plasma levels to detect retinopathy of prematurity in very low birth weight infants. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2011. 52(3): p. 1297-301.
134. Silverman W. Retrolental fibroplasia: a modern parable. New York: Grune & Stratton, Inc. 1980: <http://www.neonatology.org/classics/parable/ch01.html>.
135. Singer D and Muhlfeld C. Perinatal adaptation in mammals: the impact of metabolic rate. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*, 2007. 148(4): p. 780-4.
136. Sitzmann FC. *Duale Reihe Pädiatrie*. 2003: Thieme: p. 79-80, 96, 124,333.
137. Smith SA, Ellis CJ and Smith SE. Inequality of the direct and consensual light reflexes in normal subjects. *Br J Ophthalmol*, 1979. 63(7): p. 523-7.
138. Sonoda T and Schmidt TM. Re-evaluating the Role of Intrinsically Photosensitive Retinal Ganglion Cells: New Roles in Image-Forming Functions. *Integr Comp Biol*, 2016. 56(5): p. 834-841.
139. Stensvold HJ, Klingenberg C, Stoen R, Moster D, Braekke K, Guthe HJ, . . . Ronnestad AE. Neonatal Morbidity and 1-Year Survival of Extremely Preterm Infants. *Pediatrics*, 2017;139(3):e20161821
140. Stocker TC and Steinke I. *Statistik: Grundlagen und Methodik*. 2016: Walter de Gruyter GmbH: p. 39-41, 129.
141. Stone J, Itin A, Alon T, Pe'er J, Gnessin H, Chan-Ling T and Keshet E. Development of retinal vasculature is mediated by hypoxia-induced vascular endothelial growth factor (VEGF) expression by neuroglia. *J Neurosci*, 1995. 15(7 Pt 1): p. 4738-47.

142. Tommiska V, Heinonen K, Lehtonen L, Renlund M, Saarela T, Tammela O. . . Fellman V. No improvement in outcome of nationwide extremely low birth weight infant populations between 1996-1997 and 1999-2000. *Pediatrics*, 2007. 119(1): p. 29-36.
143. Tsika C, Crippa SV and Kawasaki A. Differential monocular vs. binocular pupil responses from melanopsin-based photoreception in patients with anterior ischemic optic neuropathy. *Scientific Reports*, 2015. 5: p. 10780.
144. UNICEF, WHO, World Bank, UN-DESA Population Division Levels & Trends in Child Mortality Report 2015. 2015: p. 36.
145. Vajzovic L, Hendrickson AE, O'Connell RV, Clark LA, Tran-Viet D, Possin D. . . Toth CA. Maturation of the human fovea: correlation of spectral-domain optical coherence tomography findings with histology. *Am J Ophthalmol*, 2012. 154(5): p. 779-789.e2.
146. Villegas VM, Capo H, Cavuoto K, McKeown CA and Berrocal AM. Foveal structure-function correlation in children with history of retinopathy of prematurity. *Am J Ophthalmol*, 2014. 158(3): p. 508-12.e2.
147. Vinekar A, Avadhani K, Sivakumar M, Mahendradas P, Kurian M, Braganza S . . . Shetty BK, Understanding clinically undetected macular changes in early retinopathy of prematurity on spectral domain optical coherence tomography. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2011. 52(8): p. 5183-8.
148. von Campenhausen C. *Die Sinne des Menschen: Einführung in die Psychophysik der Wahrnehmung* ; 4 Tabellen. 2. ed. 1993: Thieme: p. 141-142.
149. Wang J, Ren X, Shen L, Yanni SE, Leffler JN and Birch EE. Development of refractive error in individual children with regressed retinopathy of prematurity. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2013. 54(9): p. 6018-24.
150. Weeß HG, Sauter C, Geisler P, Böhning W, Wilhelm B, Rotte M. . . Steinberg R. *Vigilanz, Einschlafneigung, Daueraufmerksamkeit, Müdigkeit, Schläfrigkeit- Diagnostische Instrumentarien zur Messung müdigkeits- und schläfrigkeits-*

## LITERATURVERZEICHNIS

- bezogener Prozesse und deren Gütekriterien. *Somnologie - Schlafforschung und Schlafmedizin*, 2000. 4(1): p. 20-38.
151. Wilhelm H and Wilhelm B. Clinical applications of pupillography. *J Neuroophthalmol*, 2003. 23(1): p. 42-9.
152. Wu WC, Lin RI, Shih CP, Wang NK, Chen YP, Chao AN . . . Tsai S. Visual acuity, optical components, and macular abnormalities in patients with a history of retinopathy of prematurity. *Ophthalmology*, 2012. 119(9): p. 1907-16.
153. Young RSL and Kimura E. Pupillary correlates of light-evoked melanopsin activity in humans. *Vision Research*, 2008. 48(7): p. 862-871.
154. Yuodelis C and Hendrickson A. A qualitative and quantitative analysis of the human fovea during development. *Vision Research*, 1986. 26(6): p. 847-855.
155. Zaidi FH, Hull JT, Peirson SN, Wulff K, Aeschbach D, Gooley JJ. . . Lockley SW. Short-wavelength light sensitivity of circadian, pupillary, and visual awareness in humans lacking an outer retina. *CurrBiol*, 2007. 17(24): p. 2122-8.
156. Zeitlin J, Szamotulska K, Drewniak N, Mohangoo AD, Chalmers J, Sakkeus L... Blondel B. Preterm birth time trends in Europe: a study of 19 countries. *Bjog*, 2013. 120(11): p. 1356-65.

## **11 Publikation**

Bowl W, Raof S, Lorenz B, Holve K, Schweinfurth S, Stieger K, Andrassi-Darida M. Cone-mediated function correlates to altered foveal morphology in preterm-born children at school age. Invest Ophthalmol Vis Sci 2019. 60(5): p. 1614-1620

## 12 Erklärung zur Dissertation

„Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig und ohne unzulässige Hilfe oder Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nichtveröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten sowie ethische, datenschutzrechtliche und tierschutzrechtliche Grundsätze befolgt. Ich versichere, dass Dritte von mir weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen, oder habe diese nachstehend spezifiziert. Die vorgelegte Arbeit wurde weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde zum Zweck einer Promotion oder eines anderen Prüfungsverfahrens vorgelegt. Alles aus anderen Quellen und von anderen Personen übernommene Material, das in der Arbeit verwendet wurde oder auf das direkt Bezug genommen wird, wurde als solches kenntlich gemacht. Insbesondere wurden alle Personen genannt, die direkt und indirekt an der Entstehung der vorliegenden Arbeit beteiligt waren. Mit der Überprüfung meiner Arbeit durch eine Plagiatserkennungssoftware bzw. ein internetbasiertes Softwareprogramm erkläre ich mich einverstanden.“

---

Ort, Datum

---

Unterschrift

## 13 Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen Personen bedanken, die mich auf meinem Weg zur Promotion begleitet haben.

An erster Stelle möchte ich mich herzlich bei Frau Prof. Dr. Birgit Lorenz für die Überlassung des interessanten und berufsweisenden Themas und Ihre stetige Begleitung bis zum Abschluss meiner Arbeit bedanken. Vielen Dank für Ihre ausführlichen Korrekturen, Ihre Geduld und die freundliche Kommunikation.

Frau Prof. Dr. Birgit Lorenz und Frau Dr. Monika Andrassi-Darida danke ich für die Erstellung des Datenverzeichnisses. Ohne eine geeignete Datenbank wäre diese Studie nicht möglich gewesen.

Ein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Dr. Knut Stieger und Herrn Dr. Wadim Bowl für und die kompetente und stets hilfsbereite Betreuung meiner Arbeit. Ihre Ideen und Ratschläge haben diese Arbeit sehr bereichert.

Ein großes Dankeschön an Kerstin Holve und Silke Schweinfurth, sie waren für mich stets ansprechbar und sehr hilfsbereit.

Ich möchte mich bei den Kindern und ihren Eltern bedanken, die den weiten Weg auf sich genommen haben, um an dieser Studie teilzunehmen.

Ein herzlicher Dank an meine Eltern, die mich stets begleitet und motiviert haben.