

Justus-Liebig-Universität Gießen

Fachbereich Medizin

Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde  
Universitätsklinikum Gießen und Marburg GmbH, Standort Gießen  
Direktorin: Univ. Prof. Dr. med. Birgit Lorenz

# **Einfluss Makulärer Entwicklungsstörung auf visuelle Funktionen frühgeborener Kinder**

Habilitationsschrift

zur Erlangung der Lehrbefähigung für das Fach der Experimentellen Ophthalmologie  
im Fachbereich Medizin der Justus-Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von

**Dr. med. Wadim Bowl**

Gießen 2019

## **Erklärung zur Habilitation**

„Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit bzw. die mir zuzuordnenden Teile im Rahmen einer kumulativen Habilitationsschrift, selbstständig und ohne unzulässige Hilfe oder Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nicht veröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Ich versichere, dass ich für die nach §2 (3) der Habilitationsordnung angeführten bereits veröffentlichten Originalarbeiten als erst- oder Seniorautor fungiere, da ich den größten Teil der Daten selbst erhoben habe. Für alle von mir erwähnten Untersuchungen habe ich die in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegten Grundsätze befolgt. Ich versichere, dass alle an der Finanzierung der Arbeiten beteiligten Geldgeber in den jeweiligen Publikationen genannt worden sind. Ich versichere außerdem, dass die vorgelegte Arbeit weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde vorgelegt wurde oder Gegenstand eines anderen Prüfungsverfahrens war. Mit der Überprüfung meiner Arbeit durch eine Plagiatserkennungssoftware bzw. ein internetbasiertes Softwareprogramm erkläre ich mich einverstanden.“

---

Ort, Datum

---

Unterschrift

---

## Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung.....	3
1.1. Physiologische Fovea im OCT.....	6
1.2. Fovea-Veränderungen bei frühgeborenen Kindern.....	8
1.3. Retinale Funktionsdefizite bei frühgeborenen Kindern.....	11
2. Fragestellung und Thematik der Studien.....	12
3. Ergebnisse und Diskussion.....	14
3.1. Graphische Kurzübersicht aller Studienergebnisse.....	14
3.2. Funduskontrollierte Perimetrie bei frühgeborenen Grundschulkindern mit und ohne Frühgeborenenretinopathie.....	15
3.3. Makuläre Struktur-Funktions-Korrelation bei frühgeborenen Grundschulkindern mit und ohne Frühgeborenenretinopathie.....	19
3.4. Einfluss Makulärer Reifungsstörung auf elektretinographisch messbare Potentiale.....	23
3.5. Makuläre Reifungsstörung und zapfenvermittelte Funktion.....	26
3.6. Makuläre Reifungsstörung und foveale avaskuläre Zone.....	30
3.7. Makuläre Reifungsstörung und subfoveale choroidale Schichtdicke.....	33
3.8. Einsatz handgehaltener OCT-Geräte bei Neugeborenen.....	36
4. Zusammenfassung und Ausblick.....	38
5. Literaturverzeichnis.....	44
6. Danksagung.....	52
7. Anlagen.....	54

## Abkürzungsverzeichnis

ANOVA	Analysis of Variance (Varianzanalyse)
BCVA	Bestkorrigierte Sehschärfe
OCT	Optische Kohärenztomographie
SD-OCT	Spectral-Domain Optische Kohärenztomographie
SS-OCT	Swept-Source Optische Kohärenztomographie
OCTA	Optische Kohärenztomographie Angiographie
ROP	Frühgeborenenretinopathie (Retinopathy of prematurity)
MDA	Makuläre Reifungsstörung (Macular developmental arrest)
LIS	Lichtunterschiedsempfindlichkeit
ETDRS	Early Treatment of Diabetic Retinopathy Study
GCL	Ganglienzellschicht
IPL	Innere Plexiforme Schicht
INL	Innere Nukleäre Schicht
OPL	Äußere Plexiforme Schicht
IRL	Innere Retinale Schichten
RPE	Retinales Pigmentepithel
mfERG	Multifokales Elektretinographie
ffERG	Ganzfeld Elektretinographie (fullfield)
BCVA	Bestkorrigierte Sehschärfe (best-corrected visual acuity)
FAZ	Foveale avaskuläre Zone
GW	Geburtsgewicht
GA	Gestationsalter

---

*Der vorliegenden kumulativen Habilitationsschrift liegen folgende Arbeiten zugrunde (chronologisch sortiert):*

1. Bowl W, Raouf 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 Apr 1;60(5):1614-1620.
2. Bowl W, Bowl M, Schweinfurth S, Holve K, Knobloch R, Stieger K, Andrassi-Darida M, Lorenz B. OCT Angiography in Young Children with a History of Retinopathy of Prematurity. *Ophthalmol Retina.* 2018 Sep;2(9):972-978.
3. Bowl W, Bowl M, Schweinfurth S, Holve K, Andrassi-Darida M, Stieger K, Lorenz B. Choroidal Thickness with Swept-Source Optical Coherence Tomography versus Foveal Morphology in Young Children with a History of Prematurity. *Ophthalmic Res.* 2018;60(4):205-213.
4. Bowl W, Schweinfurth S, Holve K, Stieger K, Lorenz B, 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 Oct;234(10):1235-1242. German.
5. Bowl W, Andrassi-Darida M, Holve K, Schweinfurth S, Knobloch R, Lorenz B. [Handheld Optical Coherence Tomography in Paediatric Ophthalmology: Experience of the Department of Ophthalmology in Giessen]. *Klin Monbl Augenheilkd.* 2016 Oct;233(10):1142-1148. German.
6. Bowl W, Lorenz B, Stieger K, Schweinfurth S, Holve K, Friedburg C, 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 Sep;100(9):1238-44.
7. Bowl W, Stieger K, Bokun M, Schweinfurth S, Holve K, Andrassi-Darida M, 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 Jul 1;57(9):OCT235-41.

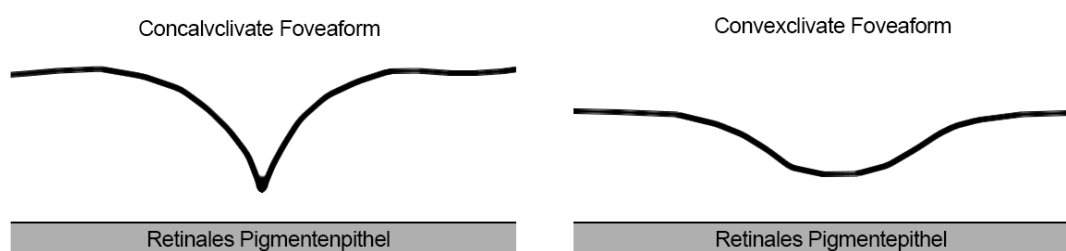
## 1. Einleitung

Das Auge formt eine Abbildung der Umwelt durch Brechung der auf die Hornhaut fallenden Lichtstrahlen und ermöglicht eine Fokussierung derselben auf die Netzhaut. Das vom fixierten Objekt reflektierte Licht wird auf die Netzhaut in der visuellen Achse fokussiert. Hier findet man bei vielen Wirbeltieren auf der insgesamt homogen aufgebauten Netzhaut eine besonders modifizierte Stelle, welche auf maximale Sehschärfe spezialisiert ist. Die modifizierte Stelle befindet sich, mit wenigen Ausnahmen, in einfacher Ausführung in jedem Auge und in unterschiedlichen Formausprägungen. Dieser modifizierte Bereich kann von der umgebenden Netzhaut durch eine Verdichtung der Zapfen pro Flächeneinheit definiert werden. Die Erhöhung der Zellzahl pro Fläche wird begleitet durch notwendige zusätzliche Anpassungen, nämlich die Verschlangung und Elongation der Zapfen; sie sind verbunden mit einer größeren Zahl von Bipolarzellen in einer teilweise eins-zu-eins Verschaltung und diese sind wiederum verbunden mit einer größeren Zahl von Ganglienzellen; dadurch ist die Gesamtzellzahl in inneren Netzhautschichten erhöht, was zu einer lokalen Verdickung derselben führt. Gleichzeitig ist das Verhältnis von Stäbchen zu Zapfen reduziert, im Zentrum sind die Stäbchen vollständig abwesend. Die Netzhautoberfläche in der Stelle des schärfsten Sehens bildet durch die Zapfenverdichtung aber keinen gleichmäßig erhabenen Bereich, sondern zeigt vielmehr eine zentrale Einsenkung. Die Vertiefung, auch fovea centralis genannt, ist bei einigen Fischen, vielen Reptilien, meisten Vögeln und Primaten, sowie dem Menschen, vorhanden. Die foveale Vertiefung wird erreicht durch eine zentrifugale (vom Zentrum zur Peripherie) Verlagerung der inneren nukleären, plexiformen und Ganglienzellschicht. Das verlagerte Gewebe bildet in der Zirkumferenz einen erhabenen Ring, auch Makulawall genannt.

Der physiologische Sinn und die Bedeutung für die Funktion fovealer Einsenkung ist seit fast einem Jahrhundert Thema in wissenschaftlichen Veröffentlichungen. Die gängigste Theorie zur Bedeutung der fovealen Einsenkung basiert auf der Annahme, dass Bipolarzellen, Ganglienzellen und Nervenfasern den Lichtstrahlengang behindern oder zumindest streuen [Weale 1966 & 1968, Walls 1937]. Bereits in den späten 1960ern konnte jedoch gezeigt werden, dass sowohl die zentrale, mittelperiphere und periphere Netzhaut, inklusive fovealer Einsenkung, die gleichen Streulichteigenschaften besaßen [Weale 1966 & 1968] und somit nicht die Verlagerung der Neurone das Hauptziel fovealer Einsenkung war [Weale 1968].

Eine Verlagerung innerer Zellschichten ermöglicht jedoch eine weniger aufwändige Sauerstoff- und Nährstoffversorgung, sodass oberflächliche Kapillaren mit den darin beweglichen und lichtstreuenden Erythrozyten im fovealen Zentrum ebenfalls eingespart werden können. Die dünnere Netzhaut wird an dieser Stelle durch Diffusion über die unter der Netzhaut liegende Aderhaut (Choroidea) versorgt. Es wird angenommen, dass insbesondere das an Hämoglobin gebundene Eisen in den sich durch Kapillaren bewegenden Erythrozyten zu hohen Streulichtphänomenen führt [Ross 2004, Weale 1966]. Unterstützt wird die These durch avaskuläre Areale nicht nur bei Anthropoiden mit Foveae, sondern auch in Areae centrales von afovealen Säugetieren (z.B. Östlicher Graukehl-Nachtaffe) [Ross 2004, Wolin 1970, Weale 1966].

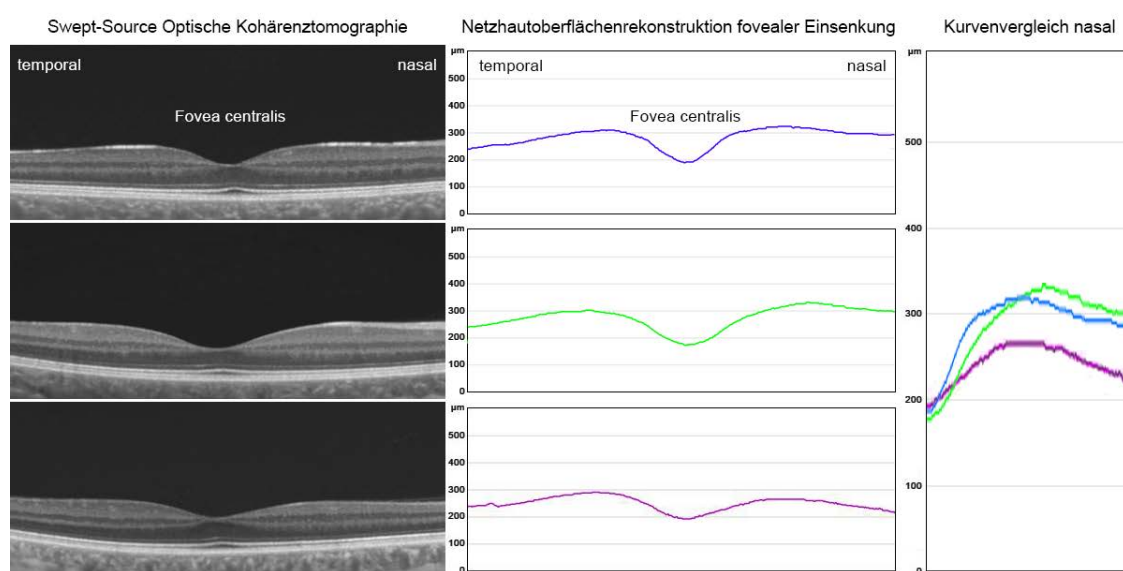
Die häufig bei Greifvögeln beobachtete concavclivate Foveaform soll durch ihre speziell geformte Oberfläche die Bewegungs- und Fokuspunkterfassung erleichtern [Pumphrey 1948, Harkness 1978] (Abbildung 1). Eine Brechung des Lichtes an der Netzhautoberfläche findet also durchaus statt. Inwiefern die Lichtbrechung bei den weniger steil abfallenden Rändern humaner Foveae eine Rolle spielt ist bisher nicht vollständig geklärt. Die Theorie der optischen Vergrößerung durch die sogenannte convexclivat geformte Fovea konnte jedoch durch Tierexperimente und physikalische Messungen weitestgehend widerlegt werden [Frey 2017, Ross 2004]. Auch extrem breit ausgehöhlte humane Foveae zeigten keine signifikanten Veränderungen gegenüber plan ausgerichteten Netzhautoberflächen, auch nicht unter Variation der Wellenlänge des Lichts oder unterschiedlicher Aufttrittswinkel [Frey 2017, Ross 2004].



**Abbildung 1:** Schematische Darstellung verschiedener Foveaformen. (modifiziert nach Ross 2004)

Die convexclivate Foveaform ist bei Menschen interindividuell unterschiedlich ausgeprägt [Provis 2013]. Zum physiologischen Erscheinungsbild gehören aber immer

die bereits oben genannten Merkmale der elongierten, dicht gepackten Zapfen und der zur Seite gedrängten Schichten innerer Netzhaut. Bei einigen Erkrankungen kann diese Foveaform von Geburt an gestört sein. Beim Albinismus, einer angeborenen Störung der Melanin Biosynthese, kann die foveale Manifestation das Fehlen der avaskulären Zone [Abadi 1989], der fovealen Einsenkung [Kinnear 1985, Oetting 1994, McAllister 2010] oder des Makulawallreflexes [Lee 2001] beinhalten. Der Symptomkomplex, auch häufig bezeichnet als foveale Hypoplasie, wird auch im Zusammenhang mit PAX6-Genmutationen [Thomas 2011, Hingorani 2009] und in isolierten Einzelfällen beschrieben [Querques 2008]. In vielen Fällen ging die morphologische Veränderung der Fovea mit einer Sehschärfereduktion (Visusreduktion) einher [McAllister 2010, Hingorani 2009, Thomas 2011].



**Abbildung 2:** Vergleich von drei Einzelscans an der Swept-Source Optischen Kohärenztomographie (DRI-OCT Triton, Topcon, USA) des rechten Auges bei drei augengesunden Erwachsenen im Alter von 28 bis 32 Jahren. Die Netzhautoberfläche des jeweiligen Scans ist als gesonderter Graph eingezeichnet, sowie der direkte Vergleich der Oberfläche nasal der Fovea.

Mit der zunehmend einfacheren Handhabung in-vivo bildgebender Verfahren zur Darstellung der Netzhautultrastruktur wurde es möglich auch frühgeborene und extremfrühgeborene Kinder in Langzeitnachverfolgungsstudien zu untersuchen. Dabei wurden in mehreren Studien ebenfalls Veränderungen der Fovea festgestellt, welche durch überlagernde Schichten innerer Netzhaut und eine flachere foveale Einsenkung auffielen [Lago 2007, Ecsedy 2007, Recchia 2007, Hammer 2008, Maldonado 2011,

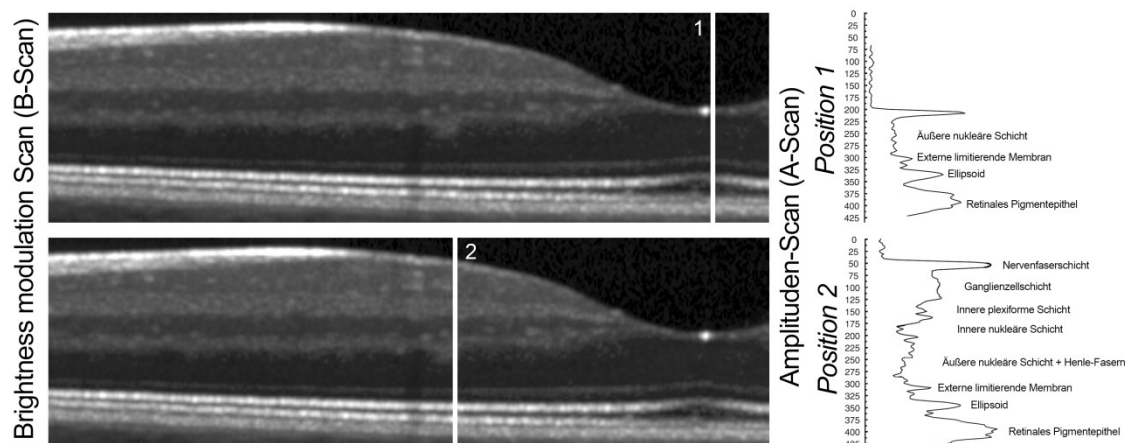


Akerblom 2011, Wang 2012, Yanni 2012, Dubis 2013]. Neben der Erfassung morphologischer Veränderung der Fovea wurden funktionell die tomographischen Befunde nur mit Ergebnissen bestkorrigierter Sehschärfe in Verbindung gesetzt [Maldonado 2011, Pueyo 2015, Wu 2012].

Entlang dieser Entwicklung beschäftigt sich die vorliegende Arbeit mit der morphologischen Erforschung der fovealen Veränderungen bei extrem-frühgeborenen Kindern, der Entwicklung neuer funktionsdiagnostischer Parameter zur Erfassung evtl. funktioneller Einbußen bei Vorschul- und Grundschulkindern und der exakten Struktur-Funktions-Korrelation der Befunde. Nach einer kurzen Beschreibung eigener Arbeiten in diesem Bereich werden die Ergebnisse im Kontext aktueller wissenschaftlicher Entwicklungen diskutiert und im Hinblick auf deren Bedeutung für die zukünftige epidemiologische Forschung interpretiert.

### **1.1. Physiologische Fovea im OCT**

Die Optische Kohärenztomographie (OCT) basiert auf einer Technik der Laser-Interferometrie und wird seit über zwei Jahrzehnten zur Visualisierung im Schnittbildverfahren der Netzhaut eingesetzt [Fujimoto 2016]. Licht von Breitband- (Spectral-Domain: SD-OCT) oder modulierbaren Schmalbandlaserquellen (Swept-Source: SS-OCT), welches durch unterschiedliche Reflexionseigenschaften der Netzhautschichten in unterschiedlicher Stärke reflektiert werden, können von einem Detektor aufgefangen und nach Reflexionsstärke analysiert werden [Drexler 2008]. Die mittlerweile erreichte Auflösung der unterschiedlich reflektierenden Netzhautschichten erlaubt eine Histologie-ähnliche Untersuchung der Netzhautultrastruktur [Scheibe 2016].



**Abbildung 3:** Einzelscan-Aufnahmen an der Spectral-Domain Optical Coherence Tomography (Spectralis HRA II, Heidelberg Eng, Deutschland) ; Weile vertikale Linien markieren die Positionen der einzelnen dazugehörigen A-Scans, welche Maßstabsgetreu neben dem B-Scan abgebildet sind.

Im SD-OCT zeigen sich typischerweise wechselnde hypo- und hyperreflektierende Banden in Abhängigkeit der Wechsel der Amplitudenspitzen und Tälern, wie im Einzelnen Amplituden-Scan (A-Scan) zu erkennen (Abbildung 2). In der parafovealen und peripheren Retina entsprechen diese Banden von außen nach innen: Nervenfaserschicht (NFL); Ganglienzellschicht (GCL); Innere plexiforme Schicht (IPL); Innere nukleäre Schicht (INL); Äußere plexiforme Schicht (OPL); Äußere nukleäre Schicht mit der Henle'schen Faserschicht (ONL); Externe limitierende Membran (ELM); Mehrere Banden der Photorezeptorinnen- und -außensegmente (IS+OS) und letztlich das Retinale Pigmentepithel (RPE) [Spaide 2011; Vajzovic 2012]. SD-OCT Aufnahmen zeigen eine, mit wenigen Ausnahmen, weitestgehende Übereinstimmung zu histologischen Untersuchungen. Die GCL- und IPL-Schichten lassen sich in der Histologie deutlich voneinander trennen, während im OCT die Kontrastgrenze zwischen den Banden häufig verschwommen erscheint [Vajzovic 2012]. Auch die Henle'sche Faserschicht ist in der Histologie deutlich von der ONL-Schicht unterscheidbar, während im OCT eine Differenzierung beider Banden kaum möglich ist [Vajzovic 2012]. Interessant sind insbesondere die äußeren Banden im OCT, welche nach aktueller Meinung die Ellipsoiden Segmente der Photorezeptoren (Ellipsoid IS) und den Kontaktzylinder der Zapfen mit RPE-Fortsätzen (Cone OS) darstellen, was in dieser Form in der Histologie nicht darstellbar ist [Vajzovic 2012, Spaide 2011].

Im Zentrum der physiologischen adulten Fovea lässt sich demgegenüber nur eine kleine Rest-Reflektivität der inneren Netzhautschichten (NFL, GCL, IPL und INL) evaluieren. Oberhalb der, mit bis zu 50 $\mu$ m Höhenunterschied, kuppelartig gewölbten äußeren nukleären Schicht mit Henle Fasern befindet sich häufig ein wenige Mikrometer breiter Saum, welcher der Reflektivität innerer Netzhautschichten gleicht [Vajzovis 2012, Lee 2015]. Gleichzeitig wird die exakte Mitte an der Netzhautoberfläche der Fovea häufig durch einen Lichtreflex überlagert. Die Ellipsoid-Schicht wölbt sich bis zu 10 $\mu$ m, gleichzeitig verwischt die Cone-OS-Schicht mit der darunter liegenden Pigmentepithelschicht zu einer breiten Bande [Vajzovis 2012, Lee 2015, Spaide 2011], was zum einen auf fehlende Stäbchenaußensegmente und zum anderen auf elongierte Zapfenaußensegmente, welche bis zu den Zellkörper der RPE-Zellen reichen, hindeutet [Spaide 2011].

Innerhalb der fovealen Struktur wurde bei gesunden Probanden eine breite Variabilität beobachtet [Tick 2011, Sepulveda 2016, Provis 2013]. Die Netzhautdicke im fovealen Zentrum variiert um bis zu 40 $\mu$ m bei einer durchschnittlichen zentralen Dicke von 200 $\mu$ m [Tick 2011, Sepulveda 2016]. Obwohl der generelle Makuladurchmesser sich kaum verändert, variiert die Breite des Foveabodens deutlich, mit einhergehender Veränderung der Steigung der Foveawände. Zusammenhängend wurde über die individuell unterschiedlich ausgeprägte foveale oberflächliche avaskuläre Zone berichtet, welche mit der Größe der Breite des Foveabodens korrelierte [Tick 2011, Sepulveda 2016]. Zudem variierten die Messparameter in Abhängigkeit von Geschlecht [Wagner-Schuman 2011, Patel 2016, v.Hanno 2017], ethnischer Zugehörigkeit [Asefzadeh 2007, Wagner-Schuman 2011, Patel 2016], Achsenlänge der Augen und verändern sich mit zunehmendem Alter des Patienten [Nesmith 2014, Patel 2016, v.Hanno 2017].

## **1.2. Fovea-Veränderungen bei frühgeborenen Kindern**

Die Reifung der Fovea und ihre Funktion sind lange Gegenstand der Forschung, zuletzt beschrieben in einem ausführlichen Review von Provis et al. im Jahr 2013. Insbesondere mathematische Modelle [Frey 2017, Moore 2016, Nesmith 2014, Scheibe 2014 & 2016], molekulare Analysen [Cornish 2004 & 2005] und histologische Untersuchungen [Curcio 1990, Hendrickson 1984 & 2012, Vajzovic 2012], trugen entscheidend zum Wissensgewinn bei. Die Ausbildung der fovealen avaskulären Zone und die damit

verbundenen molekularen Einflüsse, zeigten sich als entscheidende Faktoren bei der Ausbildung fovealer Einsenkung [Springer 1999 & 2005]. Simulationen zeigen, dass mechanische Kräfte auf die gefäßfreie Zone in der Fovea einwirken und so die Bildung der Vertiefung einleiten [Springer 1999 & 2005]. Die direkte eins-zu-eins Verschaltung von Zapfen auf Bipolarzellen auf Ganglienzellen, ohne ausgeprägte laterale Neuronenverbindungen, erleichtert die Einwirkung tangentialer Kräfte zusätzlich [Diaz-Araya 1992, Grünert 1993]. Der zunehmende Einsatz detaillierter in-vivo Bildgebung ermöglichte es in den letzten Jahren eine größere Anzahl von Patienten und Probanden zu untersuchen und die morphologischen Eigenschaften der Fovea und ihrer Einsenkung zu evaluieren. In größeren Studien konnte eine deutliche Heterogenität der Foveaform gezeigt werden [Dubis 2012, Hammer 2008, Tick 2011]. Insbesondere die Frühgeburtlichkeit und die damit teilweise einhergehende Frühgeborenenretinopathie schienen einen signifikanten Einfluss auf die Ausprägung einer besonderen Foveaform zu haben [Villegas 2014, Wu 2012], welche dem Erscheinungsbild der fovealen Hypoplasie ähnelt.

Zur termingerechten Geburt ist die Fovea des Neugeborenen noch unreif [Hendrickson 1984, Youdelis 1986]. Die Entwicklung des OCT und moderner portabler OCT Geräte ermöglichte die physiologische Reifung der Fovea in-vivo zu untersuchen [Dubis 2012a; Maldonado 2011; Vajzovic 2012]. Es konnte gezeigt werden, dass der Reifungsprozess der Fovea bis über das fünfte Lebensjahr hinausgehen kann [Lee 2015]. Die signifikantesten Veränderungen, nämlich die Einwanderung und Elongation der Zapfen und die Auswanderung der inneren Netzhautschichten, wird aber innerhalb der ersten zwei Jahre nach der Geburt weitestgehend abgeschlossen [Lee 2015]. Bei einem Teil der untersuchten frühgeborenen Kinder konnte man den Reifungsprozess der Fovea ex-utero nachvollziehen und konnte zeigen, dass es histologischen Studien in-utero entspricht [Maldonado 2011, Vajzovic 2012].



**Abbildung 4:** Beispielaufnahmen fovealer Einzelscans und ihre dreidimensionale Oberflächenrekonstruktion (DRI-OCT Triton, Topcon, USA). (A) zentraler Einzelscan eines augengesunden termingeborenen 6-jährigen Kindes und (B) zentraler Einzelscan eines gleichaltrigen Kindes mit spontan regredierender Frühgeborenenretinopathie in der Anamnese.

Bereits 1964 berichtete Mann et al. bei einigen frühgeborenen Kindern über Schichten innerer Netzhaut, welche die Fovea überlagerten, sowie das Fehlen einer deutlich sichtbaren Foveaeinsenkung [Mann 1964]. Es folgten zahlreiche histologische und später in-vivo bildgebende Studien an kleineren Patientenzahlen mit ähnlichen Ergebnissen [Wu 2012, Villegas 2014]. Bei einem Teil der Frühgeborenen erkannte man persistierende Schichten innerer Netzhaut mit fehlender oder stark reduzierter fovealer Einsenkung auch im späteren Kindes- und Jugendalter [Recchia 2007, Ecsedy 2007, Lago 2007]. Die foveale avaskuläre Zone wurde als sehr klein oder kaum vorhanden beschrieben [Mintz-Hittner 1999]. Im Unterschied zur fovealen Hypoplasie von Patienten mit Albinismus, erscheinen die äußeren Netzhautbanden kaum verändert. So wurden in histologischen Studien und in Studien mit OCT vergleichbar elongierte Zapfen und Zapfenaußensegmente gemessen [Vajzovic 2015]. Auch die Ausprägung der kuppelförmigen Wölbung der Äußeren nukläeren Schicht konnte im Vergleich zu termingeborenen Kindern in ähnlicher Form gezeigt werden [Sjöstrand 2017].

Die unklare Auswirkung der morphologisch deutlich veränderten Foveae frühgeborener Kinder ließen Maldonado et al. 2011 die Forderung nach zukünftigen Langzeitstudien zur Nachverfolgung frühgeborener Kinder mit geeigneter fovealer tomographischer Bildgebung verfassen - in Korrelation mit altersangepassten Methoden zur Messung

fovealer Funktion zum besseren Verständnis der Struktur-Funktions-Korrelation der beschriebenen Veränderungen.

### **1.3. Retinale Funktionsdefizite bei frühgeborenen Kindern**

Die Annahme, dass eine foveale Einsenkung und die zentrifugale Verlagerung innerer Netzhautschichten aus der Fovea centralis für die Ausbildung einer ausreichend guten Sehschärfe Voraussetzung ist, ist strittig [Dubis 2012, Marmor 2008, Provis 2013]. Eine direkte Korrelation der fovealen Einsenkung mit gemessener bestkorrigierter Sehschärfe basiert auf Untersuchungen an Patienten mit fovealer Hypoplasie bei okulärem Albinismus [Thomas 2011]. Andere Studien bei Patienten mit ähnlichen Ausprägungen fovealer Hypoplasie zeigten teilweise gegensätzliche Ergebnisse mit reduzierter bis normaler Sehschärfe [Marmor 2008, Wang 2012, Yanni 2012, Nolan 2008, Wanger-Schuman 2011]. Marmor et al. konnten nachweisen, dass eine fehlende foveale Vertiefung mit reduzierter avaskulärer Zone bei einer geringen Anzahl von Probanden nicht zwangsweise zur reduzierten Sehschärfe und reduzierten Amplituden im multifokalem Elektretinogramm führte [Marmor 2008].

Eine Vielzahl von Studien konnte eine reduzierte Funktion der gesamten Netzhaut frühgeborener Kinder mit und ohne Frühgeborenenretinopathie nachweisen. Reduzierte Stäbchen-assoziierte Antworten im Ganzfeld-Elektretinogramm konnten sowohl bei Neugeborenen mit ROP in der Anamnese, als auch bei Kindern in der mittleren und späten Kindheit demonstriert werden [Harris 2011, Fulton 1995, Fulton 2001]. Die am häufigsten gemessene visuelle Funktion, welche auf die Fovea centralis und die fovealen Zapfen zurückgeführt wird, ist die bestkorrigierte Sehschärfe. In der Langzeitnachverfolgung zur späten Kindheit der Studienteilnehmer der CRYO-ROP- und ETROP-Studien zeigten nahezu zwei Drittel der frühgeborenen Kinder eine signifikante Visusreduktion [Palmer 2005, Dobson 2011]. Unterstützt werden die reduzierten Sehschärfe-Ergebnisse durch Defizite der Zapfen-abhängigen post-rezeptoralen Aktivität gemessen am multifokalen Elektretinogramm bei frühgeborenen Kindern [Fulton 2005]. Die funktionell beeinträchtigten Messwerte waren in den einigen Studien nicht nur bei Frühgeborenen mit behandelter ROP, sondern in vielen Fällen auch bei Kindern mit milden spontan regredienten ROP-Formen nachweisbar [Bowl 2016, 2019].

## 2. Fragestellung und Thematik der Studien

Die vorangegangenen Studien zeigen deutlich, dass retinale Funktionseinschränkungen bei frühgeborenen Kindern nicht nur in der mittelperipheren und peripheren Netzhaut zu erwarten sind, in der Entwicklungsstörungen oberflächlicher Gefäße möglich sind.. Vielmehr scheint die Fovea centralis, welche sich sogar noch zur termingerechten Geburt in der Entwicklung befindet, für Störungen anfällig zu sein. Eine direkte Korrelation von Sehschärfeeinschränkungen und Zapfen-abhängigen Antworten des multifokalen Elektroretinogramms mit der fovealen Reifungsstörung bei diesen Kindern konnte bisher nicht zweifelsfrei nachgewiesen werden. Vielfach spielen weitere pathologische Faktoren, wie neurologische Defizite und Entwicklungsstörungen, Aufmerksamkeitsdefizite, Amblyopien bei Strabismus und refraktiven Störungen und nicht zuletzt die teilweise mit unterschiedlichen Methoden behandelte Frühgeborenenretinopathie als zusätzliche Faktoren bei Funktionsmessungen eine Rolle. Hinzu kommt die schwierige Abgrenzung des fovealen morphologischen Befundes frühgeborener Kinder zur fovealen Hypoplasie von Albinismus-Patienten.

In der vorliegenden Arbeit werden die Herausforderungen und Möglichkeiten des Einsatzes von Spectral-Domain Optischer Kohärenztomographie und Swept-Source Optischer Kohärenztomographie Angiographie in der morphologischen Diagnostik kindlicher Foveaveränderungen extrem-frühgeborener Kinder diskutiert. In den vorgestellten Originalarbeiten wurden die bildgebenden Methoden bei verschiedenen Altersstufen, vom Neugeborenen- und Säuglingsalter, über Kleinkindalter bis in die frühe und mittlere Kindheit eingesetzt und die Befunde zusammengetragen. Es wurden Methoden zur präzisen Analyse der Foveamorphologie- erarbeitet und Richtwerte für ihre Interpretation angezeigt. Ergebnisse von Messungen an den neuesten Geräteentwicklungen zur in-vivo Analyse der fovealen avaskulären Zone und der subfovealen Choroidea-Schichtdicke erweitern das Gesamtverständnis der morphologischen Gegebenheiten bei Kindern mit fovealer Reifungsstörung.

Zum Verständnis der Struktur-Funktions-Korrelation tragen außerdem die Entwicklung und Einsatz speziell entwickelter Untersuchungen zur schwellenbestimmenden fundus-kontrollierten Perimetrie bei Kindern bei. Diese Untersuchungen erweitern die klassischen Messungen der bestkorrigierten Sehschärfe erheblich, indem sie Fixationsungenauigkeiten negieren und präzise den Netzhautort möglicher Funktionsverluste anzeigen. Der Einsatz fundus-kontrollierter Perimetrie wird, wie auch die Sehschär-

febestimmung, die multifokale und Ganzfeld-Elektroretinographie und nicht zuletzt die chromatische Pupillometrie bei frühgeborenen Kindern in Korrelation fovealer Veränderungen besprochen. Zuletzt wird darauf eingegangen, welche nicht-invasiv messbaren morphologischen Parameter auch bei Neugeborenen zum Zeitpunkt des Frühgeborenen Screenings als Biomarker zur künftigen Funktionsentwicklung der Augen genutzt werden können.



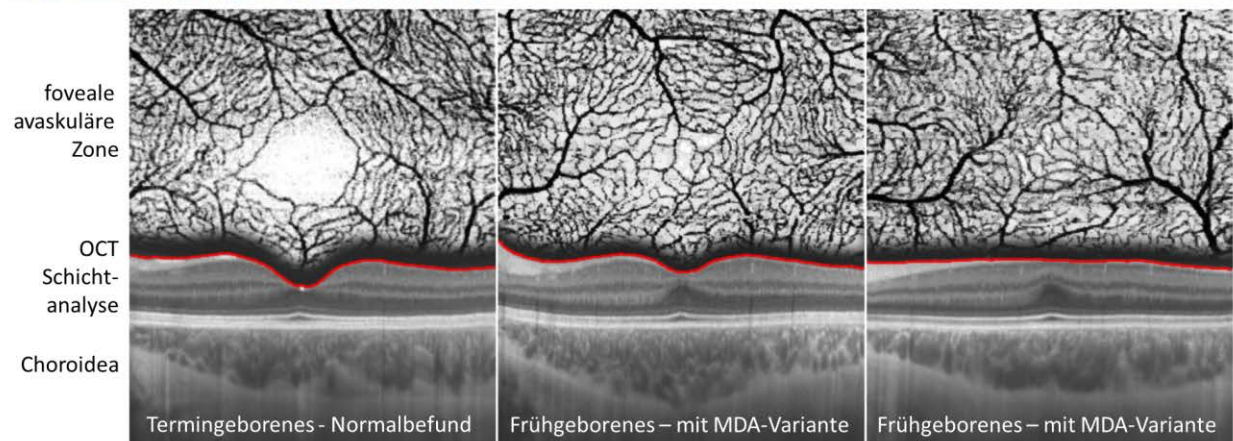
## 3. Ergebnisse und Diskussion

### 3.1. Graphische Kurzübersicht aller Studienergebnisse

#### Risikofaktoren für Auftreten der Makulären Entwicklungsstörung (MDA)

- Gestationsalter bei Geburt** -> je geringer das Gestationsalter, desto wahrscheinlicher das Auftreten der Makulären Entwicklungsstörung
- Gestationsgewicht bei Geburt** -> je geringer das Gestationsalter, desto wahrscheinlicher das Auftreten der Makulären Entwicklungsstörung
- Frühgeborenenretinopathie** -> ist ein möglicher Trigger, jedoch keine Voraussetzung zur Ausbildung einer Makulären Entwicklungsstörung

#### Beispiele retinaler Morphologie bei Vorschulkindern



#### Funktionseinbußen bei frühgeborenen Kindern mit Makulärer Entwicklungsstörung (MDA)

- Reduzierter Fernvisus** \* Bowl et al. 2016 <sup>(1)</sup>  
-> Fähigkeit, Symbole unter helladaptierten Bedingungen zu erkennen und das dargestellte Symbol zu benennen -> basierend auf dem kleinsten auflösbaren Winkel -> Zapfenvermittelt (Zapfensehbahn)
- Reduzierte zentrale Lichtunterschiedsempfindlichkeit unter helladaptierten Bedingungen** \* Bowl et al. 2016 <sup>(2)</sup>  
-> Fähigkeit, einen Stimulus vor einem Hintergrund zu erkennen -> Zapfenvermittelt (Zapfensehbahn)
- Red. postrezeptorale Aktivität der zentralen P1-Komponente im multifokalen Elektroretinogramm** \* Bowl et al. 2017 <sup>(3)</sup>  
-> P1-Komponente zeigt die Interaktion der Photorezeptorantwort (Zapfen) und den Potenzialen der nachgeschalteten Bipolarzellen der Netzhaut
- Reduzierte b-Wellen-Antworten im Ganzfeld-Elektroretinogramm** \* Bowl et al. 2017 <sup>(3)</sup>  
-> b-Welle als Mischantwort von Zapfen bzw. Stäbchen und der zugehörigen Bipolarzellen
- Reduzierte Pupillenreaktion auf rote Stimuli unter helladaptierten Bedingungen** \* Bowl et al. 2019 <sup>(4)</sup>  
-> Zapfenvermittelte Antwort, Netzhautfunktionalität wird aus unbewusster Pupillenreaktion extrapoliert (Zapfensehbahn)

#### In Studien eingesetzte Messmethoden

- ETDRS-Visustafeln** \* Bowl et al. 2016 <sup>(1)</sup>  
-> subjektives Verfahren, Verständnis und Benennung von Buchstaben erforderlich
- Modifizierte Funduskontrollierte Perimetrie unter hell- und dunkeladaptierten Bedingungen** \* Bowl et al. 2016 <sup>(2)</sup>  
-> subjektives Verfahren, einsetzbar ab ca. 5 Jahren; Erforderlich ist ein Verständnis für das Testverfahren und aktive Mitarbeit
- Chromatische Pupillometrie unter hell- und dunkeladaptierten Bedingungen** \* Bowl et al. 2019 <sup>(4)</sup>  
-> objektives Verfahren, einsetzbar ab 0 Jahren; Erforderlich ist die Duldung der Messapparatur (Brille) auf dem Kopf bzw. Gesicht
- Multifokale Elektroretinographie (mfERG)** \* Bowl et al. 2017 <sup>(3)</sup>  
-> objektives Verfahren; einsetzbar ab ca. 5 Jahren; Mydriasis, sowie Anbringen von Kontaktelektroden zur Durchführung notwendig, aktive Mitarbeit erforderlich
- Ganzfeld Elektroretinographie (ffERG)** \* Bowl et al. 2017 <sup>(3)</sup>  
-> objektives Verfahren; einsetzbar ab ca. 0 Jahren; Mydriasis, sowie Anbringen von Kontaktelektroden zur Durchführung notwendig
- Spectral-Domain Optische Kohärenztomographie (SD-OCT)** \* Bowl et al. 2016 <sup>(7)</sup>  
-> Darstellung der zentralen Netzhaut; Schichtanalysen einzelner Netzhautschichten; Als Tischgerät anwendbar ab ca. 3 Jahren; Als Handgehaltene Variante anwendbar ab Geburt
- Swept-Source Optische Kohärenztomographie (SS-OCT) und SS-OCT-Angiographie** \* Bowl et al. 2018 <sup>(5)</sup>  
-> Darstellung der zentralen Netzhaut; Darstellung der Choroidea, Darstellung der Netzhautgefäße des inneren und äußeren Plexus \* Bowl et al. 2017 <sup>(6)</sup>

### 3.2. Funduskontrollierte Perimetrie bei frühgeborenen Grundschulkindern mit und ohne Frühgeborenenretinopathie

Anlage 1:

**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.**

Bowl W, Lorenz B, Stieger K, Schweinfurth S, Holve K, Friedburg C, Andrassi-Darida M

Br J Ophthalmol. 2016 Sep;100(9):1238-44.

<http://dx.doi.org/10.1136/bjophthalmol-2015-307855>.

#### Zusammenfassung

Funktionelle Ergebnisse der Netzhaut frühgeborener Kinder wurden in mehreren Langzeitnachverfolgungsstudien untersucht [Holmström 1993 & 1998 & 1999 & 2008, Larsson 2003, CRYO-ROP 2001 & 2002, Dobson 2011, Good 2010, Quinn 2013]. Klassische Messparameter zur Beurteilung der Funktion zentraler Netzhaut waren die bestkorrigierte Sehschärfe mit zusätzlichen indirekten Faktoren wie hohen refraktiven Veränderungen, Strabismus oder Amblyopie. Niedriges Geburtsgewicht und geringes Gestationsalter, sowie die Schwere der Frühgeborenenretinopathie wurden als Risikofaktoren für signifikant schlechtere Funktion zentraler Netzhaut beschrieben [Fledelius 1996 & 2015, Holmström 2013, Mutlu 2013, Darlow 1997, O'Connor 2002, Wang 2013, McLoone 2006]. Bestkorrigierte Sehschärfe erlaubt nur einen indirekten Rückschluss auf strukturabhängige Funktionsveränderungen, insbesondere bei der getrennten Beurteilung zentraler fovealer und parafovealer Funktion. Ziel dieser prospektiven Langzeitnachverfolgungsstudie war die Evaluation spezifischer Parameter zur Messung der Funktion des zentralen hinteren Pols der Netzhaut bei frühgeborenen Kindern im Grundschulalter mit und ohne Frühgeborenenretinopathie. Die Studie demonstriert als erste ihrer Art den Einsatz funduskontrollierter Perimetrie bei frühgeborenen Kindern im Alter zwischen 6 und 13 Jahren, deren Ergebnisse mit bestkorrigierter Sehschärfe und im Zusammenhang mit objektiv dokumentierten Frühgeborenen-screening-Befunden beurteilt wurden.

Die Studienklientel war Teil einer großen multizentrischen Studie zur Beurteilung telemedizinischer Einsatzfähigkeit digitaler Weitwinkelaufnahmen [Lorenz 2009]. Alle

Augenbefunde der per Definition extrem-frühgeborener Studienprobanden wurden in der frühen postnatalen Phase entsprechend den geltenden augenärztlichen Screening-Kriterien mit der RetCam I (Massie Lab, CA, USA) objektiv dokumentiert [Lorenz 2009]. Aus dieser Kohorte nahmen in der aktuellen Studie insgesamt 100 Kinder ohne und 50 Kinder mit spontan regredienter Frühgeborenenretinopathie teil. Die Ergebnisse wurden 30 altersentsprechenden augengesunden, termingeborenen Kindern gegenübergestellt. Bestkorrigierte Sehschärfe wurde mit den Early Treatment of Diabetic Retinopathy Study (ETDRS)-Sehzeichentafeln erhoben. Die foveale und perifoveale Funktion wurde mit einem speziell an die kindliche Aufmerksamkeitsspanne angepasstes Testmuster an der fundus-kontrollierten Perimetrie erhoben. Die exakte Empfindlichkeitsschwelle wurde mit Stimuli der Größe Goldmann I gemessen, um geräte- und technisch-bedingte Boden- und Deckeneffekte bei der Messung zu vermeiden [Bowl 2013].

Es konnte gezeigt werden, dass die foveale (zentral bei 0° Exzentrizität) und perifoveale (bei 2,8° Radius Exzentrizität) Lichtunterschiedsempfindlichkeit sowie die bestkorrigierte Sehschärfe bei allen frühgeborenen Kindern signifikant schlechter war, als bei der altersentsprechenden Kontrollgruppe. Bei einer Exzentrizität von 8° Radius konnten keine signifikanten Unterschiede nachgewiesen werden. Die funktionellen Werte bei beiden Gruppen frühgeborener Kinder waren signifikant schlechter, je jünger die Kinder in Bezug auf das Gestationsalter und je leichter die Kinder zur Geburt waren. Die Gruppe Geburtsgewicht <1000gr und Gestationsalter  $\leq 28$  Wochen zeigten gegenüber älteren und schwereren frühgeborenen Gruppen die schlechtesten funktionellen Ergebnisse. Eine direkte Korrelation zwischen der fovealen Lichtunterschiedsempfindlichkeit bei 0° Exzentrizität und Sehschärfe konnte nicht nachgewiesen werden.

## **Diskussion**

Die Ergebnisse implizieren, dass die foveale und perifoveale Funktion extrem-frühgeborener Kinder reduziert ist. Dabei spielt sowohl das niedrige Gestationsalter als auch ein niedriges Geburtsgewicht eine Rolle. Der foveale Funktionsverlust war bei der Gruppe mit dem schwersten Stadium der Frühgeborenenretinopathie signifikant größer, als bei den leichteren Stadien. Das niedrige Geburtsgewicht und Gestationsalter zeigten jedoch einen größeren Einfluss auf die gemessene retinale Funktion. Die Frühgebo-

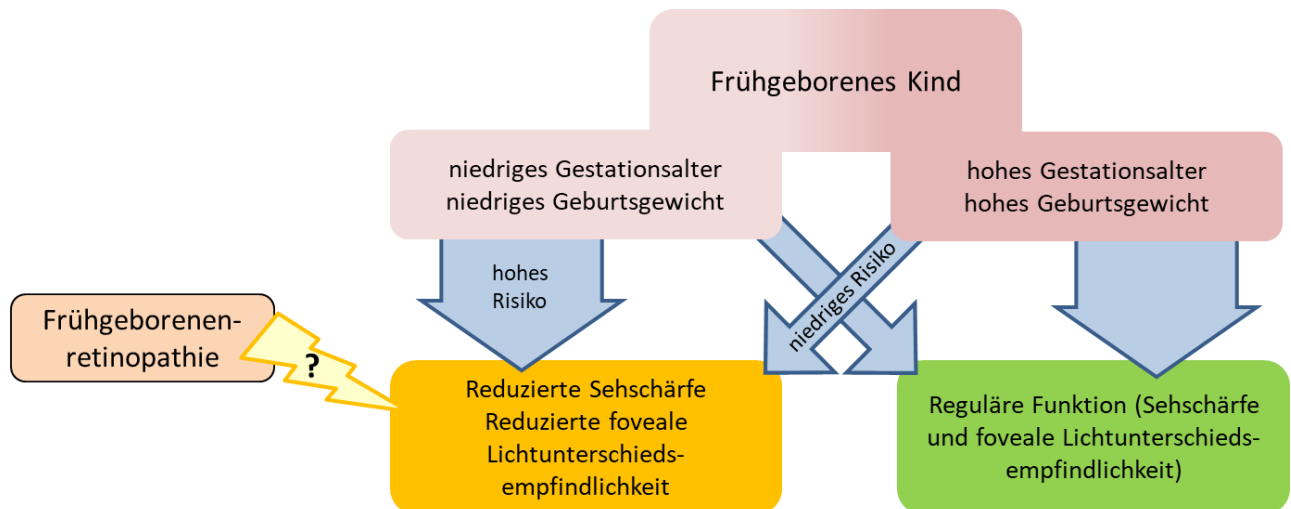
renenretinopathie muss aber als ein zusätzlicher Faktor, welcher die Funktion beeinflussen könnte, berücksichtigt werden.

Bestkorrigierte Sehschärfe wurde als Standard-Messparameter zur Ermittlung retinaler Funktion verwendet [15-24]. In mehreren Studien zur morphologischen Untersuchung des hinteren Netzhautpols konnten bei Kindern eine verzögerte makuläre Reifung mit verbliebenen Schichten innerer Netzhaut gezeigt werden. Bestkorrigierte Sehschärfe mit ETDRS-Testbuchstaben gilt als Methode der Zielerkennung und bedarf der Auflösung von mindestens drei Kontrastlinien mit jeweils einer Breite von einer Bogenminute auf einem 5 Bogenminuten großen Buchstaben [Bailey 1976]. Die getestete Person muss das Objekt erkennen und benennen [Bailey 1976]. Aufgrund der fehlenden Fixationskontrolle kann das Gebiet um den Buchstaben herum gescannt oder durch Mikrosakkaden abgetastet werden. Ein feiner Funktionsverlust im Zentrum der Fovea könnte so unerkant bleiben.

Eine individuelle Korrelation für jeden einzelnen Teilnehmer der Studie zwischen gemessener Sehschärfe und zentraler Lichtunterschiedsempfindlichkeit konnte statistisch nicht nachgewiesen werden. Eine Möglichkeit zur Erklärung wäre die unterschiedliche Physiologie, welche durch die beiden Methoden getestet wird: Mehrere definierte Kontrastwechsel bei der Sehschärfeprüfung oder Lichtunterschied zwischen Hintergrund und Stimulus bei der funduskontrollierten Perimetrie. Die zweite Möglichkeit liegt im Testverfahren und der Ergebnisinterpretation des Sehschärfeergebnisses, denn die Norm der Sehschärfeverteilung der Bevölkerung gleicht einer Glockenkurve mit einem Maximum bei 20/20 (Snellen). Individuelle Ergebnisse können auch deutlich über oder unter der Norm liegen, ohne für den Patienten pathologisch zu sein. Somit kann ein Ergebnis von 20/20 für ein frühgeborenes Kind als Normal oder gegenüber seiner theoretischen Möglichkeit leicht reduziert sein.

Die in der Originalarbeit zugrunde gelegte Untersuchung der Lichtunterschiedsempfindlichkeit mit dem kleinstmöglichen technisch darstellbaren Stimulus (Goldmann I) an der funduskontrollierten Perimetrie erweitert die funktionelle Analyse des hinteren Netzhautpols nicht nur zentral in der Fovea ( $0^\circ$ ), sondern auch bei perifovealen ( $2,8^\circ$ ) und weiter peripher gelegenen Stimulationsorte ( $8^\circ$ ). Die Fundus-Kontrolle ermöglicht eine exakte Positionierung der Stimuli auf definierte Netzhautstellen und verhindert Suchbewegungen durch Fixationsveränderungen. Zusätzlich hat die Reduktion der Goldmann-Größe den Vorteil, kleinere Defekte zu erfassen und sie örtlich genau zu

bestimmen [Bowl 2013]. Es konnte gezeigt werden, dass bei frühgeborenen Kindern die zentraler gelegenen ( $0^\circ$  und  $2,8^\circ$ ) Stimulationsorte signifikant schlechter waren als bei altersentsprechenden termingeborenen Kindern. Die weiter peripher gelegenen Stimuli ( $8^\circ$ ) zeigten keine signifikanten Differenzen, sodass die Ergebnisse darauf hinweisen, dass die messbaren funktionellen Einschränkungen bei der Lichtunterschiedsempfindlichkeit sich auf den fovealen Bereich bei Frühgeborenen beschränken.



**Abbildung 5:** Quintessenz aus Originalpublikation (Anlage 1). Frühgeburt kann bei einem niedrigen Geburtsgewicht und niedrigem Gestationsalter (in Abhängigkeit von der Unreife der Kinder) zu einer Sehschärfe- und fovealer Lichtunterschiedsempfindlichkeitsminderung (LIS) führen. Die Frühgeborenenretinopathie erscheint als eine zusätzliche Pathologie, welche evtl. zentrale die Funktionsminderung beeinflusst, jedoch nicht zwangsläufig auslöst.

### 3.3. Makuläre Struktur-Funktions-Korrelation bei frühgeborenen Grundschulkindern mit und ohne Frühgeborenenretinopathie

Anlage 2:

#### **OCT-Based Macular Structure-Function Correlation in Dependence on Birth Weight and Gestational Age-the Giessen Long-Term ROP Study.**

Bowl W, Stieger K, Bokun M, Schweinfurth S, Holve K, Andrassi-Darida M, Lorenz B.

Invest Ophthalmol Vis Sci. 2016 Jul 1;57(9):OCT235-41.

<http://dx.doi.org/doi: 10.1167/iovs.15-18843>.

#### **Zusammenfassung**

Die in der vorbeschriebenen Studie erfassten funktionellen Nachteile im fovealen und perifovealen Bereich bei extrem-frühgeborenen Kindern im Grundschulalter wurden mit Ergebnissen der Einzelschichtsegmentierung der optischen Kohärenztomographie (OCT) korreliert. In der bis heute einzigartigen Studie wurde die speziell entwickelte automatische OCT-Segmentierungssoftware und die OCT A-Scan Analyse zur Beurteilung der Photorezeptoraußensegmente verwendet, um eine exakte Struktur-Funktions-Korrelation mit der fundus-kontrollierten Perimetrie bei einer hohen Zahl von extrem-frühgeborenen Kindern zu ermöglichen.

Zur detaillierten Struktur-Funktions-Korrelation wurden Einzel- und Volumenscans am Spectral-Domain OCT der kindlichen Makula durchgeführt. An der Studie nahmen 100 Kinder ohne und 50 Kinder mit spontan regredienter ROP teil, deren ophthalmologischer Screening-Befund mithilfe digitaler Weitwinkelaufnahme objektiv dokumentiert wurde [Lorenz 2009]. OCT Einzelschichtsegmentierung erfolgte mit einer speziell angefertigten Software (DiOCTA, JLU Gießen [Ehnes 2015]). Punktgenaue Messungen einzelner Netzhautschichten wurden mit fundus-kontrollierten Lichtunterschiedsempfindlichkeiten bei 0°, 2,8° und 8° Exzentrizität überlagert und korreliert. Zusätzlich erfolgten Kontrollmessungen von Flächenschichtdicken, basierend auf international gebräuchlichem Early Treatment of Diabetic Retinopathy (ETDRS)-Messgitter. Die Ergebnisse wurden insgesamt 30 altersentsprechenden augengesunden, termingeborenen Kindern gegenübergestellt.

Bei der Einzelschichtanalyse im fovealen Bereich zeigte sich sowohl in der punktuellen zentralen Messung, als auch im zentralen ETDRS-Gittersegment eine signifikante Verdickung der gesamten Netzhaut, der Ganglien-Zellschicht mit Innerer plexiformer Schicht (GCL+IPL), der inneren Körnerschicht mit äußerer plexiformen Schicht (INL+OPL) und der äußeren nukleären Schicht mit äußerer plexiformen Schicht (ONL+OPL) bei den Gruppen extrem-frühgeborener Kinder. Alle peripherer gelegenen Messpunkte und Messflächen des ETDRS-Gitters zeigten keine signifikanten Veränderungen. Auch Messungen der Zapfen- und Stäbchenaußensegmente zeigten keine signifikanten Änderungen. Interessanterweise zeigten die Verdickungen der Einzelschichten im OCT keine Korrelation zum demonstrierten Verlust der Lichtunterschiedsempfindlichkeit im Zentrum.

Eine spezielle Einzeldarstellung zentraler Schichten verdeutlichte jedoch einen bisher nicht beschriebenen Zusammenhang zwischen den absoluten Dicken äußeren Netzhautschichten und der Gesamtsumme innerer Netzhautschichten (ONL/IRL-Verhältnis). Dieses Missverhältnis trat in einem hohen Prozentsatz aller extrem-frühgeborenen Kinder auf und korrelierte sowohl mit reduzierter Sehschärfe, als auch mit reduzierter zentraler Lichtunterschiedsempfindlichkeit. Wir empfehlen für dieses Missverhältnis der Schichten zueinander den Begriff der Makulären Entwicklungsstörung (Macular Developmental Arrest = MDA) – einen Begriff, welcher die Befunde „flachere oder abwesende foveale Vertiefung“, „Fovea mit überlagernden Schichten innerer Retina“ und „Missverhältnis zwischen der Äußeren nukleären und inneren Netzhautschichten“ vereint.

## **Diskussion**

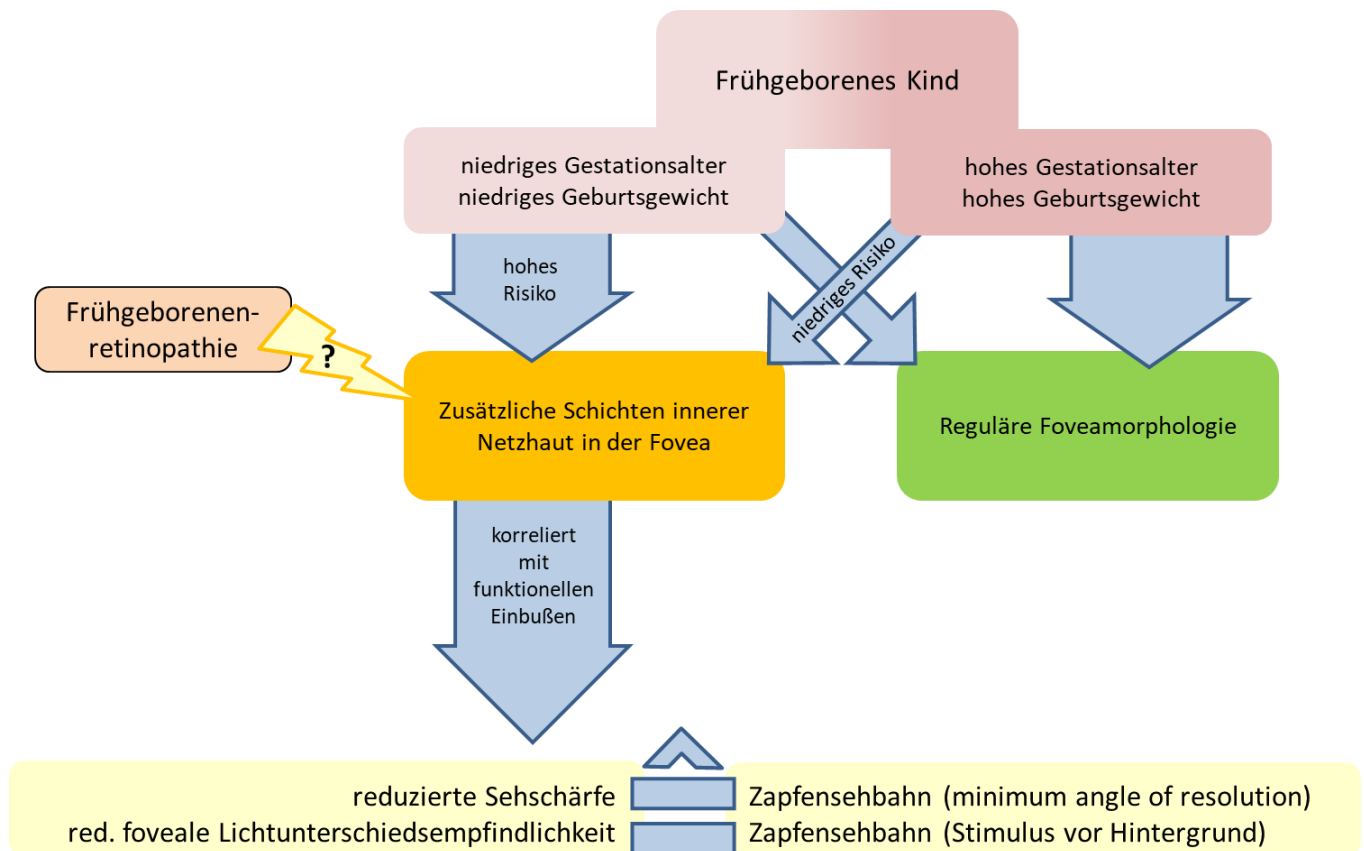
In der präsentierten Studie ist es gelungen, die morphologischen Veränderungen bei frühgeborenen Kindern in der Kohärenztomographie nachzuweisen und diese Veränderungen eindeutig einer reduzierten zentralen Lichtunterschiedsempfindlichkeit zuzuordnen. Eine präzise Funduskontrolle erlaubte eine punktgenaue Messung der Funktion an den angepeilten Stimulationsorten. Der gemessene Verlust der Lichtunterschiedsempfindlichkeit korrelierte signifikant mit einem reduzierten Verhältnis von ONL+ zu IRL, während die gemessene bestkorrigierte Sehschärfe keine Korrelation zuließ. Das errechnete Verhältnis erlaubte eine „Entweder/Oder“ Entscheidung in Bezug auf das Vorhandensein einer Makulären Reifungsstörung. Danach hatten 29,3%

aller frühgeborenen Kinder ohne ROP unserer Kohorte und 39,6% aller frühgeborenen Kinder mit spontan regredienter ROP eine Makuläre Reifungsstörung. Dabei schien aber nicht die Frühgeborenenretinopathie eine relevante Rolle zu spielen, sondern vielmehr die Tatsache, dass Kinder mit spontan regredienter ROP ein niedrigeres Gestationsalter und Geburtsgewicht vorwiesen als Kinder ohne ROP.

Die zusätzlich zur Einzelschichtanalyse gemessene Dicke der Photorezeptoraußensegmente im fovealen Zentrum und parafovealen Messpunkten zeigte, dass sowohl die Zapfen- als auch die Stäbchenaußensegmente die reguläre und zu termingeborenen Kindern vergleichbare Länge hatten. Diese Ergebnisse implizierten eine reguläre und zu termingeborenen Kindern entsprechende Entwicklung der Zapfen und Stäbchen, sodass die Funktionsstörung, gemessen am funduskontrollierten Perimeter wahrscheinlich im Bereich der inneren Netzhaut oder dem Übergang äußerer zu innerer Netzhaut zu lokalisieren wäre.

Deutlich wurde in dieser Studie, dass die Makuläre Entwicklungsstörung bei extremfrühgeborenen Kindern sowohl mit als auch ohne Frühgeborenenretinopathie auftritt und die zentrale retinale Funktion beeinträchtigt. Extrem-Frühgeborene mit einer regulär ausgebildeten Foveamorphologie haben eine zu altersentsprechenden termingeborenen Kindern vergleichbare foveale Netzhautfunktion.





**Abbildung 6:** Quintessenz aus Originalpublikationen (Anlage 1 und 2). Frühgeburt kann bei einem niedrigen Geburtsgewicht und niedrigem Gestationsalter (in Abhängigkeit von der Unreife der Kinder) zu einer Makulären Reifungsstörung führen, welche ihrerseits zur reduzierten Sehschärfe und reduzierter fovealer Lichtunterschiedsempfindlichkeit führt. Die Frühgeborenenretinopathie erscheint als eine zusätzliche Pathologie, welche evtl. zentrale die Funktionsminderung beeinflusst, jedoch nicht zwangsläufig auslöst.

### 3.4. Einfluss Makulärer Reifungsstörung auf elektretinographisch messbare Potentiale

Anlage 3:

#### **Einfluss der Makulareifung auf Ganzfeld- und multifokales ERG bei ehemaligen Extremfrühgeborenen mit und ohne akute Frühgeborenenretinopathie.**

[The Impact of Macular Development on Full-field and Multifocal ERG in Extremely Preterm-born Children with and without Acute Retinopathy of Prematurity].

Bowl W, Schweinfurth S, Holve K, Stieger K, Lorenz B, Andrassi-Darida M.

Klin Monbl Augenheilkd. 2017 Oct;234(10):1235-1242.

<http://dx.doi.org/doi: 10.1055/s-0043-118830>.

#### **Zusammenfassung**

Wie bereits in der vorangegangenen Arbeit diskutiert, kann die zentrale Netzhaut extrem-frühgeborener Kinder durch eine Makuläre Entwicklungsstörung betroffen sein. Das Erscheinungsbild der abgeflachten Fovea, verbreiteter Gesamtretna mit überlagernden inneren Netzhautschichten und ein Missverhältnis zwischen der äußeren und inneren Schichtdicke führt zu signifikant reduzierter zentraler Lichtunterschiedsempfindlichkeit und bestkorrigierter Sehschärfe. Ziel dieser Studie war die Korrelation struktureller fovealer Veränderungen mit funktionellen objektiven elektrophysiologischen Methoden bei Grundschulkindern mit spontan regredienter oder ohne Frühgeborenenretinopathie.

Im Rahmen der prospektiven Studie zur Langzeitnachverfolgung morphologischer und struktureller Ergebnisse nach Extremfrühgeburt mit objektiver Dokumentation ophthalmologischer Befunde wurden 15 Kinder mit spontan-regredienter und 45 Kinder ohne ROP in der Anamnese untersucht und mit den Befunden von 10 augengesunden, termingeborenen Kindern verglichen. Bei jedem Kind wurden zur Erhebung objektiver funktioneller Daten jeweils ein Ganzfeld- und multifokales Elektretinogramm (ERG) nach ISCEV-Standards durchgeführt. Eine Einzelschichtanalyse des hinteren Netzhautpols wurde an SD-OCT-Daten aller Kinder durchgeführt, um den Grad Makulärer Reifungsstörung zu berechnen und die Ergebnisse entsprechend zu korrelieren.

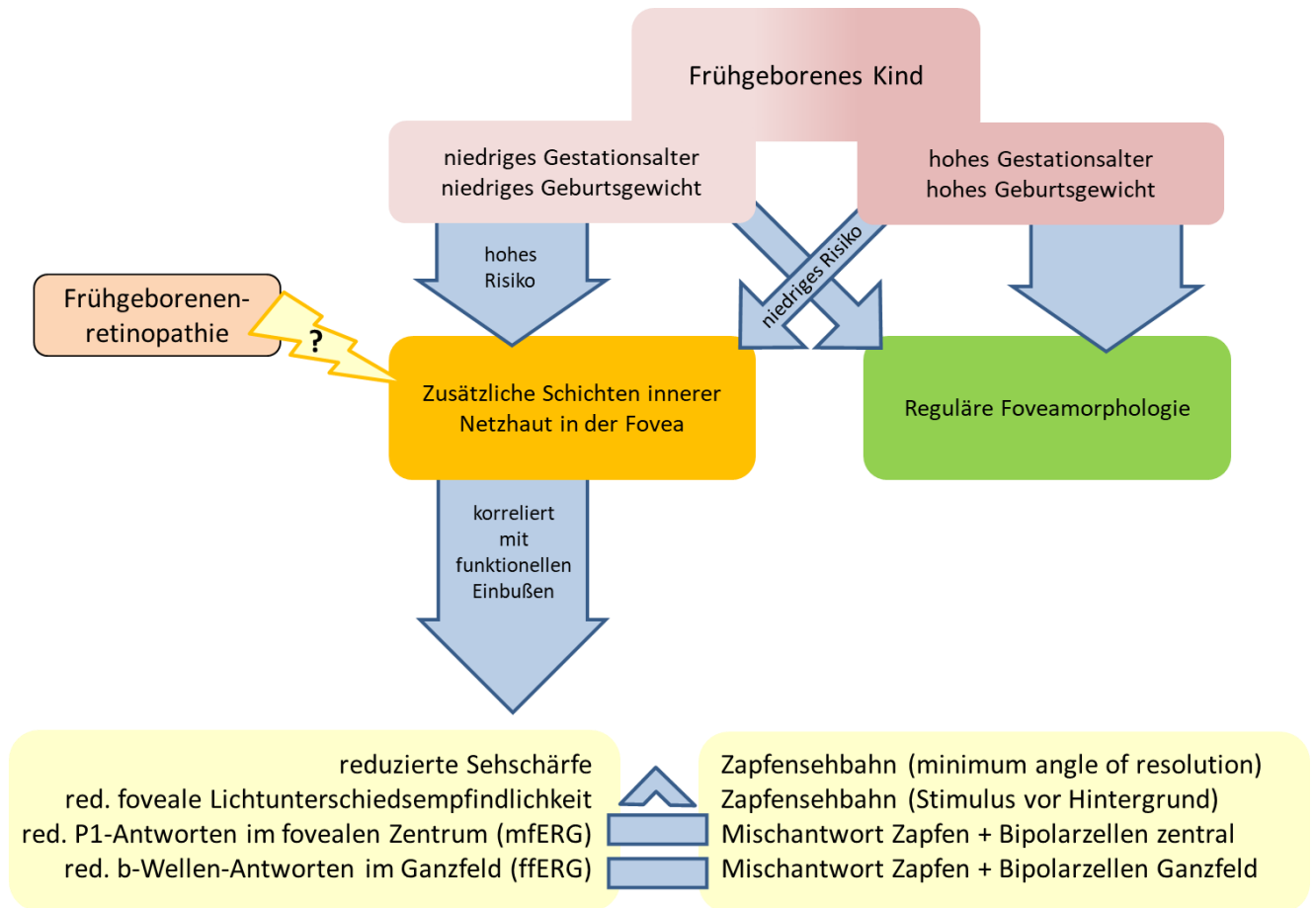
Das skotopische Ganzfeld-ERG zeigte signifikant reduzierte b-Wellen-Antworten bei frühgeborenen Kindern, wenn gleichzeitig eine Makuläre Reifungsstörung im OCT vorlag. Im multifokalen ERG zeigte die P1-Komponente des zentralen Hexagons und des 2. konzentrischen Ringes bei Kindern mit einer Makulären Reifungsstörung ebenfalls reduzierte Werte.

## **Diskussion**

In dieser Arbeit wurde zum ersten Mal eine Korrelation morphologischer Daten der Foveaentwicklung mit objektiven elektrophysiologischen Daten frühgeborener Kinder durchgeführt. Sowohl bei frühgeborenen Kindern mit spontan regredienter Frühgeborenenretinopathie, als auch bei Kindern ohne Frühgeborenenretinopathie konnten funktionelle Verluste in beiden Testverfahren gezeigt werden.

Wie bereits in den beiden vorbeschriebenen Originalarbeiten hingen die gemessenen funktionellen Einbußen mit der im OCT nachweisbaren Makulären Entwicklungsstörung bei extrem-frühgeborenen Kindern zusammen. Insbesondere die zentrale P1-Komponente im multifokalen ERG zeigten deutliche Korrelationen zur veränderten Foveamorphologie, welches durch die Interaktion der Zapfenantwort und den Potenzialen der Bipolarzellen [Hare 2002, Hood 2002] entsteht. Die gleichzeitig signifikant reduzierte b-Wellen-Antwort im Ganzfeld-ERG bestätigte die Beteiligung der Bipolarzellen. Das Ganzfeld-ERG zeigte jedoch im Vergleich zum multifokalen ERG weniger differenzierbare Antworten, was vermutlich auf das größere getestete Gesichtsfeldbereich ohne örtlich aufgelöste Fovea zurückzuführen ist.

Die reduzierte b-Welle im skotopischen Ganzfeld-ERG und die reduzierte P1-Komponente im multifokalen ERG deuten auf eine Beteiligung der Bipolarzellen bei einer Makulären Entwicklungsstörung hin, was wiederum mit einer globaleren Reifungsstörung der Netzhaut einhergehen könnte. Die Geburtsparameter Gestationsalter und Geburtsgewicht, sowie die evtl. auftretende und behandlungsbedürftige Frühgeborenenretinopathie ermöglichen keine zuverlässige Vorhersage über die zu erwartende zentrale Netzhautfunktion. Objektivierbare Parameter, wie das Verhältnis der Äußeren nukleären Schicht zu inneren Netzhautschichten in der fovealen Mitte, könnten als wichtige Marker auch bei Kleinkindern mithilfe handgehaltener OCT-Geräte eingesetzt werden.



**Abbildung 7:** Quintessenz aus Originalpublikationen (Anlage 1, 2 und 3). Frühgeburt kann bei einem niedrigen Geburtsgewicht und niedrigem Gestationsalter (in Abhängigkeit von der Unreife der Kinder) zu einer Makulären Reifungsstörung führen, welche ihrerseits zur reduzierten Sehschärfe und reduzierter fovealer Lichtunterschiedsempfindlichkeit, reduzierten fovealen Antworten im multifokalen Elektroretinogramm (mfERG) und reduzierten b-Wellen (Bipolarzellen) im Ganzfeld-ERG (ffERG). Die Frühgeborenenretinopathie erscheint als eine zusätzliche Pathologie, welche evtl. zentrale die Funktionsminderung beeinflusst, jedoch nicht zwangsläufig auslöst.

### 3.5. Makuläre Reifungsstörung und zapfenvermittelte Funktion

Anlage 4:

**Cone-mediated function correlates to altered foveal morphology in preterm-born children at school age.**

Bowl W, Raouf S, Lorenz B, Holve K, Schweinfurth S, Stieger K, Andrassi-Darida M

Invest Ophthalmol Vis Sci. 2019 Apr 1;60(5):1614-1620

<http://dx.doi.org/doi:10.1167/iovs.18-24892>

#### Zusammenfassung

Die Netzhautreifung beginnt in der frühen pränatalen Periode [Akerblom 2014, Hendrickson 1992]. Die Differenzierung einzelner Zelltypen, die zentrifugale und zentripetale Migration ist erst mehrere Jahre nach der Geburt abgeschlossen [Provis 1985, Vajzovic 2012]. Zugleich zeigen Stäbchen bei termingeborenen Kindern nach der Geburt unreifere Signale gegenüber den Zapfen, gemessen mithilfe des Ganzfeld-ERGs, was auf eine langsamere Heranreifung schließen lässt [Zhou 2010, Hansen 2005]. Eine Heranreifung der Stäbchen findet in den Folgemonaten nach der Geburt statt [Birch 1992]. Bei frühgeborenen Kindern zeigen sowohl Stäbchen, als auch Zapfen unreife Signale nach der Geburt sowie eine langsamere Heranreifung in der kindlichen Entwicklung [Akerblom 2016; Harris 2011].

Die reduzierte Funktion in der Zapfensehbahn unter helladaptierten Bedingungen konnte mithilfe funduskontrollierter Perimetrie in den Vorarbeiten nachgewiesen werden. Dunkeladaptierte Perimetrie zur orts aufgelösten Evaluation der Stäbchenfunktion benötigt im Gegenzug ein Vielfaches an Testzeit, ermüdet des Patienten und beeinflusst somit die Zuverlässigkeit und Wiederholbarkeit der Untersuchung [Rohrschneider 2008]. Für die hier vorgestellte Studie entwickelten wir ein subjektives Verfahren zur dunkel- und helladaptierten chromatischen funduskontrollierten Perimetrie, welches auch unter deutlichen Fixationsschwankungen des Patienten zuverlässig funktioniert und korrelierten die Ergebnisse zu objektiven photopischen und skotopischen Antworten der chromatischen Pupillometrie. Dabei ist die Anwendung des Testverfahrens nicht-invasiv, leicht durchführbar und auch bei jungen Patienten mit minimaler Kooperations- oder Konzentrationsfähigkeit durchführbar.

Im Rahmen der prospektiven Studie zur Langzeitnachverfolgung morphologischer und struktureller Ergebnisse nach Extremfrühgeburt mit objektiver Dokumentation ophthalmologischer Befunde wurden 34 Kinder mit spontan-regredienter und 59 Kinder ohne ROP in der Anamnese untersucht und mit Befunden von 14 augengesunden, termingeborenen Kindern verglichen. Bei jedem Kind wurden zur Erhebung objektiver funktioneller Daten jeweils die chromatische Pupillometrie unter photopischen und skotopischen Bedingungen durchgeführt und zu den Ergebnissen der subjektiven funduskontrollierten Zwei-Farben-Perimetrie korreliert. Eine Einzelschichtanalyse des hinteren Netzhautpols wurde an SD-OCT-Daten aller Kinder durchgeführt, um den Index Makulärer Reifungsstörung zu berechnen.

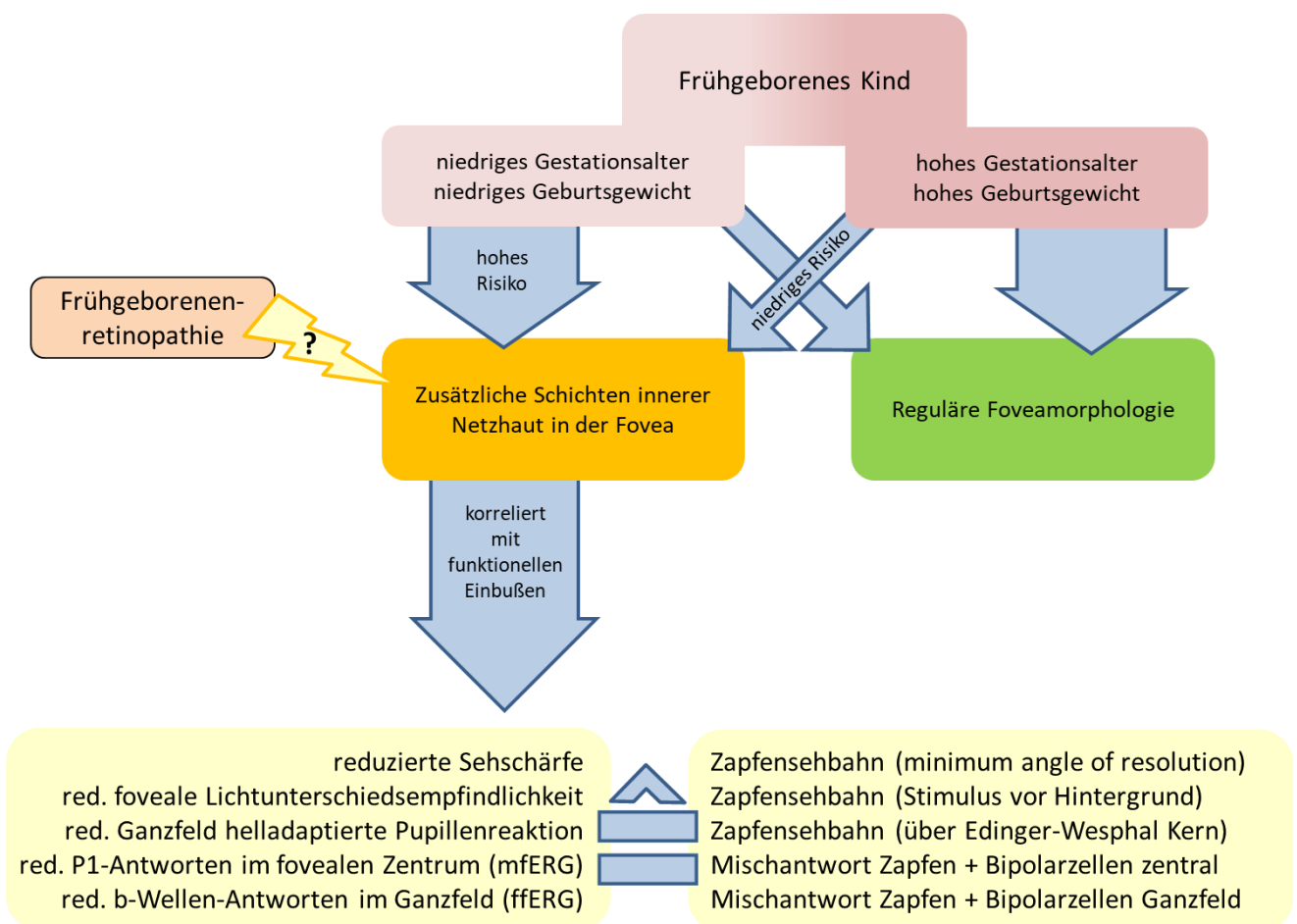
Die Pupillenreaktion auf die photopischen roten Stimuli (zapfenvermittelte Pupillenreaktion) zeigte sich bei allen frühgeborenen Kindern mit Makulärer Entwicklungsstörung signifikant vermindert. Entsprechend hierzu zeigten diese Kinder auch eine reduzierte Lichtunterschiedsempfindlichkeit für photopische Stimuli in der funduskontrollierten Perimetrie in der Fovea. Unter skotopischen Bedingungen zeigten weder die Pupillenreaktion, noch die Lichtunterschiedsempfindlichkeit signifikante Unterschiede in den verglichenen Gruppen.

## **Diskussion**

In dieser Arbeit wurde zum ersten Mal eine Korrelation morphologischer Daten der Foveaentwicklung mit objektiven Funktionsmessungen der Pupillometrie bei frühgeborenen Kindern durchgeführt. Ein neu entwickeltes Verfahren zur subjektiven skotopischen und photopischen Messung fovealer Sensitivität konnte ebenfalls erfolgreich zum ersten Mal bei frühgeborenen Kindern angewendet werden. Sowohl bei frühgeborenen Kindern mit spontan regredienter Frühgeborenenretinopathie, als auch bei Kindern ohne ROP konnten funktionelle Verluste der Zapfensehbahn in beiden Testverfahren gezeigt werden (Verschaltung über den Edinger-Westphal-Kern im Stammhirn). Die Stäbchensehbahn zeigte in beiden Testverfahren keine signifikanten Einbußen. Die Funktionsdefizite korrelierten wiederum signifikant mit der im OCT nachweisbaren Makulären Entwicklungsstörung bei frühgeborenen Kindern.

Quantitative funktionelle Diagnostik verschafft wertvolle Parameter zur Bestimmung des Ist-Zustandes oder des Verlaufs bei jeglichen Netzhauterkrankungen [Thompson 2015, Lorenz 2012, Lorenz 2017]. Bei den Testverfahren werden spezielle schmalban-

dige Stimuli verwendet, um zwischen zapfen- oder stäbchenvermittelte Antworten zu differenzieren. Sämtliche Verfahren benötigen aktive und kooperative Patienten. Das in der aktuellen Studie angewendete Verfahren der chromatischen Pupillometrie erlaubt eine objektive Messung funktioneller Parameter bei minimaler Mitarbeit des Patienten. Die gemessenen Antworten auf dargestellte Stimuli werden passiv durch die Pupillenlichtreaktion extrapoliert. Aufgrund der signifikanten Korrelation der objektiven funktionellen Ergebnisse gemessen mit der chromatischen Pupillometrie zu subjektiven funktionellen Ergebnissen der funduskontrollierten Perimetrie ist eine Erweiterung des Testverfahrens auch auf ein deutlich jüngeres Patienten Klientel denkbar.



**Abbildung 8:** Quintessenz aus Originalpublikationen (Anlage 1, 2, 3 und 4). Frühgeburt kann bei einem niedrigen Geburtsgewicht und niedrigem Gestationsalter (in Abhängigkeit von der Unreife der Kinder) zu einer Makulären Reifungsstörung führen, welche ihrerseits zur reduzierten Sehschärfe und reduzierter fovealer Lichtunterschiedsempfindlichkeit, reduzierten fovealen Antworten im multifokalen Elektroretinogramm (mfERG) und reduzierten b-Wellen (Bipolarzellen) im Ganzfeld-ERG (ffERG) und reduzierten zap-

fenvermittelter Pupillenreaktion führt. Die Frühgeborenenretinopathie erscheint als eine zusätzliche Pathologie, welche evtl. zentrale die Funktionsminderung beeinflusst, jedoch nicht zwangsläufig auslöst.



### 3.6. Makuläre Reifungsstörung und foveale avaskuläre Zone

#### Anlage 5

#### **OCT Angiography in Young Children with a History of Retinopathy of Prematurity.**

Bowl W, Bowl M, Schweinfurth S, Holve K, Knobloch R, Stieger K, Andrassi-Darida M, Lorenz B

Ophthalmol Retina. 2018 Sep;2(9):972-978.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.oret.2018.02.004>

#### **Zusammenfassung**

Die Optische Kohärenztomographie Angiographie (OCTA) ermöglicht eine nicht-invasive Untersuchung kleinster Kapillaren und Kapillarnetzwerke der inneren Netzhaut. In kleinen Studien konnte ein Zusammenhang zwischen der fovealen avaskulären Zone und Frühgeburtlichkeit hergestellt werden [Mintz-Hittner 1999, Yanni 2012]. Die vorliegende Studie zeigt als erste die Einsetzbarkeit der speziellen Technik der Swept-Source OCTA bei jungen Vorschulkinder ab dem 4. Lebensjahr zur Untersuchung des Einflusses der Makulären Reifungsstörung auf den oberflächlichen und tiefen Netzhautgefäßplexus von extrem-frühgeborenen Kindern.

Bei insgesamt 25 extrem-frühgeborenen Kindern mit behandelter oder spontan regredienter Frühgeborenenretinopathie wurde eine OCTA am DRI OCT Triton (SS-OCT, Topcon, USA) am jeweils besseren oder führenden Auge durchgeführt. Zusätzlich wurden Spectral-Domain OCT Aufnahmen zur Charakterisierung des ONL+/IRL-Verhältnisses zur Beurteilung Makulärer Reifungsstörung angefertigt. Eine Struktur-Funktions-Korrelation wurde mit bestkorrigierter Sehschärfe vorgenommen. Alle Befunde wurden zu 15 altersangepassten, augengesunden und termingeborenen Kindern und 20 Erwachsenen verglichen.

Die Tiefe der fovealen Einsenkung war signifikant niedriger bei beiden Frühgeborenen-Gruppen. Der Durchmesser der maximalen makulären Zirkumferenz (Makulawall) war jedoch bei allen Gruppen vergleichbar. Die OCT-Angiographie zeigte eine deutlich verengte oberflächliche avaskuläre Zone bei behandelten und unbehandelten frühgeborenen Kindern. Die tiefe avaskuläre Zone war, im Unterschied hierzu, in der Größe vergleichbar zur Gruppe altersentsprechender Kinder. Die verringerte foveale

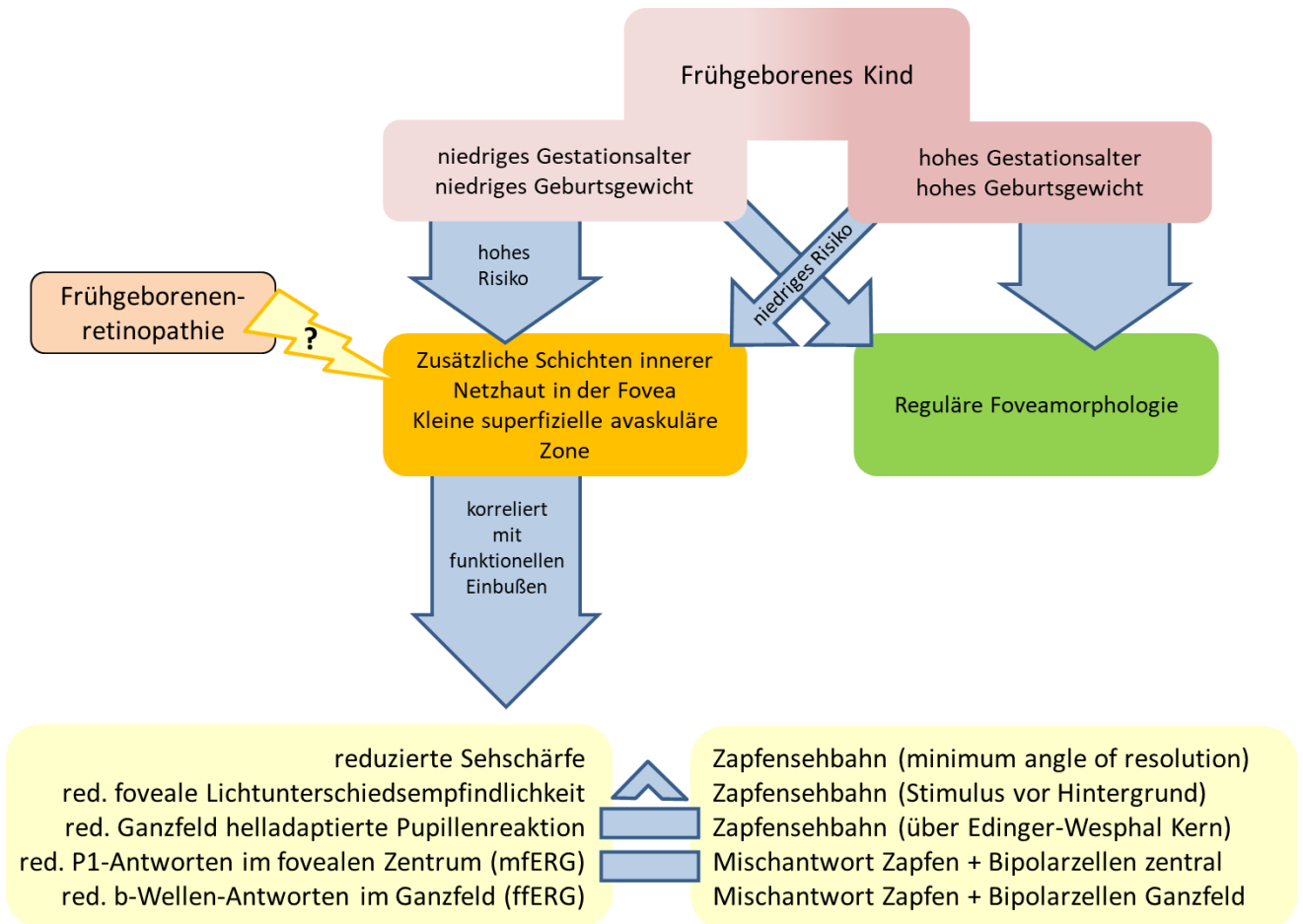
oberflächliche avaskuläre Zone korrelierte signifikant mit dem errechneten Index (ONL/IRL-Verhältnis) zur Beurteilung Makulärer Entwicklungsstörung und somit auch mit verringerter Sehschärfe in diesen Gruppen.

## **Diskussion**

In unterschiedlichen Studien konnte ein Zusammenhang zwischen den Dimensionen der fovealen avaskulären Zone, der fovealen Einsenkungstiefe, Breite und Volumen hergestellt werden [Chui 2012, Dubis 2012]. Die gemessenen fovealen Parameter unterschieden sich signifikant bei allen behandelten frühgeborenen Kindern und 60% der Kinder mit spontan regredienter Frühgeborenenretinopathie. Die Veränderungen gingen einher mit einem reduzierten ONL+/IRL-Verhältnis und mit einer deutlich verminderten oberflächlichen avaskulären Zone. Die oberflächliche avaskuläre Zone betrug im Schnitt bei Kindern mit einer makulären Reifungsstörung nur  $\frac{1}{4}$  der Größe der Zone bei termingeborenen Kindern.

Die Veränderung der avaskulären Zone des Gefäßplexus der inneren Netzhaut schien in der gemessenen Kohorte nur den oberflächlichen Plexus zu betreffen. Die Geometrie der tiefen Plexus war in allen gemessenen Kindern vergleichbar, unabhängig vom Vorhandensein einer Makulären Entwicklungsstörung.

In der vorliegenden Arbeit konnte demonstriert werden, dass eine Tisch-montierte OCT-Angiographie mit der Swept-Source-Technik bereits bei extrem-frühgeborenen Vorschulkindern durchführbar ist. Die Ergebnisse zeigen, dass eine verkleinerte foveale avaskuläre Zone, ein reduzierter Index der Makulärer Entwicklungsstörung und reduzierte Sehschärfe zusammenhängende Faktoren bei frühgeborenen Kindern sind. Die hohe Korrelation der Parameter ONL+/IRL-Verhältnis und der oberflächlichen avaskulären Zone machen beide Parameter interessant für zukünftige OCT-Messungen im Rahmen von Frühgeborenen-screening-Untersuchungen zur möglichen Entwicklungsvorhersage der zentralen Netzhaut.



**Abbildung 9:** Quintessenz aus Originalpublikationen (Anlage 1 bis 5). Frühgeburt kann bei einem niedrigen Geburtsgewicht und niedrigem Gestationsalter (in Abhängigkeit von der Unreife der Kinder) zu einer Makulären Reifungsstörung mit deutlich kleinerer oberflächlicher fovealen avaskulären Zone führen. Die veränderte foveale Morphologie führt ihrerseits zur reduzierten Sehschärfe und reduzierter fovealer Lichtunterschiedsempfindlichkeit, reduzierten fovealen Antworten im multifokalen Elektroretinogramm (mfERG) und reduzierten b-Wellen (Bipolarzellen) im Ganzfeld-ERG (ffERG) und reduzierten zapfenvermittelter Pupillenreaktion. Die Frühgeborenenretinopathie erscheint als eine zusätzliche Pathologie, welche evtl. zentrale die Funktionsminderung beeinflusst, jedoch nicht zwangsläufig auslöst.

### 3.7. Makuläre Reifungsstörung und subfoveale choroidale Schichtdicke

#### Anlage 6

#### **Choroidal Thickness with Swept-Source Optical Coherence Tomography versus Foveal Morphology in Young Children with a History of Prematurity.**

Bowl W, Bowl M, Schweinfurth S, Holve K, Andrassi-Darida M, Stieger K, Lorenz B

Ophthalmic Res. 2018;60(4):205-213.

<http://dx.doi.org/10.1159/000484631>.

#### **Zusammenfassung**

Ziel der Studie war es zu prüfen, ob eine Verbindung zwischen der Choroidea-Schichtdicke im subfovealen und perifovealen Bereichen sowie der fovealen Morphologie bei Kindern mit behandelter oder spontan regredienter Frühgeborenenretinopathie (ROP) besteht. Es sollte die Theorie geprüft werden, ob bei Makulärer Reifungsstörung es zu einer Unterversorgung der äußeren Netzhautschichten kommen kann und dies evtl. durch eine morphologische Messung der Choroidea-Schichtdicke nachweisbar ist.

Erstmals wurde mithilfe eines Swept-Source OCT (DRI-OCT Triton; Topcon, USA) die Choroidea-Schichtdicke an einem makulären Einzelscan bei jeweils dem besseren bzw. führenden Auge von 17 Vorschulkindern mit behandelter oder spontan regredienter ROP im Alter zwischen 4 und 7 Jahren (im Mittel 5,5 Jahre) gemessen. Von der subfovealen Messung ausgehend wurden Dickenmessungen alle 500µm bis 3mm nasal bzw. temporal durchgeführt. Das Verhältnis der äußeren nukleären Schicht (ONL) zur Summe inneren Netzhautschichten (IRL), segmentiert am OCT, wurde als Maßzahl zur Beurteilung makulärer Entwicklungsstörung herangezogen. Die morphologischen Ergebnisse wurden mit bestkorrigierter Sehschärfe (BCVA) korreliert. Sämtliche erhobenen Daten wurden zu 11 altersentsprechenden termingeborenen und augengesunden Vorschulkindern und 14 augengesunden Erwachsenen verglichen. Eine direkte Struktur-Funktions-Korrelation wurde zwischen subfovealer Choroidea-Schichtdicke, dem ONL/IRL-Verhältnis und der BCVA durchgeführt.

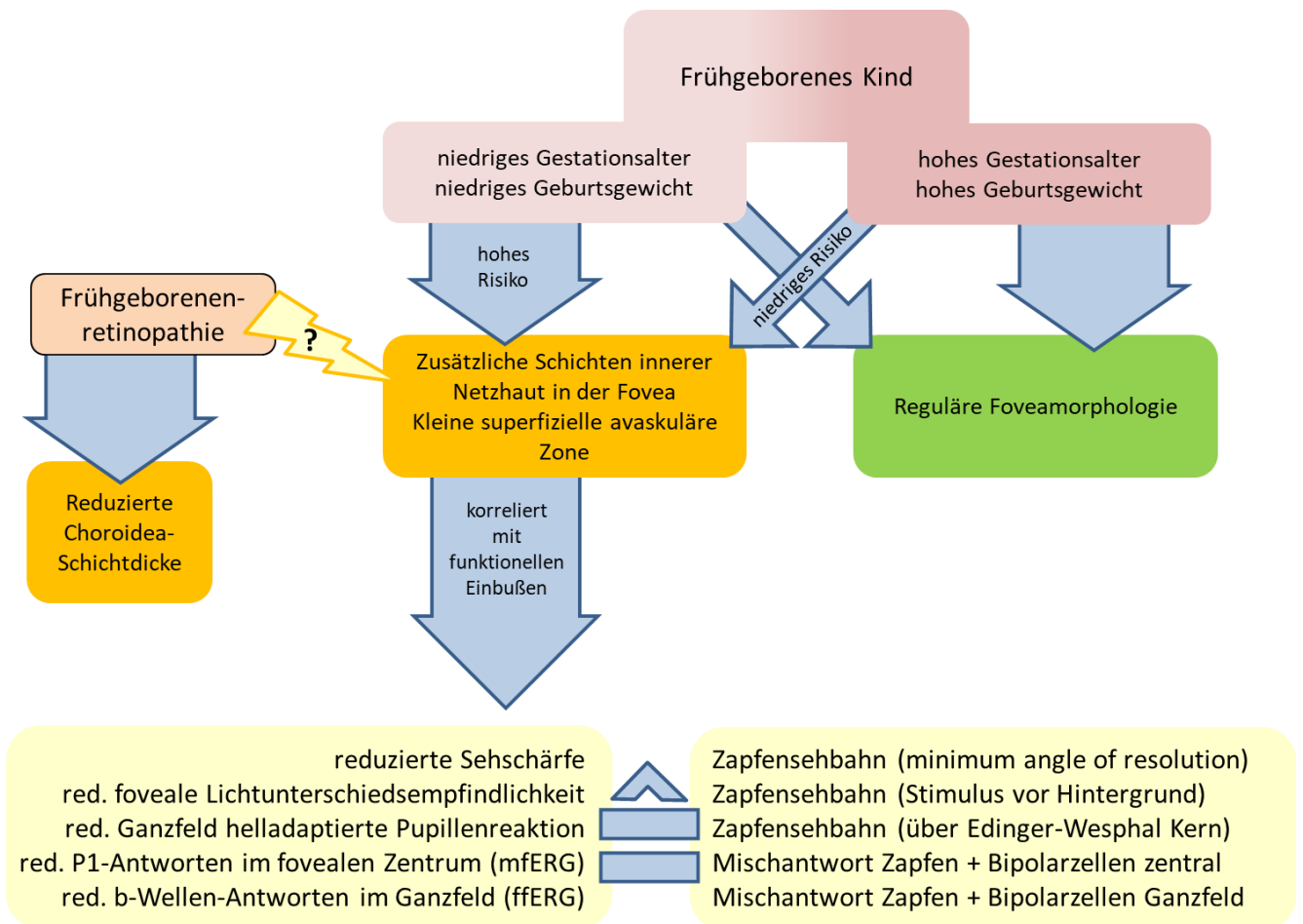
Die Analyse zeigte eine signifikant verminderte choroidale Schichtdicke in der Gruppe der Kinder mit behandelter ( $P < 0,001$ ) und spontan regredienter ROP ( $P < 0,001$ ) im

Vergleich zur Kontrollgruppe. Hierbei waren sowohl die subfoveale Choroideadicke als auch die temporale wie nasale Messung signifikant reduziert. Die Gruppe behandelter Kinder zeigte auch im Verhältnis zu spontan regredienter ROP Gruppe eine signifikante Choroidea-Dicken-Minderung ( $P < 0,001$ ). Ein Teil der frühgeborenen Kinder zeigte ein deutlich vermindertes ONL/IRL-Verhältnis, im Sinne einer makulären Entwicklungsstörung (100% der behandelten ROP und 67% der spontan regredienter ROP). Ein Zusammenhang zwischen fovealer Morphologie mit subfovealer Schichtdicke konnte nur tendenziell gezeigt werden. BCVA zeigte eine stärkere Korrelation zur makulären Entwicklungsstörung ( $R = 0,824$ ) als zu subfovealer Choroideadicke ( $R = 0,590$ ).

### **Diskussion**

Die Studie demonstrierte einen Zusammenhang zwischen choroidaler Schichtdicke und dokumentierter ROP, wobei die Schwere der ROP eine negative Korrelation zur choroidalen Schichtdicke zeigte. Im Mittel war die subfoveale Choroideadicke bei Kindern mit behandelter ROP um 34% dünner als in der Gruppe frühgeborener Kinder mit spontan regredienter ROP, wobei diese wiederum 22% dünner waren als die der termingeborenen Kinder. Diese Messergebnisse unterstützen die These einer choroidalen Beteiligung in der Entstehung der Frühgeborenenretinopathie [3]. Es wird vermutet, dass erniedrigte Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) Expression in der Aderhaut zu einer Rückbildung derselben führt. Entsprechende Ergebnisse konnten bisher aber nur am Sauerstoff-induzierten Tiermodell nachgewiesen werden [3]. Eine vermehrte Myopie-Häufung schied als Erklärung in unserer Kohorte aus. Ein besonderer Einfluss der Behandlungsmethode (Laser-Koagulation oder intravitreale anti-VEGF-Injektion) der Frühgeborenenretinopathie auf die Aderhautdicke wirkte in unserer Kohorte unwahrscheinlich, wobei in diesem Zusammenhang auf die geringe Fallzahl hingewiesen werden muss.

Die Befunde reduzierter subfovealer Choroideadicke überschneiden sich in vielen Fällen mit einer Makulären Entwicklungsstörung, zeigten aber keine signifikante Regelmäßigkeit. Die Vorhersage der Sehschärfe schien aber mit dem Parameter zur Beurteilung Makulärer Reifungsstörung besser zu gelingen. Ein direkter Zusammenhang zwischen Choroideaschichtdicke und der Entwicklung der Fovea erscheint somit unwahrscheinlich. Die Choroideadicke könnte sich aber als prognostischer Parameter in Bezug auf die Schwere der Frühgeborenenretinopathie als wertvoller Biomarker erweisen.



**Abbildung 10:** Quintessenz aus Originalpublikationen (Anlage 1 bis 6). Frühgeburt kann bei niedrigem Geburtsgewicht und Gestationsalter zu einer Makulären Reifungsstörung mit deutlich kleinerer oberflächlicher fovealen avaskulären Zone führen. Die veränderte foveale Morphologie führt zur reduzierten Sehschärfe, reduzierter fovealer Lichtunterschiedsempfindlichkeit führt, reduzierten fovealen Antworten im multifokalen Elektroretinogramm (mfERG), reduzierten b-Wellen (Bipolarzellen) im Ganzfeld-ERG (ffERG) und reduzierten zapfenvermittelter Pupillenreaktion. Die Frühgeborenenretinopathie (ROP) kann als zusätzlicher Co-Faktor bei der Entstehung der MDA fungieren. Insbesondere behandelte ROP geht mit einer verminderten Aderhautdicke einher.

### 3.8. Einsatz handgehaltener OCT-Geräte bei Neugeborenen

#### Anlage 7

**Handgehaltene optische Kohärenztomographie in pädiatrischer Ophthalmologie: Erfahrung der Gießener Universitätsaugenklinik.**

[Handheld Optical Coherence Tomography in Paediatric Ophthalmology: Experience of the Department of Ophthalmology in Giessen].

Bowl W, Andrassi-Darida M, Holve K, Schweinfurth S, Knobloch R, Lorenz B.

Klin Monbl Augenheilkd. 2016 Oct;233(10):1142-1148.

<http://dx.doi.org/10.1055/s-0042-114042>

#### Zusammenfassung

In den bereits präsentierten Studien ist die Bedeutung der Optischen Kohärenztomographie zur Evaluation fovealer Morphologie bei frühgeborenen Vorschul- und Grundschulkindern und somit ihrer Möglichkeit des indirekten Vorhersagewertes retinaler Funktion deutlich geworden. Das bei erwachsenen Patienten bewährte Verfahren konnte sich bei kleineren und jüngeren Patienten weniger durchsetzen, da Geräte am Tisch montiert und mit einer Kinn- und Stirnstütze zur Kopffixation versehen sind. Eine erfolgreiche Untersuchung kann jedoch nur bei einem Patienten durchgeführt werden, der zumindest für eine kurze Zeit in der Lage ist in aufrechter Haltung Anweisungen verstehen und umsetzen.

In dieser Arbeit wird von der Nutzung eines in Deutschland bis zum Jahre 2017 einzigartigen Gerätes zur handgehaltenen Optischen Kohärenztomographie (HH-SD-OCT, Envisu C2300, Leica Microsystems, Deutschland) berichtet. Im ausgewerteten Zeitraum zwischen Oktober 2014 und April 2016 wurden HH-SD-OCT Untersuchungen an insgesamt 259 Patienten ab einem Alter von 7 Wochen (Median 1,59 Jahre  $\pm$  1,32 SD) durchgeführt. Insgesamt 32,8% aller Indikationen war eine Beurteilung der fovealen Einsenkung nach Frühgeburt. Nystagmus, Verdacht auf Netzhautdystrophien, reduzierter Visus und Albinismus umfassten weitere 37,4% der Indikationen. Demonstriert wurde insbesondere die Nutzbarkeit des Systems zur Verlaufsuntersuchung pathologischer fovealer Befunde und der Nachverfolgung fovealer Entwicklung bei extrem-frühgeborenen Kinder wenige Wochen nach der Geburt.

**Diskussion**

Alle untersuchten Kinder durchliefen die Untersuchungsprozedur ohne unerwünschte Nebeneffekte oder Negativereignisse. Die liegende Position war die am häufigste genutzte Aufnahme-Position. Die Untersuchungszeit variierte stark zwischen 2 und 30 Minuten (Mittel 18,3 Min). Aufgrund des Fehlens eines eingebauten aktiven Eye-Trackers war die Aufnahmezeit eines einzelnen dichten Volumenscans gering und betrug nur 3,2 Sekunden pro 100 B-Scans bei 12x12mm Scanfenster. Eine exakte Repositionierung (Zentrierung und Ausrichtung) des Scans bei Fixationsverlust war jedoch nicht möglich. Eine exakte Reproduktion eines bereits angefertigten Scans bei Wiederholungsmessungen war ebenfalls nicht realisierbar. Mithilfe der Schichtsegmentierungssoftware DiOCTA (JLU Gießen) war es möglich, dreidimensionale Volumenrekonstruktionen von Messungen darzustellen, welche diesen Nachteil bei fixationsstabilen Aufnahmen neutralisierten.

Es wurde festgehalten, dass der Einsatz des HH-SD-OCT eine sichere, nicht invasive Methode zur Ergänzung zu bereits etablierten klinischen Routineuntersuchungen bei Neugeborenen und Kleinkindern ist. Es eignet sich in besonderer Weise zur objektiven Dokumentation retinaler Veränderungen. Klare und einfache Richtwerte für Beurteilungen retinaler Veränderungen auf Einzelscananalysen erleichtern die Einordnung der Befunde, insbesondere da bei fehlendem Eye-Tracking im Envisu-System bei unruhiger Fixation die Orientierung am Fundus schwierig wird.



## 4. Zusammenfassung und Ausblick

Das ophthalmologische Screening bei Frühgeborenen hat die rechtzeitige Erkennung der Frühgeborenenretinopathie zum Ziel [Jandek 2008]. Sie ist als Folge einer gestörter retinalen Gefäßentwicklung in den ersten Lebensmonaten des Frühgeborenen bedrohlich für das Augenlicht. In der akuten Phase der Erkrankung kann der ungünstige Ausgang der Erkrankung durch Koagulationstherapie in der Regel mittels Laser oder intravitreale Injektionen von Bevacizumab oder Ranibizumab verhindert werden [Jandek 2008, Stellungnahme DOG 2011]. Die zum Zeitpunkt des Screenings eingesetzten Untersuchungsmethoden, zu denen immer die indirekte Ophthalmoskopie und in zunehmendem Umfang digitale Weitwinkelaufnahmen sowie bei behandelten Kindern die Fluoreszenzangiographie gehören, erfassen mit hoher Sensitivität Veränderungen der peripheren Netzhautgefäße. Sie sind wenig bis kaum geeignet, um subtilere Veränderungen der makulären Mitte zu dokumentieren oder darzustellen.

Bereits in den Studien zur Langzeitnachverfolgung der ersten mit Kryokoagulationstherapie behandelte frühgeborener Kinder zeigte sich ein signifikanter Nachteil der getesteten Kohorte in der evaluierten bestkorrigierten Sehschärfe der Kinder [CRYO-ROP-Group 1996, 2001]. Der hohe Anteil an Komorbiditäten, welche ausschließlich und auch indirekt die Augen betrafen, machte es schwierig, die Reduktion der Sehschärfe einer spezifisch veränderten Morphologie zuzuordnen. Zu den Komorbiditäten gehörten eine signifikante Häufung einer hohen Myopie, eine Häufung von Strabismus und Amblyopien genauso wie auch eine höhere Häufigkeit neurologischer Veränderungen wie Störungen der Nervensystementwicklung und Aufmerksamkeitsdefizit- und Hyperaktivitätssyndrome [Johnson 2010, Moore 2012, CRYO-ROP-Group 1996, 2001, Holmström 2013, Fielder 2015, Good 2004]. Gleichzeitig erlaubt allein die Messung bestkorrigierter Sehschärfe nicht, alle funktionellen Fähigkeiten des zentralen hinteren Netzhautpols zu erfassen, insbesondere, da es auf eine zuverlässige Mitarbeit der getesteten Kinder angewiesen ist [Bailey 1976].

Funduskontrollierte Perimetrie erlaubte seit der Einführung der ersten kommerziell erhältlichen Scanning Laser Ophthalmoskope (SLO, Rodenstock, Deutschland), eine detaillierte Funktionskarte des hinteren Netzhautpols und im speziellen der Makula zu erfassen [Ellingford 1994]. Zunächst bei verschiedensten makulären Pathologien im Erwachsenenalter angewendet [Rohrschneider 2001, Schneider 1996, Vujosevic 2010], konnte demonstriert werden, dass mit Anpassungen des Fixationsobjektes und eines

deutlich reduzierten Stimulationsrasters auch schnelle und zuverlässige Messungen bei Kindern durchführbar sind [Bowl 2016, Anlage 1]. Durch Anpassung der Stimulusgröße und der Anwendung von Goldmann I, statt Goldmann III Marken, konnte ebenfalls sichergestellt werden, dass auch kleinste und örtlich begrenzte Netzhautpathologien erfasst werden können, ohne von technisch bedingten Deckeneffekten maskiert zu werden [Bowl 2013]. Die Ergebnisse der funduskontrollierten Perimetrie zeigten als bisher einzige Veröffentlichung eine signifikante Minderung fovealer Lichtunterschiedsempfindlichkeit in der exakten fovealen Mitte bei frühgeborenen Kindern. Die Ergebnisse betrafen sowohl Kinder mit als auch Kinder ohne objektiv dokumentierte Frühgeborenenretinopathie. Da für die Studie speziell Grundschul Kinder ohne neurologische Defizite ausgewählt wurden und die Refraktionsunterschiede nicht signifikant zur altersentsprechenden Kontrollgruppe waren, konnte von einer Störung der Zapfensehbahn ausgegangen werden.

Die zu den gemessenen Funktionsminderungen zugehörige foveale Pathologie konnte in einer anschließenden Studie demonstriert werden. Die beschriebene Veränderung der fovealen Ultrastruktur frühgeborener Kinder wurde bereits von anderen Arbeitsgruppen beschrieben, ohne jedoch einen direkten Nachweis für eine dadurch hervorgerufene funktionelle Störung zu liefern [Recchia 2007, Ecsedy 2007, Lago 2007, Mintz-Hittner 1999]. Die Korrelation der Ergebnisse funduskontrollierter Perimetrie mit Befunden optischer Kohärenztomographie konnte bereits in einer früheren Arbeit erfolgreich angewendet werden [Bowl 2013]. Diese Erkenntnisse wurden genutzt, um in der Langzeitnachverfolgungsstudie die funktionellen Ergebnisse der Lichtunterschiedsempfindlichkeit mit exakter Einzelschichtsegmentierung von Spectral-Domain OCT Aufnahmen zu korrelieren [Bowl 2016, Anlage 2]. Die Photorezeptoraußensegmente zeigten bei den gemessenen Grundschulkindern keine signifikanten Veränderungen, die hauptsächlich Veränderungen betrafen die inneren Netzhautschichten, welche die äußere nukleäre Schicht überlagerten und die foveale Einsenkung dadurch minderten. Das Verhältnis absoluter Schichtdicken der äußeren nukleären Schicht zu den inneren retinalen Schichten zeigte die stärkste Korrelation zum Funktionsverlust. Die zusammenhängenden Befunde wurden als Makuläre Reifungsstörung (MDA) definiert [Bowl 2016, Anlage 2].

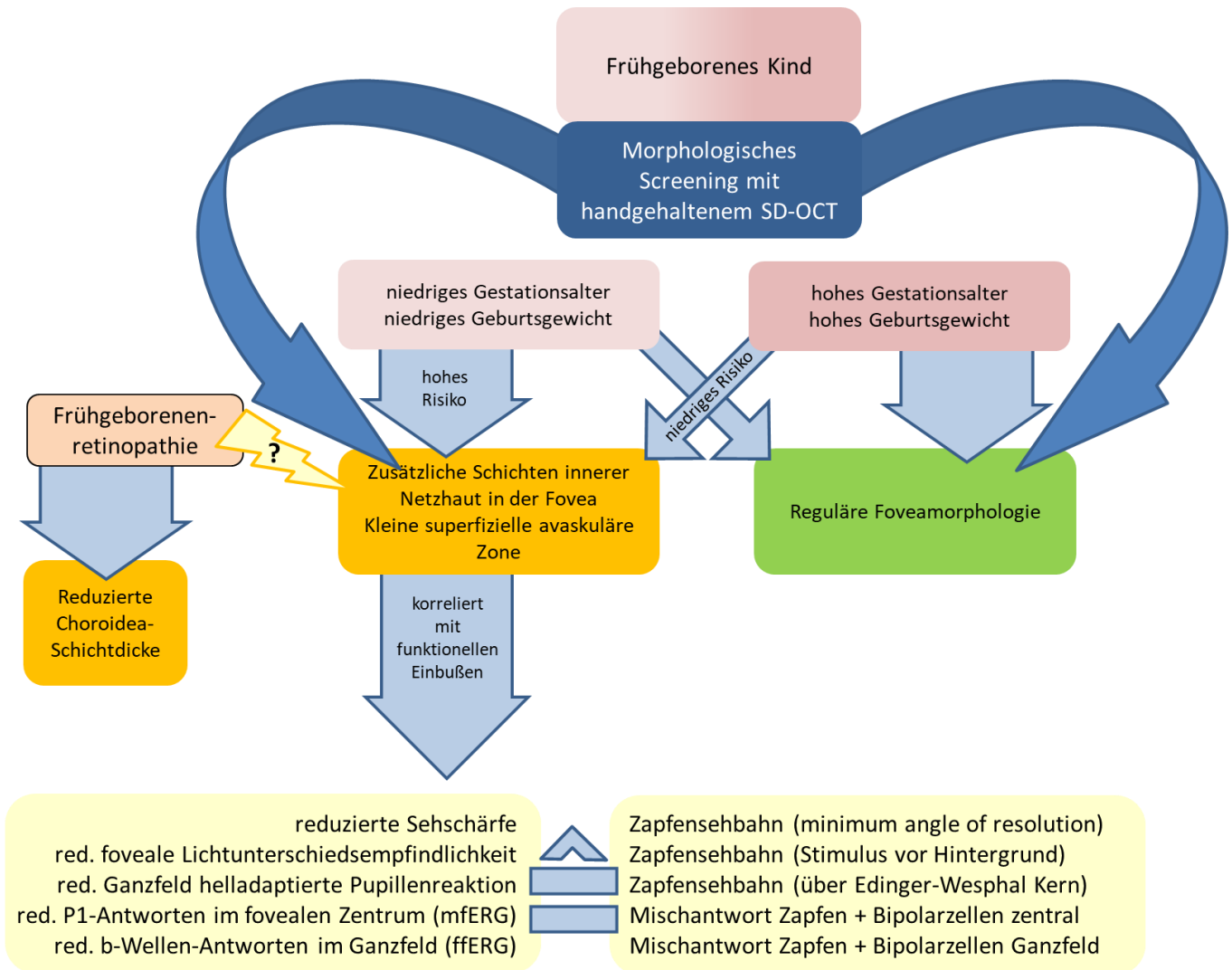
Eine Ergänzung der funktionellen Untersuchungen frühgeborener Kinder mit objektiven elektrophysiologischen Untersuchungen und Untersuchung mittels der chromatischen

Pupillometrie verdeutlichten den Zusammenhang makulärer Reifungsstörung mit den gemessenen funktionellen Einbußen am retinalen hinteren Pol [Bowl 2017, Anlage 3 und Bowl 2019, Anlage 4]. Die verminderten zentralen Potenziale, gemessen am multifokalen Elektretinogramm, zeigten, dass funktionelle Einschränkungen möglicherweise durch eine Interaktionsstörung zwischen Zapfen und Bipolarzellen hervorgerufen werden. Die Beteiligung der Zapfensehbahn wurde deutlich bei reduzierter Pupillenlichtreaktion auf zapfenvermittelte Stimuli [Bowl 2019, Anlage 4]. Die objektiven Ergebnisse des Ganzfeld-Elektretinogramms bestätigten eine Beteiligung der Bipolarzellen, jedoch auf einer globaleren Netzhautebene. Die deutliche Korrelation zentraler und globaler elektrophysiologischer Funktionsverluste mit Makulärer Reifungsstörung verweist auf mögliche, die gesamte Netzhaut betreffende Pathologien [Bowl 2017, Anlage 3].

Die Entwicklung und kommerzielle Nutzung der Swept-Source Optischen Kohärenztomographie Angiographie ermöglichte es, zu den bereits beschriebenen morphologischen Veränderungen fovealer Schichtmorphologie auch die Veränderungen des feinen Kapillarplexus der inneren Netzhaut zu vermessen. Aufgrund der intensiven Beteiligung peripherer Netzhautgefäße bei der Ausbildung der Frühgeborenenretinopathie ist eben auch die Entwicklung des fovealen Netzhautbettes von größter Relevanz für die Erforschung Makulärer Reifungsstörung. Die Herausforderung lag hier im Anspruch an die jungen Patienten für eine erfolgreiche Aufnahme zentraler Schichten, da für eine erfolgreiche Aufnahme eine längere Konzentrations- und stabile Fixationszeit benötigt wurden. Es konnte bei dem bisher jüngsten Patientenkollektiv frühgeborener Kinder mit behandelter und spontan rückgebildeter Frühgeborenenretinopathie am Tischmontierten SS-OCTA eine Vermessung der fovealen avaskulären Zone durchgeführt werden [Bowl 2018, Anlage 5]. Es zeigte sich, dass die Makuläre Reifungsstörung, eindeutig identifizierbar durch die Einzelschichtsegmentierung am OCT, mit einer erheblich verkleinerten oberflächlichen avaskulären Zone einherging. Aufgrund der vermuteten Reihenfolge in der embryologischen Entwicklung der Netzhaut wird davon ausgegangen, dass zunächst die avaskuläre Zone ausgebildet und erst in den Folgemonaten bzw. Jahren die zentrifugale und zentripetale Wanderung der Netzhautschichten stattfindet [Provis 2013]. Da bei allen frühgeborenen Kindern mit Makulärer Reifungsstörung die Äußere nukleäre Schicht weiterhin einer zentripetalen Verdichtung unterzogen ist, hat die geringere Fläche der avaskulären Zone einen Einfluss auf die zentrifugale Wanderung innerer Netzhautschichten.

Die Aderhaut, welcher die Versorgung der äußeren Netzhautschicht mit Sauerstoff und Nährstoffen zugeschrieben wird, wurde im engen Zusammenhang mit der Reduktion der Sehschärfe bei frühgeborenen Kindern gesehen [Li 2014, Anderson 2014]. Die im SS-OCT Gerät DRI-OCT Triton verwendete Laserlicht-Wellenlänge von 1050nm ermöglichte eine bei allen untersuchten frühgeborenen Kindern eine qualitativ hochwertige Auswertung der Aderhautschichtdicke des zentralen hinteren Netzhautpols. Es konnte gezeigt werden, dass die Aderhautdicke tatsächlich bei frühgeborenen Kindern signifikant verringert ist, die Verringerung aber weniger mit der Makulären Reifungsstörung, sondern vielmehr mit der Schwere der Frühgeborenenretinopathie in Verbindung stand. Eine Korrelation der Aderhautdicke mit der gemessenen bestkorrigierten Sehschärfe konnte nicht nachgewiesen werden [Bowl 2018, Anlage 6].

Die vorgestellten Zusammenhänge in den dargelegten Studien ermöglichten die Definition morphologischer Parameter, welche im Rahmen von zusätzlichen Untersuchungen an derzeit immer häufiger angewendeten handgehaltenen Geräten zur optischen Kohärenztomographie angewendet werden können. Die Bestätigung der funktionellen Relevanz dieser morphologischen Parameter konnte mithilfe exakter funduskontrollierter Perimetrie, sowie objektiver elektrophysiologischer Methoden geführt werden.



**Abbildung 11:** Mögliche Anwendung der handgehaltenen Optischen Kohärenztomographie im Rahmen des Frühgeborenen Screenings. Die Messparameter der oberflächlichen avaskulären Zone, sowie der Schichtsegmentierung der Fovea zur Bestimmung des Makulären Reifungsstatus können bereits zum frühen Zeitpunkt als Anhalt für die spätere foveale Funktion herangezogen werden.

Die in Abbildung 11 dargestellten Messparameter können als Ergänzung zum klassischen Frühgeborenen Screening geführt werden. In der vorgestellten Arbeit konnte die erfolgreiche Einsetzbarkeit handgehaltener Kohärenztomographie bei Neugeborenen, Säuglingen und Kleinkindern demonstriert werden [Bowl 2016, Anlage 7]. Die seit 2017 käuflich erwerbliche SD-OCT und OCTA von Heidelberg Eng ermöglicht durch den flexiblen Bewegungsradius des Aufnahmekopfes neben klassischen OCT-Schichtaufnahmen auch OCT-Angiographien bei Säuglingen und Kleinkindern.

Das Alter der Kinder, welche zur Struktur-Funktions-Korrelation Untersuchung am OCT herangezogen werden konnte, wurde bereits in den letzten Jahren deutlich gesenkt.

Modernere Technologien ermöglichen bereits heute die Untersuchung von Neugeborenen und somit die Erweiterung der Kenntnisse über die Entstehung fovealer Einsenkung in-vivo und im non-contact Verfahren. Die funktionelle Bedeutsamkeit der Befunde konnte ausführlich demonstriert werden. Die zukünftige Arbeit sollte sich nun darauf konzentrieren, die Entstehung dieser Pathologie zu beschreiben und den Ablauf der Entwicklung zu dokumentieren, um im Verlauf Möglichkeiten zu deren Behandlung, sei es durch systemische Medikation, wie im Falle des IGF-1 [Hellström 2017, Liegl 2016] oder durch anti-VEGF Injektionen, wie bei der Frühgeborenenretinopathie [Mintz-Hittner 2011, Kong 2015, Lepore 2014] zu diskutieren. Neben der Untersuchung zur Entstehung Makulärer Reifungsstörungen bei frühgeborenen Kindern ist die Weiterverfolgung bereits erkannter und diagnostizierter Patienten wichtig. Weitere Langzeitnachverfolgungsstudien sollten den weiteren Verlauf der Kinder mit Makulärer Reifungsstörung beobachten, um ein evtl. erhöhtes Risiko der Kinder für Makula-assoziierte Erkrankungen, wie der Altersbedingten Makuladegeneration auszuschließen. Spätfolgen im Erwachsenenalter der in der vorliegenden Arbeit erfassten morphologischen Veränderung der Fovea sind noch völlig unbekannt.

---

## 5. Literaturverzeichnis

- Abadi, R. V., & Pascal, D. (1989). The recognition and management of albinism. *Ophthalmic & Physiological Optics*, 9, 3–15.
- Akerblom H, Andreasson S, Holmström G. Macular function in preterm children at school age. *Doc Ophthalmol*. 2016;133:151-157.
- Akerblom H, Andreasson S, Larsson E, Holmström G. Photoreceptor function in school-aged children is affected by preterm birth. *Trans Vis Sci Tech*. 2014;3(6):7.
- Akerblom H, Larsson E, Eriksson U, Holmstrom G. Central macular thickness is correlated with gestational age at birth in prematurely born children. *Br J Ophthalmol*. 2011;95:799–803.
- Asefzadeh B, Cavallerano AA, Fisch BM. Racial differences in macular thickness in healthy eyes. *Optom Vis Sci*. 2007;84: 941–945.
- Bailey IL, Lovie JE. New design principles for visual acuity letter charts. *Am J Optom Physiol Opt*. 1976;53:740–745.
- Birch DG, Anderson JL. Standardized full-field electroretinography: normal values and their variation with age. *Arch Ophthalmol*. 1992;110:1571-1576.
- Bowl W, Lorenz B, Jäger M, et al. Improving detection of mild loss of retinal light increment sensitivity at the posterior pole with the microperimeter MP1. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2013;54:4666–74.
- Bowl W, Raouf 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 Apr 1;60(5):1614-1620.
- Bowl W, Stieger K, Bokun M, Schweinfurth S, Holve K, Andrassi-Darida M, 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 Jul 1;57(9):OCT235-41.
- Chui TY, Zhong Z, Song H, Burns SA. Foveal avascular zone and its relationship to foveal pit shape. *Optom Vis Sci*. 2012;89:602-610.
- Cornish EE, Madigan MC, Natoli RC, Hales A, Hendrickson A, Provis JM. Gradients of cone differentiation and FGF expression during development of the foveal depression in macaque retina. *Visual Neuroscience*. 2005; 22:447–59.
- Cornish EE, Natoli RC, Hendrickson A, Provis JM. Differential distribution of fibroblast growth factor receptors (FGFRs) on foveal cones: FGFR-4 is an early marker of cone photoreceptors. *Molecular Vision*. 2004; 10:1–14.
- Cryotherapy for Retinopathy of Prematurity Cooperative Group. Multicenter trial of cryotherapy for retinopathy of prematurity: ophthalmological outcomes at 10 years. *Arch Ophthalmol* 2001;119:1110–18.
- Cryotherapy for Retinopathy of Prematurity Cooperative Group. Multicenter trial of cryotherapy for retinopathy of prematurity: natural history ROP: ocular outcome at 5 (1/2) years in premature infants with birth weights less than 1251 g. *Arch Ophthalmol* 2002;120:595–9.
-

- 
- Cryotherapy for Retinopathy of Prematurity Cooperative Group. Multicenter Trial of Cryotherapy for Retinopathy of Prematurity: ophthalmological outcomes at 10 years. *Arch Ophthalmol*. 2001 Aug;119(8):1110-8.
- Cryotherapy for Retinopathy of Prematurity Cooperative Group. Multicenter trial of cryotherapy for retinopathy of prematurity. Snellen visual acuity and structural outcome at 5 1/2 years after randomization. *Arch Ophthalmol*. 1996 Apr;114(4):417-24.
- Darlow BA, Clemett RS, Horwood LJ, et al. Prospective study of New Zealand infants with birth weight less than 1500 g and screened for retinopathy of prematurity : visual outcome at age 7–8 years. *British J Ophthalmol* 1997;81:935–40.
- Diaz-Araya C, Provis JM. Evidence of photoreceptor migration during early foveal development: a quantitative analysis of human fetal retinae. *Vis Neurosci*. 1992; 8:505–14.
- Dobson V, Quinn GE, Early Treatment for Retinopathy of Prematurity Cooperative G, et al. Grating visual acuity results in the early treatment for retinopathy of prematurity study. *Arch Ophthalmol*. 2011;129(7):840–846.
- Dubis AM, Hansen BR, Cooper RF, Beringer J, Dubra A, Carroll J. Relationship between the foveal avascular zone and foveal pit morphology. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2012;53:1628-1636.
- Dubis AM, Subramaniam CD, Godara P, Carroll J, Costakos DM. Subclinical macular findings in infants screened for retinopathy of prematurity with spectral-domain optical coherence tomography. *Ophthalmology*. 2013;120:1665–1671.
- Ecsedy M, Szamosi A, Karko C, et al. A comparison of macular structure imaged by optical coherence tomography in preterm and full-term children. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2007;48: 5207–5211.
- Ellingford A. The Rodenstock scanning laser ophthalmoscope in clinical practice. *J Audiov Media Med*. 1994 Apr;17(2):67-70.
- Fielder A, Blencowe H, O'Connor A, Gilbert C. Impact of retinopathy of prematurity on ocular structures and visual functions. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2015 Mar;100(2):F179-84.
- Fledelius HC, Bangsgaard R, Slidsborg C, et al. Refraction and visual acuity in a national Danish cohort of 4-year-old children of extremely preterm delivery. *Acta Ophthalmol* 2015;93:330–8.
- Fledelius HC. Pre-term delivery and subsequent ocular development. A 7–10 year follow-up of children screened 1982–84 for ROP. Visual function, slit-lamp findings, and fundus appearance. *Acta Ophthalmol Scand* 1996;74:288–93.
- Frey K, Zimmerling B, Scheibe P, et al. Does the foveal shape influence the image formation in human eyes. *Advanced Optical Technologies*, 2017;6(5):403-410.
- Fujimoto J, Swanson E. The Development, Commercialization, and Impact of Optical Coherence Tomography. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2016 Jul 1;57(9):OCT1-OCT13.
- Fulton AB, Hansen RM, Moskowitz A, Barnaby AM. Multifocal ERG in subjects with a history of retinopathy of prematurity. *Documenta ophthalmologica. Advances in ophthalmology*. 2005;111(1):7–13.
-



- 
- Fulton AB, Hansen RM, Petersen RA, Vanderveen DK. The rod photoreceptors in retinopathy of prematurity: an electroretinographic study. *Arch Ophthalmol*. 2001;119(4):499–505.
- Fulton AB, Hansen RM. Electroretinogram responses and refractive errors in patients with a history of retinopathy prematurity. *Doc Ophthalmol*. 1995;91(2):87–100.
- Good WV, Hardy RJ, Dobson V, et al., The Early treatment for Retinopathy of Prematurity Cooperative Group. Final visual acuity results in the early treatment for retinopathy of prematurity study. *Arch Ophthalmol* 2010; 128:663–71.
- Good WV; Early Treatment for Retinopathy of Prematurity Cooperative Group. Final results of the Early Treatment for Retinopathy of Prematurity (ETROP) randomized trial. *Trans Am Ophthalmol Soc*. 2004;102:233-48; discussion 248-50.
- Grünert U, Greferath U, Boycott BB, Wässle H. Parasol (Pa) ganglion cells of the primate fovea: Immunocytochemical staining with antibodies against GABAA-receptors. *Vision Research*. 1993;33:1–14.
- Hammer DX, Iftimia NV, Ferguson RD, et al. Foveal fine structure in retinopathy of prematurity: an adaptive optics Fourier domain optical coherence tomography study. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2008;49:2061–2070.
- Hansen RM, Fulton AB. Development of the cone ERG in infants. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2005;46:3458-3462.
- Hare WA, Ton H. Effects of APB, PDA, and TTX on ERG responses recorded using both multifocal and conventional methods in monkey. *Doc Ophthalmol* 2002; 105:189-222.
- Harkness L, Bennet-Clark HC The deep fovea is a focus indicator. *Nature*. 1978; 27;272(5656):814-6.
- Harris ME, Moskowitz A, Fulton AB, Hansen RM. Long-term effects of retinopathy of prematurity (ROP) on rod and rod-driven function. *Doc Ophthalmol*. 2011;122(1):19–27.
- Hellstrom A, Ley D, Hallberg B, Lofqvist C, Hansen-Pupp I, Ramenghi LA, Borg J, Smith LEH, Hard AL. IGF-1 as a drug for preterm infants: a step-wise clinical development. *Curr Pharm Des*. 2017 Oct 2.
- Hendrickson A, Drucker D. The development of parafoveal and mid-peripheral human retina. *Behav Brain Res*. 1992;49:21-31.
- Hendrickson A, Possin D, Vajzovic L, Toth CA. Histologic development of the human hovea From midgestation to maturity. *Am J Ophthalmol*. 2012; 154:767–78 e2.
- Hendrickson AE, Yuodelis C. The morphological development of the human fovea. *Ophthalmology* 1984;91:603–12.
- Hingorani M, Williamson KA, Moore AT, van Heyningen V. Detailed ophthalmologic evaluation of 43 individuals with PAX6 mutations. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2009; 50:2581–90.
-

- 
- Holmström G, Azazi M, Jacobson L, et al. A population based, prospective study of the development of ROP in prematurely born children in the Stockholm area of Sweden. *Br J Ophthalmol* 1993;77:417–23.
- Holmström G, Azazi M, Kugelberg U. Ophthalmological long term follow up of preterm infants : a population based, prospective study of the refraction and its development. *Br J Ophthalmol* 1998;82:1265–71.
- Holmström G, el Azazi M, Kugelberg U. Ophthalmological follow up of preterm infants: a population based, prospective study of visual acuity and strabismus. *Br J Ophthalmol* 1999;83:143–50.
- Holmström G, 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;12:157–62.
- Holmström G, Larsson E. Outcome of retinopathy of prematurity. *Clin Perinatol* 2013;40:311–21.
- Hood DC, Frishman LJ, Saszik S et al. Retinal origins of the primate multifocal ERG: implications for the human response. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2002; 43: 1673-1685.
- Jandek C, Kellner U, Lorenz B, Seiberth V; Arbeitsgruppe der Retinologischen Gesellschaft zur Erstellung der Leitlinie zur augenärztlichen Screening-Untersuchung von Frühgeborenen. [Guidelines for ophthalmological screening of premature infants in Germany] *Klin Monbl Augenheilkd.* 2008 Feb;225(2):123-30.
- Johnson S, Hollis C, Kochhar P, Hennessy E, Wolke D, Marlow N. Psychiatric disorders in extremely preterm children: longitudinal finding at age 11 years in the EPICure study. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry.* 2010 May;49(5):453-63.e1.
- Kinnear, P. E., Jay, B., & Witkop, C. J. J. (1985). Albinism. *Survey of Ophthalmology*, 30, 75–101.
- Kong L, Bhatt AR, Demny AB, Coats DK, Li A, Rahman EZ, Smith OE, Steinkuller PG. Pharmacokinetics of bevacizumab and its effects on serum VEGF and IGF-1 in infants with retinopathy of prematurity. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2015 Jan 22;56(2):956-61.
- Lago A, Matieli L, Gomes M, et al. Stratus optical coherence tomography findings in patients with retinopathy of prematurity. *Arq Bras Oftalmol.* 2007;70:19–21.
- Larsson EK, Rydberg AC, Holmström GE. A population-based study of the refractive outcome in 10-year-old preterm and full-term children. *Arch Ophthalmol* 2003;121:1430–6.
- Lee H, Purohit R, Patel A, Papageorgiou E, Sheth V, Maconachie G, Pilat A, McLean RJ, Proudlock FA, Gottlob I. In Vivo Foveal Development Using Optical Coherence Tomography. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2015 Jul;56(8):4537-45.
- Lee, K. A., King, R. A., & Summers, C. G. (2001). Stereopsis in patients with albinism: Clinical correlates. *Journal of the American Association for Pediatric Ophthalmology and Strabismus*, 5(2), 98–104.
- Lepore D, Quinn GE, Molle F, Baldascino A, Orazi L, Sammartino M, Purcaro V, Giannantonio C, Papacci P, Romagnoli C. Intravitreal bevacizumab versus la-
-

- 
- ser treatment in type 1 retinopathy of prematurity: report on fluorescein angiographic findings. *Ophthalmology*. 2014 Nov;121(11):2212-9.
- Liegl R, Hellström A, Smith LE. Retinopathy of prematurity: the need for prevention. *Eye Brain*. 2016 May 20;8:91-102.
- Lorenz B, Spasovska K, Elflein H, et al. 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;247:1251–62.
- Lorenz B, Strohmayer E, Zahn S, et al. Chromatic pupillometry dissects function of the three light sensitive retinal cell populations in RPE65 deficiency. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2012;53:5641-5652.
- Lorenz B, Wegscheider E, Hamel C, Preising MN, Stieger K. Spatially resolved spectral sensitivities as a potential read-out parameter: clinical gene therapeutic trials. *Ophthalmic Res*. 2017;58:194-202.
- Maldonado RS, O'Connell RV, Sarin N, Freedman SF, Wallace DK, Cotten CM, Winter KP, Stinnett S, Chiu SJ, Izatt JA, Farsiu S, Toth CA. Dynamics of human foveal development after premature birth. *Ophthalmology*. 2011 Dec;118(12):2315-25.
- Mann I. *The Development of the Human Eye*. 3rd ed. New York: Grune and Stratton; 1964.
- Marmor MF, Choi SS, Zawadzki RJ, Werner JS. Visual insignificance of the foveal pit: reassessment of foveal hypoplasia as fovea plana. *Arch Ophthalmol*. 2008; 126:907–13.
- McAllister JT, Dubis AM, Tait DM, Ostler S, Rha J, Stepien KE, Summers CG, Carroll J. Arrested development: high-resolution imaging of foveal morphology in albinism. *Vision Res*. 2010 Apr 7;50(8):810-7.
- McLoone E, O'Keefe M, McLoone S, et al. Long term functional and structural outcomes of laser therapy for retinopathy of prematurity. *Br J Ophthalmol* 2006;90:754–9.
- Mintz-Hittner HA, Kennedy KA, Chuang AZ; BEAT-ROP Cooperative Group. Efficacy of intravitreal bevacizumab for stage 3+ retinopathy of prematurity. *N Engl J Med*. 2011 Feb 17;364(7):603-15.
- Mintz-Hittner HA, Knight-Nanan DM, Satriano DR, Kretzer FL. A small foveal avascular zone may be an historic mark of prematurity. *Ophthalmology*. 1999; 106:1409–13.
- Moore T, Hennessy EM, Myles J, Johnson SJ, Draper ES, Costeloe KL, Marlow N. Neurological and developmental outcome in extremely preterm children born in England in 1995 and 2006: the EPICure studies. *BMJ*. 2012 Dec 4;345:e7961.
- Mutlu FM, Küçükevcilioğlu M, Ceylan OM. Risk factor analysis for long-term unfavorable ocular outcomes in children treated for retinopathy of prematurity. *Turk J Ped* 2013;55:35–41.
- Nesmith B, Gupta A, Strange T, Schaal Y, Schaal S. Mathematical analysis of the normal anatomy of the aging fovea. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2014;55:5962–5966.
-

- 
- Nolan JM, Stringham JM, Beatty S, Snodderly DM. Spatial profile of macular pigment and its relationship to foveal architecture. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2008; 49:2134–42.
- O'Connor AR, Stephenson T, Johnson A, et al. Long-term ophthalmic outcome of low birth weight children with and without retinopathy of prematurity. *Pediatrics* 2002;109:12–18.
- Oetting, W. S., Summers, C. G., & King, R. A. (1994). Albinism and the associated ocular defects. *Metabolic, Pediatric, and Systemic Ophthalmology*, 17, 5–9.
- Palmer EA, Hardy RJ, Dobson V, et al. 15-year outcomes following threshold retinopathy of prematurity: final results from the multicenter trial of cryotherapy for retinopathy of prematurity. *Arch Ophthalmol.* 2005;123(3):311–318.
- Patel PJ, Foster PJ, Grossi CM, Keane PA, Ko F, Lotery A, Peto T, Reisman CA, Strouthidis NG, Yang Q; UK Biobank Eyes and Vision Consortium. Spectral-Domain Optical Coherence Tomography Imaging in 67 321 Adults: Associations with Macular Thickness in the UK Biobank Study. *Ophthalmology.* 2016 Apr;123(4):829-40.
- Provis JM, van Driel D, Billson FA et al. Development of the human retina: patterns of cell distribution and redistribution in the ganglion cell layer. *J Comp Neurol.* 1985; 22;233:429-451.
- Pueyo V, Gonzalez I, Altemir I, et al. microstructural changes in the retina related to prematurity. *Am J Ophthalmol.* 2015;159: 797–802.
- Pumphrey, R. J., 1948, The theory of the fovea, *J. Exp Biol.* 25:299–312.
- Querques G, Bux AV, Iaculli C, Delle Noci N. Isolated foveal hypoplasia. *Retina* 2008;28:1552–3.
- Quinn GE, Dobson V, Davitt BV, et al. Progression of myopia and high myopia in the early treatment for retinopathy of prematurity study: findings at 4 to 6 years of age. *J AAPOS* 2013;17:124–8.
- Recchia FM, Recchia CC. Foveal dysplasia evident by optical coherence tomography in patients with a history of retinopathy of prematurity. *Retina.* 2007;27:1221–1226.
- Rohrschneider K, Bültmann S, Springer C. Use of fundus perimetry (microperimetry) to quantify macular sensitivity. *Prog Retin Eye Res.* 2008;27:536-548.
- Rohrschneider K, Bültmann S. [Fundus-controlled functional evaluation in macular diseases with the scanning laser ophthalmoscope]. *Ophthalmologe.* 2001 Jan;98(1):3-9.
- Ross C. F. (2004). “The tarsier fovea: functionless vestige on nocturnal adaptation?,” in *Anthropoid Origins: New Visions* eds Ross C. F., Kay R. F., editors. (New York: Kluwer Academic; ), 477–537
- Scheibe P, Zocher MT, Francke M, Rauscher FG. Analysis of foveal characteristics and their asymmetries in the normal population. *Exp Eye Res.* 2016 Jul;148:1-11.
- Schneider U, Kuck H, Inhoffen W, Kreissig I. [Fundus oriented microperimetry with the scanning laser ophthalmoscope in age-induced macular degeneration]. *Klin Monbl Augenheilkd.* 1996 Aug-Sep;209(2-3):8-13. German.
-

- Sepulveda JA, Turpin A, McKendrick AM. Individual Differences in Foveal Shape: Feasibility of Individual Maps Between Structure and Function Within the Macular Region. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2016 Sep 1;57(11):4772-8.
- Sjöstrand J, Rosén R, Nilsson M, Popovic Z. Arrested Foveal Development in Preterm Eyes: Thickening of the Outer Nuclear Layer and Structural Redistribution Within the Fovea. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2017 Oct 1;58(12):4948-4958.
- Spaide RF, Curcio CA. Anatomical correlates to the bands seen in the outer retina by optical coherence tomography: literature review and model. *Retina* 2011;31(8):1609–1619.
- Springer AD, Hendrickson AE. Development of the primate area of high acuity, 3: temporal relationships between pit formation, retinal elongation and cone packing. *Vis Neurosci.* 2005; 22:171–85.
- Springer AD. New role for the primate fovea: a retinal excavation determines photoreceptor deployment and shape. *Visual Neuroscience.* 1999; 16:629–36.
- Stellungnahme der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft, der Retinologischen Gesellschaft und des Berufsverbandes der Augenärzte Deutschlands zum Einsatz von Bevacizumab in der Therapie der Frühgeborenenretinopathie Stand: 20.12.2011: <https://www.dog.org/wp-content/uploads/2009/08/ROP-Stellungnahme-20-12-2011.pdf> (letzter Zugriff 10.08.2019)
- Thomas MG, Kumar A, Mohammad S, Proudlock FA, Engle EC, Andrews C, Chan WM, Thomas S, Gottlob I. Structural grading of foveal hypoplasia using spectral-domain optical coherence tomography a predictor of visual acuity? *Ophthalmology.* 2011 Aug;118(8):1653-60.
- Thompson DA, Ali RR, Banin E, et al. Monaciano Consortium. Advancing therapeutic strategies for inherited retinal degeneration: recommendations from the Monaciano Symposium. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2015;56:918-931.
- Tick S, Rossant F, Ghorbel I, Gaudric A, Sahel JA, Chaumet-Riffaud P, Paques M. Foveal shape and structure in a normal population. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2011 Jul 29;52(8):5105-10.
- Vajzovic L, Hendrickson AE, O'Connell RV, et al. Maturation of the human fovea: correlation of spectral-domain optical coherence tomography findings with histology. *Am J Ophthalmol.* 2012; 154:779-789.
- Vajzovic L, Rothman AL, Tran-Viet D, Cabrera MT, Freedman SF, Toth CA. Delay in retinal photoreceptor development in very preterm compared to term infants. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2015 Jan 13;56(2):908-13.
- Villegas VM, Capó H, Cavuoto K, McKeown CA, Berrocal AM. Foveal structure-function correlation in children with history of retinopathy of prematurity. *Am J Ophthalmol.* 2014 Sep;158(3):508-12.e2.
- von Hanno T, Lade AC, Mathiesen EB, Peto T, Njølstad I, Bertelsen G. Macular thickness in healthy eyes of adults (N = 4508) and relation to sex, age and refraction: the Tromsø Eye Study (2007-2008). *Acta Ophthalmol.* 2017 May;95(3):262-269.
- Vujosevic S, Bottega E, Casciano M, Pilotto E, Convento E, Midena E. Microperimetry and fundus autofluorescence in diabetic macular edema: subthreshold micro-

- pulse diode laser versus modified early treatment diabetic retinopathy study laser photocoagulation. *Retina*. 2010 Jun;30(6):908-16.
- Wagner-Schuman M, Dubis AM, Nordgren RN, et al. Race- and sex-related differences in retinal thickness and foveal pit morphology. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2011;52:625–634.
- Wang J, Ren X, Shen L, et al. Development of refractive error in individual children with regressed retinopathy of prematurity. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2013;54:6018–24.
- Wang J, Spencer R, Leffler JN, Birch EE. Critical period for foveal fine structure in children with regressed retinopathy of prematurity. *Retina*. 2012;32:330–339.
- Weale – 1968. Why is there a fovea in the human retina. *Proc. Roy. Soc Med Volume 62*, June 1969
- Weale, R. A., 1966, Why does the human retina possess a fovea? *Nature* 212:255–256.
- Wolin, L. R. and Massopust, L. C., 1970, Morphology of the Primate Retina, in: *Advances in Primatology. Volume 1. The Primate Brain*, C. R. Noback, and W. Montagna, eds., Appleton-Century-Crofts, New York, pp. 1–27.
- Wu WC, Lin RI, Shih CP, Wang NK, Chen YP, Chao AN, Chen KJ, Chen TL, Hwang YS, Lai CC, Huang CY, Tsai S. Visual acuity, optical components, and macular abnormalities in patients with a history of retinopathy of prematurity. *Ophthalmology*. 2012;119:1907-1916
- Yanni SE, Wang J, Chan M, et al. Foveal avascular zone and foveal pit formation after preterm birth. *Br J Ophthalmol*. 2012;96:961–966.
- Yuodelis C, Hendrickson A. A qualitative and quantitative analysis of the human fovea during development. *Vision Research*. 1986; 26:847–55.
- Zhou X, Huang X, Chen H, et al. Comparison of electroretinogram between healthy preterm and term infants. *Doc Ophthalmol*. 2010; 121:205-213.

## 6. Danksagung

Mein besonderer Dank geht zu allererst an Frau **Prof. Dr. Birgit Lorenz** für die jahrelange motivierende Unterstützung, die hervorragende Bereitstellung eines produktiven wissenschaftlichen Umfelds und der Möglichkeit zur fundierten wissenschaftlichen Ausbildung in ihrer Klinik. Durch die immer respektvolle Atmosphäre, sowie kompetente und fordernde Beratung und Expertise ist diese Schrift überhaupt erst möglich geworden.

Dank gebührt Frau **Dr. Monika Andrassi-Darida** für die unermüdliche Mitarbeit an dem erfolgreich angeworbenem DFG-geförderten Projekt (DFG LO457/10-1), welches mir den Einstieg in die klinisch-wissenschaftliche Forschung sowie den größten Teil der Studien ermöglichte. Die Else Kröner-Fresenius-Stiftung (EKFS 2015\_A131) hat mir durch die Projektförderung den zweiten Teil meiner bisherigen Forschungslaufbahn ermöglicht. Förderungen der Von Behring-Röntgen-Stiftung schafften die Grundlagen für die automatisierte OCT-Segmentierung (DiOCTA) und Chromatische Pupillometrie. Dafür vielen Dank!

Ebenfalls möchte ich mich ganz herzlich beim Herrn **Prof. Dr. Dr. Knut Stieger** bedanken. Durch seine wissenschaftliche Begleitung in den letzten Jahren hat er entscheidend am Gelingen meiner wissenschaftlichen Projekte mitgewirkt. Mein Verständnis elektrophysiologischer Zusammenhänge gründet auf vielfachen Gesprächen und Kooperationen mit dem hervorragenden Elektrophysiologen Herrn **Dr. Christoph Friedburg**.

Größter Dank geht an die Mitarbeiter der klinischen Forschung der Augenklinik Gießen, Frau **Kerstin Holve**, Frau **Silke Schweinfurth** und Herrn **Robert Knobloch**, welche mich seit meiner Promotion 2013 bei allen praktischen Tätigkeiten unterstützten. Herzlich bedanken möchte ich mich auch bei den medizinischen Doktoranden Frau **Magdalena Bokun** und Herrn **Sinan Raof** für die außerordentlich zuverlässige Mitarbeit bei der Erhebung und Analyse klinischer Daten der Patienten.

Meinen Eltern bin ich zutiefst für Ihre uneingeschränkte Unterstützung auf meinem bisherigen Lebensweg dankbar.

Gewidmet ist diese Arbeit meiner Familie, meiner Ehefrau **Marianne Bowl** und meinen Töchtern **Loreen und Diana**, welche mich täglich an die entscheidenden Dinge im Leben erinnern.

---





## 7. Anlagen

### **Anlage 1:**

Bowl W, Lorenz B, Stieger K, Schweinfurth S, Holve K, Friedburg C, 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 Sep;100(9):1238-44.

### **Anlage 2:**

Bowl W, Stieger K, Bokun M, Schweinfurth S, Holve K, Andrassi-Darida M, 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 Jul 1;57(9):OCT235-41.

### **Anlage 3:**

Bowl W, Schweinfurth S, Holve K, Stieger K, Lorenz B, 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 Oct;234(10):1235-1242. German.

### **Anlage 4:**

Bowl W, Raouf 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 Apr 1;60(5):1614-1620.

### **Anlage 5:**

Bowl W, Bowl M, Schweinfurth S, Holve K, Knobloch R, Stieger K, Andrassi-Darida M, Lorenz B. OCT Angiography in Young Children with a History of Retinopathy of Prematurity. *Ophthalmol Retina*. 2018 Sep;2(9):972-978.

### **Anlage 6:**

Bowl W, Bowl M, Schweinfurth S, Holve K, Andrassi-Darida M, Stieger K, Lorenz B. Choroidal Thickness with Swept-Source Optical Coherence Tomography versus Foveal Morphology in Young Children with a History of Prematurity. *Ophthalmic Res*. 2018;60(4):205-213.

### **Anlage 7:**

Bowl W, Andrassi-Darida M, Holve K, Schweinfurth S, Knobloch R, Lorenz B. [Handheld Optical Coherence Tomography in Paediatric Ophthalmology: Experience of the Department of Ophthalmology in Giessen]. *Klin Monbl Augenheilkd*. 2016 Oct;233(10):1142-1148. German.

# 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

W Bowl, B Lorenz, K Stieger, S Schweinfurth, K Holve, C Friedburg, M Andrassi-Darida

Department of Ophthalmology, Justus-Liebig-University, Giessen, Germany

## Correspondence to

Professor B Lorenz, Department of Ophthalmology, Justus-Liebig-University, Friedrichstrasse 18, Giessen 35392, Germany; [birgit.lorenz@uniklinikum-giessen.de](mailto:birgit.lorenz@uniklinikum-giessen.de)

Received 18 September 2015

Revised 26 October 2015

Accepted 31 October 2015

Published Online First

1 December 2015

## ABSTRACT

**Aim** To correlate light increment sensitivity (LIS) and visual acuity (VA) with birth weight (BW), gestational age (GA) and stage of acute retinopathy of prematurity (ROP) (STG) in premature children at school age.

**Methods** 180 children (150 former prematures and 30 age-matched term-born children) were enrolled at age 6–13 years. Former prematures were categorised by the results of the initial ROP screening based on digital wide-field fundus imaging: absence of ROP (n=100) and spontaneously resolved ROP (n=50). The latter group was further subdivided according to their STG (Stg 1; Stg 2; Stg 3). Both groups were categorised into sectors by BW (<1000 g; 1000–1500 g; >1500 g), and GA ( $\leq 28$  weeks;  $>28 < 32$  weeks;  $\geq 32$  weeks). VA was assessed with Early Treatment of Diabetic Retinopathy Study letters, LIS was measured at 0°, 2.8° and 8° in the visual field (Microperimeter MP1, Nidek Technologies), and spherical equivalent refraction assessed with a Nidek autorefractor (Nidek, Italy).

**Results** Central and pericentral LIS (0° and 2.8°) and VA were significantly lower in all groups and sectors compared with term-born controls except for BW >1500 g for LIS and GA >28 to <32 W for VA. No significant differences were found for LIS at 8° in all groups. No correlation was found between LIS and VA on an individual basis.

**Conclusions** Low BW, GA and increasing severity of spontaneously resolving ROP were associated with significantly decreased central visual function. In addition to VA, LIS measurement further describes foveal function and is a unique parameter to assess parafoveal function.

## INTRODUCTION

Neonatal intensive care has improved dramatically over the last 30 years, leading to increased survival rates of preterm infants and even of those with birth weights (BW) <1000 g.<sup>1</sup> The immature state of the retina at birth in these extremely preterm infants often results in an altered foveal morphology.<sup>2–4</sup> It remains unclear how long it lasts until the foveal region reaches maturity and which factors may prohibit complete foveal maturation in extremely premature infants over time.<sup>5–8</sup>

Retinopathy of prematurity (ROP) is a typical complication in very preterm infants with a multifactorial pathogenesis that is tightly related to the immaturity of the organ system.<sup>9–11</sup> Major risk factors for ROP include low gestational age (GA) at birth<sup>10</sup> and low BWs.<sup>9 11</sup> International committees

have developed standardised classification systems, such as the International Classification of Retinopathy of Prematurity in 1984, which was revised in 2005,<sup>12 13</sup> and the Early Treatment of Retinopathy of Prematurity (ETROP) guidelines.<sup>14</sup>

Long-term functional consequences of prematurity of the retina alone or the presence of ROP have been analysed in several large studies, for example, in a large population-based study in Sweden,<sup>15–19</sup> in the Cryotherapy for Retinopathy of Prematurity Study (CRYOROP) study<sup>20 21</sup> or in the ETROP study.<sup>22–24</sup> Classic read-out parameters are visual acuity (VA) and the prevalence of high refractive errors, strabismus and amblyopia. Often, low BW and GA as well as an increasing severity of ROP are risk factors for an unfavourable ocular outcome for these parameters.<sup>25–33</sup>

However, all these parameters describe the function of photoreceptors in the centre of the fovea but do not allow retrieval of functional information about parafoveal or more peripheral photoreceptors. With the advent of early retinal morphological data in premature infants with and without ROP seen with spectral domain optical coherence tomography (SD-OCT), this kind of information becomes increasingly interesting.<sup>34 35</sup> Fundus-controlled perimetry provides a measurement of the light increment sensitivity (LIS) at defined loci within a 25° visual field and has allowed to detect small deficits in visual function in the parafoveal and macular area in other patient cohorts.<sup>36 37</sup>

The present study was launched in 2011 in order to investigate the long-term functional and morphological outcome in former preterm infants with well-characterised retinal morphology at time of initial ROP screening. Here, we present the results of the functional analysis of the central retina (LIS, VA) at school age and correlated them with ROP risk factors at birth and presence of ROP at time of initial ROP screening. For the first time in a large cohort study of former premature infants, fundus-controlled perimetry data reveal functional information not only within the foveal centre but also in adjacent parafoveal and macular areas.

## METHODS

### Patients

The present study is a long-term follow-up study of prematurely born participants from a multicentre field study between 2001 and 2007.<sup>38</sup> All children included in the present study were imaged at the



CrossMark

**To cite:** Bowl W, Lorenz B, Stieger K, et al. *Br J Ophthalmol* 2016;**100**:1238–1244.

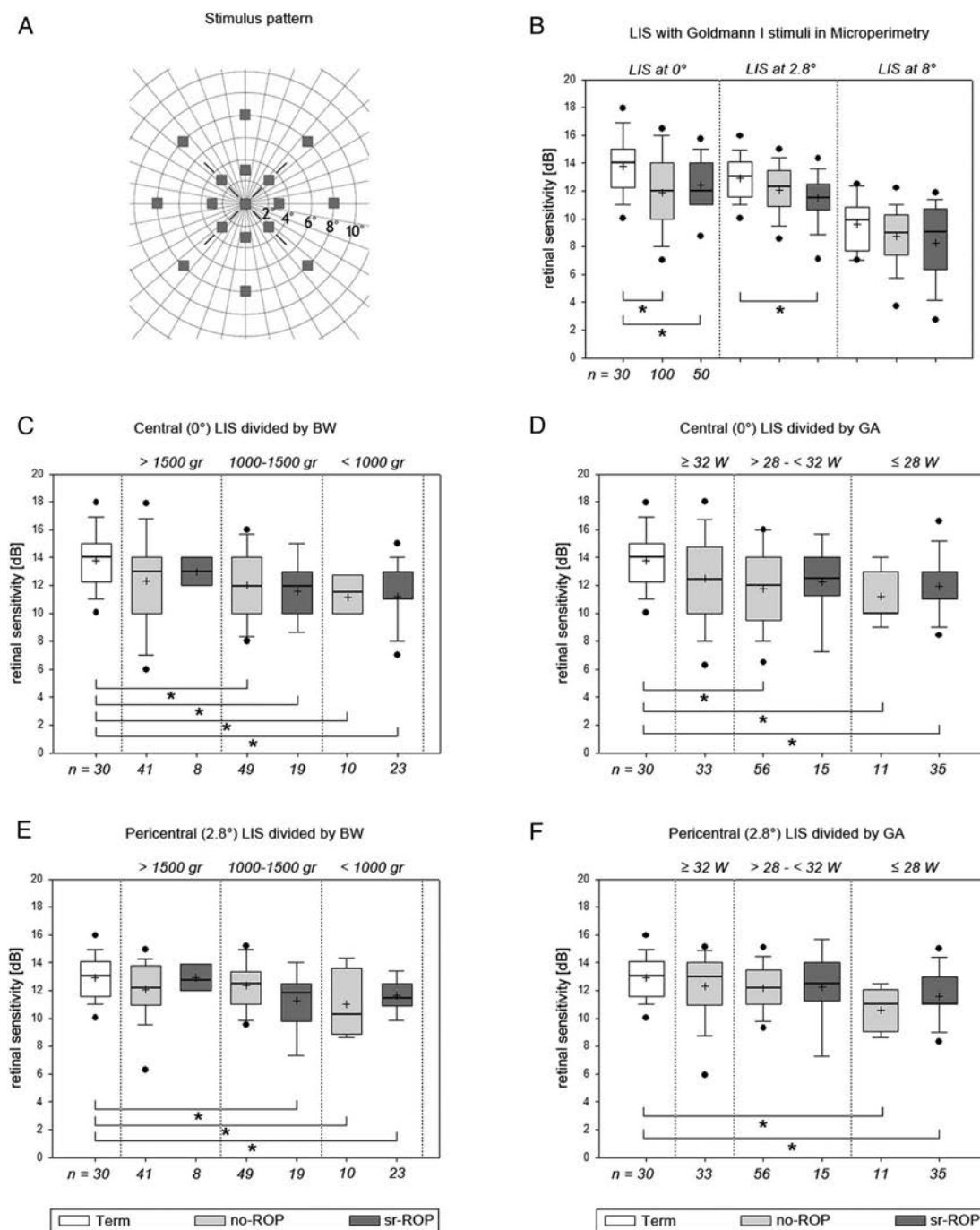
time of the ROP screening by digital wide-field retinal imaging (RetCam I, Massie Lab, California, USA), which provides objective documentation of an eventual ROP. In the present study, only children without apparent psychological or neuronal disorders, neonatological hypoglycaemia, intraventricular haemorrhage or severe birth asphyxia-related hypoxic ischaemic encephalopathy were included, and all children attended regular schools and showed no significant deficiencies in basic literacy and numeracy. Parents were also specifically asked as to early childhood development and performance at school. All perinatal

data and digital fundus images were available from the original field study.<sup>38</sup>

Healthy age-matched subjects were recruited from the local population, who had no history of ocular abnormalities, strabismus, amblyopia or high refractive errors, and who were capable of performing all tests in this study.

### Fundus-controlled perimetry

The MP1 images the fundus in real time with an infrared fundus camera and allows with an automated tracking system



**Figure 1** Light increment sensitivity (LIS) data. (A) Stimulus pattern of the data points in the visual field at 0°, 2.8° and 8° eccentricity. All points of a given eccentricity (n=8) were added up to get a medium value and SD. (B) LIS data for the different study groups at 0°, 2.8° and 8° eccentricity. (C and D) Correlation of LIS with birth weight (BW) at central (0°, C) and pericentral (2.8°, D) location. (E and F) Correlation of LIS with gestational age (GA) at central (0°, E) and pericentral (2.8°, F) location. Significant correlations are marked (\*corresponds to  $p < 0.05$ ), all other combinations corresponds to  $p > 0.05$ . no-ROP, without resolved retinopathy of prematurity; sr-ROP, spontaneously resolved retinopathy of prematurity; Term, term-born children.

**Table 1** Demographic data of the study participants

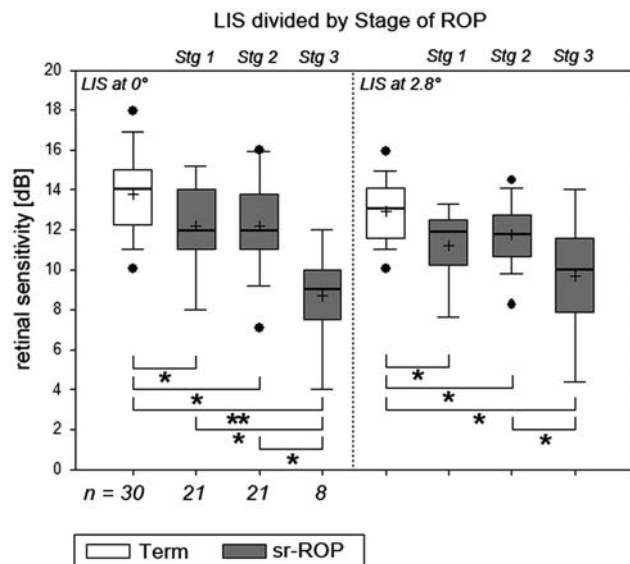
Group	n	Age (years) (median)	Sex (m/f)	Birth weight (g) ( $\pm$ SD)	Gestational age (weeks) ( $\pm$ SD)	SER (Dpt) ( $\pm$ SD)
Term	30	6–12 (9)	12/18	3488 ( $\pm$ 294)	39.8 ( $\pm$ 1)	0.12 ( $\pm$ 0.65)
No-ROP	100	7–13 (10)	54/46	1497 ( $\pm$ 389)	30.7 ( $\pm$ 2.3)	0.43 ( $\pm$ 2.66)
<1000 g	10	7–12 (10)	6/4	917 ( $\pm$ 80)	28.2 ( $\pm$ 2.0)	1.02 ( $\pm$ 3.90)
1000–1500 g	49	7–13 (10)	24/25	1299 ( $\pm$ 124)	30.0 ( $\pm$ 1.9)	0.43 ( $\pm$ 2.24)
>1500 g	41	7–12 (10)	24/17	1857 ( $\pm$ 289)	32.1 ( $\pm$ 2.2)	0.26 ( $\pm$ 2.71)
$\leq$ 28 weeks	11	9–13 (10)	6/5	1061 ( $\pm$ 244)	27.2 ( $\pm$ 0.6)	0.78 ( $\pm$ 4.24)
>28–<32 weeks	56	7–13 (10)	33/23	1441 ( $\pm$ 257)	30 ( $\pm$ 0.7)	0.38 ( $\pm$ 2.67)
$\geq$ 32 weeks	33	7–12 (10)	15/18	1730 ( $\pm$ 423)	33.6 ( $\pm$ 1.5)	0.42 ( $\pm$ 1.99)
sr-ROP	50	7–12 (9)	29/21	1056 ( $\pm$ 204)	27.8 ( $\pm$ 1.8)	0.74 ( $\pm$ 1.88)
<1000 g	23	7–12 (9.1)	11/12	789 ( $\pm$ 83)	26.3 ( $\pm$ 0.8)	0.93 ( $\pm$ 1.99)
1000–1500 g	19	7–12 (8.8)	12/7	1222 ( $\pm$ 101)	29.1 ( $\pm$ 1.1)	1.19 ( $\pm$ 2.13)
>1500 g	8	7–12 (9)	6/2	1618 ( $\pm$ 105)	29.8 ( $\pm$ 2.2)	–1.55 ( $\pm$ 2.23)
$\leq$ 28 weeks	35	7–12 (9.2)	18/17	931 ( $\pm$ 93)	26.3 ( $\pm$ 0.9)	1.14 ( $\pm$ 1.75)
>28–<32 weeks	15	7–12 (8.9)	11/4	1292 ( $\pm$ 128)	29.8 ( $\pm$ 1.5)	0.70 ( $\pm$ 2.14)
$\geq$ 32 weeks	0	–	–	–	–	–
Stg 1	21	7–12 (9.1)	12/9	1233 ( $\pm$ 136)	28.3 ( $\pm$ 1.7)	1.12 ( $\pm$ 2.33)
Stg 2	21	7–12 (8.9)	12/9	938 ( $\pm$ 87)	27.5 ( $\pm$ 0.9)	1.07 ( $\pm$ 2.10)
Stg 3	8	7–12 (9.2)	5/3	883 ( $\pm$ 102)	27.0 ( $\pm$ 0.4)	0.7 ( $\pm$ 2.02)

No-ROP, without resolved retinopathy of prematurity; sr-ROP, spontaneously resolved ROP; SER (Dpt), spherical equivalent of refraction in diopters.

compensating for eye movement during examination. Fixation target and stimuli appear on a liquid crystal display within the MP1 and are imaged back along the same optical path onto the retina. For all conditions, background luminance was 1.27 cd/m<sup>2</sup>. Test targets could be attenuated in steps of 1 dB (0.1 log) from maximum brightness (127 cd/m<sup>2</sup>, defined as 0 dB for white) down to 20 dB, that is, the background luminance. Refractive errors were compensated within the system of the instrument.

Stimuli were presented in a slightly darkened room to the better seeing eye at 17 positions of a customised pattern covering the posterior pole of the retina up to 8° eccentricity (figure 1A). The pupil was left undilated. LIS thresholds were determined with a 4-2 staircase strategy. Results of the left eye were mirrored along the vertical axis to be comparable to those of the right eye.

Subjects were asked to fixate a custom-made red X, 10° in diameter (figure 1A). Gaps within the X allow projecting stimuli in the centre of fixation or at parafoveal positions without interfering with the fixation target. Initially, fixation stability derived from tracking was continuously recorded for 5 s. Thereafter, fixation was recorded during stimulus presentation and mapped. The examination started always with stimuli-sized Goldmann III (25.7 min of arc), followed by a second examination with stimuli-sized Goldmann I (6.45 min of arc) according to ref. 36 Because of the ceiling effect in measurements with Goldmann III stimuli, testing this stimulus size was used for training and familiarisation with the test. Only Goldmann I stimuli provided reliable LIS thresholds.<sup>36</sup> The examination was repeated if the false positive answers (optic-nerve head tests) reached a critical limit of 50%.



**Figure 2** Correlation of light increment sensitivity (LIS) with stage of retinopathy of prematurity (ROP). Significant correlations are marked (\*corresponds to  $p < 0.05$ ), all other combinations corresponds to  $p > 0.05$ . sr-ROP, spontaneously resolved retinopathy of prematurity; Term, term-born children.

### Visual acuity

The Early Treatment of Diabetic Retinopathy Study acuity charts were used to assess VA throughout the study.<sup>39</sup> Only one eye that provided the best results from each participant was included. Landolt C ring testing (a standardised procedure following the EN ISO 8596 norm) was used as internal control. Refractive data were assessed with a Nidek Autorefraktor (Nidek, Italy) 30 min after application of cyclopentolate 1% eye drops.

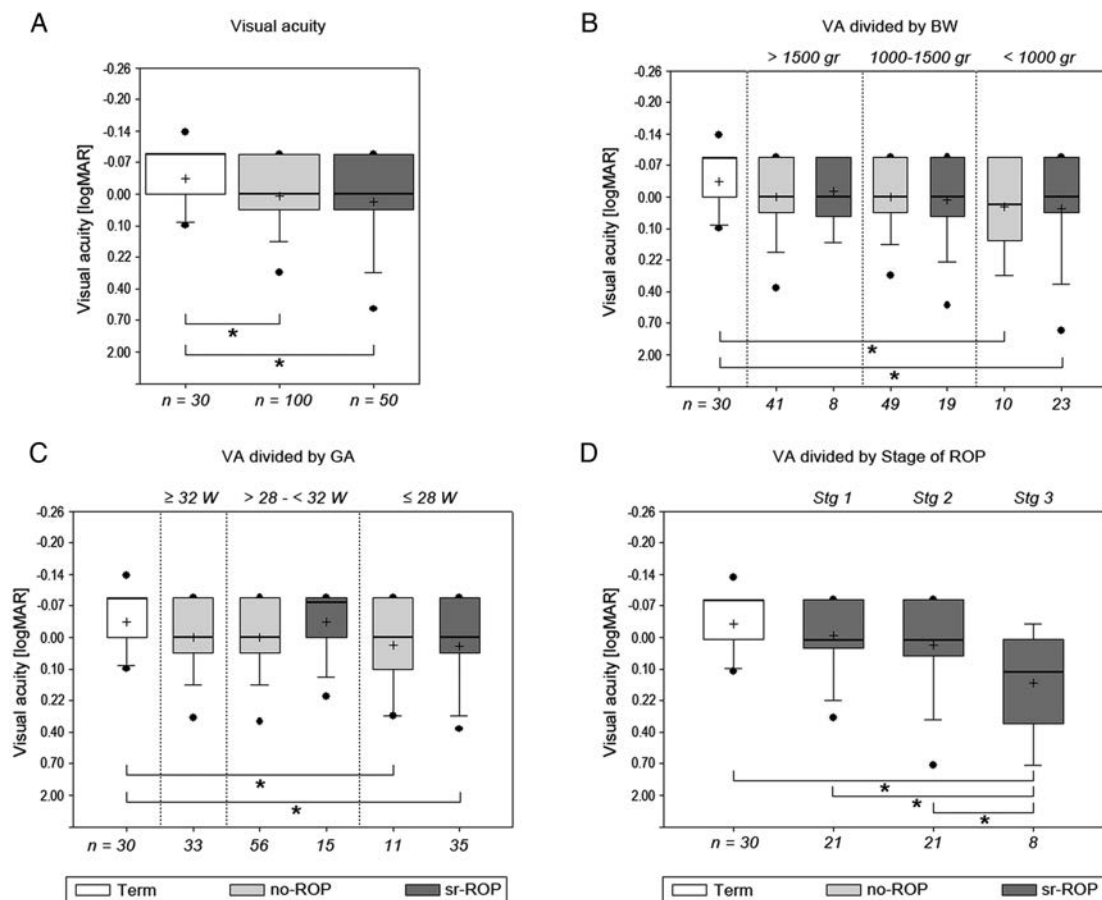
### Statistical analysis

Statistical analysis was done with Sigma Plot 12.0 (Systat Software GmbH Erkrath, Germany). One way-analysis of variance was applied to test for significant differences among the different ROP groups and term-born controls. Multiple comparison tests (Holm–Sidak or Dunn’s method) were applied when testing for statistical differences between the groups and sectors (BW, GA or STG). Statistical significance was assumed at  $p < 0.05$ . Pearson product moment correlation was applied when analysing the linear dependence between VA and central LIS.

## RESULTS

### Patient statistics

The analysis presented here is based on the examination of 180 school-aged children (aged 6–13 years, mean 9.2 years).



**Figure 3** Visual acuity (VA) data. (A) VA data for the entire groups compared with term-born children. (B) VA data for the different study groups in relation to birth weight (BW). (C) VA data for the three different study groups relation to gestational age (GA). (D) VA data for the three study groups in relation to stages of retinopathy of prematurity (ROP). Significant correlations are marked (\*corresponds to  $p < 0.05$ ), all other combinations corresponds to  $p > 0.05$ . no-ROP, spontaneously resolved retinopathy of prematurity; sr-ROP, spontaneously resolved retinopathy of prematurity; Term, term-born children.

Children born prematurely were grouped by the results of the ROP screening at 32 weeks of postmenstrual age and subsequent follow-up examinations into children without apparent ROP (no-ROP;  $n = 100$ ) and those with spontaneously resolved ROP (sr-ROP;  $n = 50$ ). The group sr-ROP was further divided into subgroups according to stages of ROP (Stg 1; Stg 2; Stg 3). Of the 50 children, maximum stage 1 ROP was detected in 21 children (zone II:  $n = 16$ ; zone III:  $n = 5$ ), another 21 children had stage 2 ROP (zone II:  $n = 17$ ; zone III:  $n = 4$ ) and 8 children had stage 3 ROP (zone II:  $n = 7$ ; zone III:  $n = 1$ ; no plus). All children from both groups were also further divided into sectors according to BW ( $> 1500$  g,  $1000$ – $1500$  g,  $< 1000$  g) and GA ( $\geq 32$  weeks,  $> 28$  to  $< 32$  weeks,  $\leq 28$  weeks).

Demographic data of the enrolled participants are shown in [table 1](#). Both groups, no-ROP and sr-ROP, showed significant differences among each other concerning mean BW and mean GA, which is in accordance with the higher risk for developing any kind of ROP at low BW and low GA. Spherical equivalent refraction only slightly differed between the no-ROP and sr-ROP group.

#### Light increment sensitivity

All children completed the examination procedure of fundus-controlled perimetry with both Goldmann III and Goldmann I stimuli. When comparing LIS depending on eccentricity

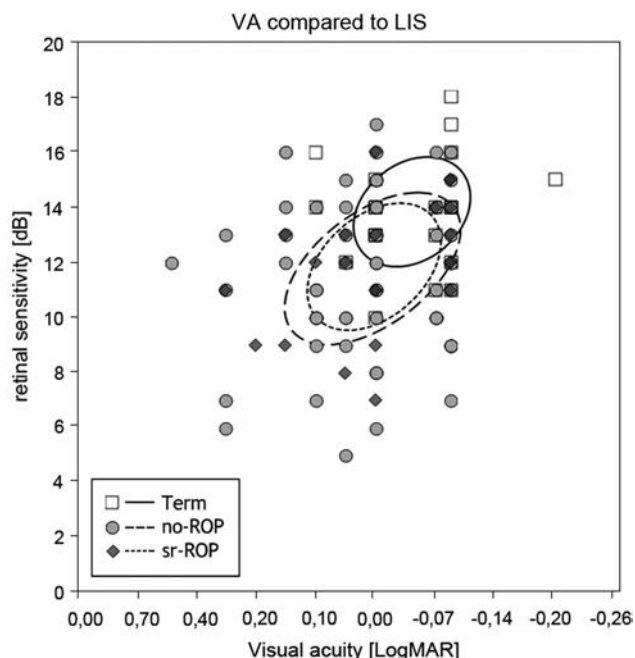
between the three groups, we found that the foveal LIS ( $0^\circ$ ) was significantly lower in the no-ROP and sr-ROP-group compared with the term group ([figure 1B](#)). Likewise, the parafoveal LIS ( $2.8^\circ$ ) showed significant differences between the sr-ROP group compared with the term group. No significant differences were found at  $8^\circ$  between any of the investigated groups ([figure 1B](#)).

When analysing the impact of BW, central LIS ( $0^\circ$ ) was significantly lower for all subjects within the sectors  $< 1000$  g and  $1000$ – $1500$  g, but was unchanged for all subjects in the sector  $> 1500$  g compared with term-born children ([figure 1C](#)). Pericentral LIS ( $2.8^\circ$ ) was significantly lower for all subjects within the sectors  $< 1000$  g and  $1000$ – $1500$  g, but was unchanged for the no-ROP group in the sector  $1000$ – $1500$  g and all subjects in the sector  $> 1500$  g compared with term-born children ([figure 1D](#)). The peripheral LIS ( $8^\circ$ ) remained stable and showed no significant change to the term group (data not shown).

Concerning the impact of age, participants in the  $\leq 28$  weeks sector had significantly reduced LIS compared with term-born children at  $0^\circ$  and  $2.8^\circ$  ([figure 1E, F](#)).

The impact of the ROP stage on LIS is shown in [figure 2](#). LIS at  $0^\circ$  and  $2.8^\circ$  was significantly reduced in all subgroups compared with the term-born children. Interestingly, the Stg 3 subgroup was significantly reduced compared with both Stg 1 and Stg 2 subgroups at  $0^\circ$  and significantly reduced compared with Stg 2 subgroup at  $2.8^\circ$ .





**Figure 4** Correlation of visual acuity (VA) and light increment sensitivity (LIS) data on an individual basis. Data of all participants are shown in a scatter plot with 95% confidence ellipse for the different study groups. Pearson's  $r$  for every group was  $<0.05$ , indicating that no linear correlation exists between VA and central sensitivity (LIS). logMAR, logarithm of the minimum angle of resolution; no-ROP, spontaneously resolved retinopathy of prematurity; sr-ROP, spontaneously resolved retinopathy of prematurity; Term, term-born children.

### Visual acuity

VA was found to be significantly reduced in both groups (no-ROP and sr-ROP) compared with term-born children (figure 3A), but did not differ significantly among each other.

When analysing the impact of GA and BW, VA was significantly lower in the sectors  $<1000$  g and  $\leq 28$  weeks compared with term-born children (figure 3B, C).

Multiple comparison analysis among the groups (no-ROP, sr-ROP, term) and sectors (BW and GA) revealed for the sectors  $<1000$  g BW and  $\leq 28$  weeks GA that the affiliation to a certain ROP group did not result in significant differences in VA. Only the comparison against term-born children was significant.

The analysis of the dependence of stage of ROP on VA is shown in figure 3D. The VA in the Stg 3 subgroup was significantly reduced compared with the term-born children and the Stg 1 and 2 subgroups.

### Correlation of central LIS and VA

Because central LIS and VA data both were reduced with increasing immaturity of the infant and severity of ROP compared with term-born children, we analysed whether these data correlated also on an individual basis (figure 4). We could not detect a significant relationship for participants in any group.

### DISCUSSION

This paper describes the results of LIS and VA in former premature infants compared with term-born children at the age of 6–13 years. For the first time, we show LIS data correlated with BW and GA at birth, and in relation to the severity of ROP as

verified by digital wide-field fundus imaging, and compare these results with VA data. The two data sets revealed matching information concerning the overall reduced function of foveal photoreceptors in very premature children.

VA data of former premature infants obtained in a large number of studies are considered to be the standard parameter to describe foveal function.<sup>15–24</sup> However, with the recent growth of data describing morphological alterations, such as delayed or incomplete foveal development, arrest of centrifugal inner retinal layer migration or sparing of photoreceptor development, VA data alone may not be sufficient to allow in-depth functional–morphological correlations.<sup>40</sup> Therefore, our LIS data at  $0^\circ$  further describe foveal function in addition to VA, and LIS at  $2.8^\circ$  and  $8^\circ$  enlarge the functional data set to parafoveal and more peripheral locations.

Interestingly, the foveal and parafoveal LIS ( $0$  and  $2.8^\circ$ ), but not the peripheral LIS ( $8^\circ$ ), were slightly but significantly reduced in former prematures compared with term-born children. The sectors with the lowest BW or the lowest GA displayed significantly reduced LIS for all groups compared with term-born children, indicating that both factors are the most critical parameters in the development of foveal function. On the other hand, the reduction of LIS in these two sectors with lowest BW or GA was not correlated with the severity of ROP, indicating that ROP stages are only an additional parameter in the development of foveal function.

Peripheral ( $8^\circ$ ) LIS was not altered in former preterm infants in our study, which may indicate that the immaturity of the retina is restricted to the foveal pit, with normal peripheral retinal function. Detailed analysis of early and follow-up retinal imaging data may help get further insight and is part of ongoing investigations. The value of information on retinal function close to the fovea has been demonstrated in other disorders, where small and locally limited pathologies remained undetected when testing VA alone.<sup>36 37</sup>

The VA data of our study show a general reduction of foveal function in prematurely born children compared with the control group. The reduction increased with the severity of acute ROP. These results are in line with previous population-based studies. Holmström and colleagues reported a prevalence of poor vision of 34% for a VA of  $<20/28$  in the no-ROP group and 61% in the group with ROP at 4.5 years, and an increased risk for visual dysfunction in children with a history of ROP at 10 years.<sup>19</sup> In a study with 24 former premature infants, Bonotto and colleagues reported a VA of 20/20 in 87% for sr-ROP and 100% for no-ROP.<sup>41</sup> Furthermore, Villegas and colleagues observed that only 64% ( $n=28$ ) of 44 former premature infants had 20/40 VA or better at the age of 2–18 years.<sup>40</sup>

All these data and ours show that prematurity by itself is a risk factor for reduced VA and the presence of ROP increases the risk for poor vision. However, when looking at the two sectors lowest BW and lowest GA, no significant differences were observed between the groups sr-ROP and no-ROP, indicating that, similarly to the LIS data at  $0^\circ$ , BW and GA are the most critical parameters for the determination of highly precise foveal function, and the presence of spontaneously resolving ROP is only a minor parameter in this regard.

Interestingly, while the observed correlations were true for the entire groups, individual results did not show an evident correlation between central LIS ( $0^\circ$ ) and VA. VA defines the capacity of the central visual system to discriminate contrast variation and is different from LIS, which defines the capacity to discriminate a light stimulus from the background.<sup>42</sup> Maximum LIS depends on the location of the retina that is tested. Since we

used bright mesopic conditions and a Goldmann I stimulus at 0° eccentricity, the detected LIS represents the cone visual system, similar to VA. An indication of the reason of the reduced LIS compared with term-born infants could be differences in morphology on SD-OCT suggestive of photoreceptor immaturity in premature infants.<sup>34</sup> Correlation of LIS and VA has been performed with varying degrees of success in a number of pathologies, including diabetic macular oedema, idiopathic epimacular membrane or idiopathic macular telangiectasia.<sup>37 43–45</sup> However, since all of these studies used the Goldmann III stimulus, ceiling effects during the tests cannot be excluded,<sup>36</sup> rendering a comparison with our data difficult. Nonetheless, since both techniques, LIS and VA, describe different qualities of photoreceptor function in the fovea, lack of a direct correlation may not be surprising but opens the range for more functional entities that can be described. For example, a study on factors affecting the reading speed in patients with diabetic macular oedema found that this speed was reduced in those patients treated with laser photocoagulation and correlated significantly with decreased central LIS values and reduced contrast sensitivity, but not VA.<sup>46</sup>

Our results suggest that foveal function is impaired in children with a history of low BW and/or GA at birth, regardless of the development of an acute ROP. The severity of ROP should be considered as an additional factor that may worsen the visual outcome. We postulate that delayed foveal maturation may be an important factor for the development of optimal central visual function and LIS.

**Contributors** BL and MA-D designed the study. WB, KH, SS, CF and MA-D conducted the study and collected data. KS, WB, KH, SS and BL interpreted the data. KS, WB and BL drafted the work and revised it.

**Competing interests** None declared.

**Patient consent** Informed consent was obtained from all parents and informed assent from all children participating in the study.

**Ethics approval** The present study followed the tenets of the Declaration of Helsinki and was approved by the Ethics Committee of the Justus-Liebig-University of Giessen (Az 150/09).

**Provenance and peer review** Not commissioned; externally peer reviewed.

## REFERENCES

- Lundgren P, Kistner A, Andersson EM, *et al.* Low birth weight is a risk factor for severe retinopathy of prematurity depending on gestational age. *PLoS ONE* 2014;9:e109460.
- Maldonado RS, O'Connell RV, Sarin N, *et al.* Dynamics of human foveal development after premature birth. *Ophthalmology* 2011;118:2315–25.
- Dubis AM, Subramanian CD, Godara P, *et al.* Subclinical macular findings in infants screened for retinopathy of prematurity with spectral-domain optical coherence tomography. *Ophthalmology* 2013;120:1665–71.
- O'Brien KM. Development of the foveal specialization. In: Tombran-Tink J, Barnstable CJ, eds. *Visual transduction and non-visual light perception*. Humana Press, 2008:17–33.
- Hendrickson AE, Youdelis C. The morphological development of the human fovea. *Ophthalmology* 1984;91:603–12.
- Youdelis C, Hendrickson AE. A qualitative and quantitative analysis of the human fovea during development. *Vision Res* 1986;26:847–55.
- Mann IC. *The development of the human eye*. 3rd edn. Grune and Stratton, 1964.
- Vajzovic L, Hendrickson A, O'Connell RV, *et al.* Maturation of the human fovea: correlation of spectral-domain optical coherence tomography findings with histology. *Am J Ophthalmol* 2012;154:779–89.
- Hack M, Fanaroff A. Outcomes of children of extremely low birthweight and gestational age in the 1990's. *Early Hum Dev* 1999;53:193–218.
- Austeng D, Källen KB, Ewald UW, *et al.* Incidence of retinopathy of prematurity in infants born before 27 weeks' gestation in Sweden. *Arch Ophthalmol* 2009;127:1315–19.
- Darlow BA, Hutchinson JL, Henderson-Smart DJ, *et al.* Prenatal risk factors for severe retinopathy of prematurity among very preterm infants of the Australian and New Zealand Neonatal Network. *Pediatrics* 2005;115:990–6.
- The Committee for the Classification of Retinopathy of Prematurity. An international classification of retinopathy of prematurity. *Arch Ophthalmol* 1984;102:1130–4.
- The Committee for the Classification of Retinopathy of Prematurity. The international classification of retinopathy of prematurity revisited. *Arch Ophthalmol* 2005;123:991–9.
- Good WV. Final results of the early treatment for retinopathy of prematurity (ETROP) randomized trial. *Trans Am Ophthalmol Soc* 2004;102:1684–94.
- Holmström G, Azazi M, Jacobson L, *et al.* A population based, prospective study of the development of ROP in prematurely born children in the Stockholm area of Sweden. *Br J Ophthalmol* 1993;77:417–23.
- Holmström G, Azazi M, Kugelberg U. Ophthalmological long term follow up of preterm infants : a population based, prospective study of the refraction and its development. *Br J Ophthalmol* 1998;82:1265–71.
- Holmström G, el Azazi M, Kugelberg U. Ophthalmological follow up of preterm infants: a population based, prospective study of visual acuity and strabismus. *Br J Ophthalmol* 1999;83:143–50.
- Larsson EK, Rydberg AC, Holmström GE. A population-based study of the refractive outcome in 10-year-old preterm and full-term children. *Arch Ophthalmol* 2003;121:1430–6.
- Holmström G, 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;12:157–62.
- Cryotherapy for Retinopathy of Prematurity Cooperative Group. Multicenter trial of cryotherapy for retinopathy of prematurity: ophthalmological outcomes at 10 years. *Arch Ophthalmol* 2001;119:1110–18.
- Cryotherapy for Retinopathy of Prematurity Cooperative Group. Multicenter trial of cryotherapy for retinopathy of prematurity: natural history ROP: ocular outcome at 5 (1/2) years in premature infants with birth weights less than 1251 g. *Arch Ophthalmol* 2002;120:595–9.
- Dobson V, Quinn GE, Summers, CG, *et al.*, The Early treatment for Retinopathy of Prematurity Cooperative Group. Grating visual acuity results in the early treatment for retinopathy of prematurity study. *Arch Ophthalmol* 2011;129:840–6.
- Good WV, Hardy RJ, Dobson V, *et al.*, The Early treatment for Retinopathy of Prematurity Cooperative Group. Final visual acuity results in the early treatment for retinopathy of prematurity study. *Arch Ophthalmol* 2010;128:663–71.
- Quinn GE, Dobson V, Davitt BV, *et al.* Progression of myopia and high myopia in the early treatment for retinopathy of prematurity study: findings at 4 to 6 years of age. *J AAPOS* 2013;17:124–8.
- Fledelius HC, Bangsgaard R, Slidsborg C, *et al.* Refraction and visual acuity in a national Danish cohort of 4-year-old children of extremely preterm delivery. *Acta Ophthalmol* 2015;93:330–8.
- Fledelius HC. Pre-term delivery and subsequent ocular development. A 7–10 year follow-up of children screened 1982–84 for ROP. Visual function, slit-lamp findings, and fundus appearance. *Acta Ophthalmol Scand* 1996;74:288–93.
- Holmström G, Larsson E. Outcome of retinopathy of prematurity. *Clin Perinatol* 2013;40:311–21.
- Mutlu FM, Küçükcilioğlu M, Ceylan OM. Risk factor analysis for long-term unfavorable ocular outcomes in children treated for retinopathy of prematurity. *Turk J Ped* 2013;55:35–41.
- Darlow BA, Clemett RS, Horwood LJ, *et al.* Prospective study of New Zealand infants with birth weight less than 1500 g and screened for retinopathy of prematurity : visual outcome at age 7–8 years. *British J Ophthalmol* 1997;81:935–40.
- O'Connor AR, Stephenson T, Johnson A, *et al.* Long-term ophthalmic outcome of low birth weight children with and without retinopathy of prematurity. *Pediatrics* 2002;109:12–18.
- Wang J, Ren X, Shen L, *et al.* Development of refractive error in individual children with regressed retinopathy of prematurity. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2013;54:6018–24.
- McLoone E, O'Keefe M, McLoone S, *et al.* Long term functional and structural outcomes of laser therapy for retinopathy of prematurity. *Br J Ophthalmol* 2006;90:754–9.
- Sahni J, Subhedar NV, Clark D. Treated threshold stage 3 versus spontaneously regressed subthreshold stage 3 retinopathy of prematurity: a study of motility, refractive, and anatomical outcomes at 6 months and 36 months. *Br J Ophthalmol* 2005;89:154–60.
- Vajzovic L, Rothman AL, Tran-Viet D, *et al.* Delay in retinal photoreceptor development in very preterm compared to term infants. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2015;56:908–13.
- Maldonado RS, Toth CA. Optical coherence tomography in retinopathy of prematurity: looking beyond the vessels. *Clin Perinatol* 2013;40:271–96.
- Bowl W, Lorenz B, Jäger M, *et al.* Improving detection of mild loss of retinal light increment sensitivity at the posterior pole with the microperimeter MP1. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2013;54:4666–74.
- Charbel Issa P, Helb H-M, Rohrschneider K, *et al.* Microperimetric assessment of patients with type 2 idiopathic macular telangiectasia. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007;48:3788–95.

## Clinical science

- 38 Lorenz B, Spasovska K, Elflein H, *et al.* 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;247:1251–62.
- 39 Klein R, Klein BE, Moss SE, *et al.* Inter-observer variation in refraction and visual acuity measurement using a standardized protocol. *Ophthalmology* 1983;90:1357–9.
- 40 Villegas VM, Capó H, Cavuoto K, *et al.* Foveal structure-function correlation in children with history of retinopathy of prematurity. *Am J Ophthalmol* 2014;158:508–12.e2.
- 41 Bonotto LB, Moreira ATR, Chuffi S, *et al.* Comparative study of visual functions in premature pre-school children with and without retinopathy of prematurity. *Arq Bras Oftalmol* 2014;77:34–9.
- 42 Rohrschneider K, Bültmann S, Springer C. Use of fundus perimetry (microperimetry) to quantify macular sensitivity. *Prog Retin Eye Res* 2008;27:536–48.
- 43 Okada K, Yamamoto S, Mizunoya S, *et al.* Correlation of retinal sensitivity measured with microperimetry to visual acuity and retinal thickness in eyes with diabetic macular edema. *Eye (Lond)* 2006;20:805–9.
- 44 Carpineto P, Ciancaglini M, Di Antonio L, *et al.* Fundus microperimetry patterns of fixation in type 2 diabetic patients with diffuse macular edema. *Retina* 2007;27:21–9.
- 45 Karacorlu M, Ozdemir H, Senturk F, *et al.* Correlation of retinal sensitivity with visual acuity and macular thickness in eyes with idiopathic epimacular membrane. *Int Ophthalmol* 2010;30:285–90.
- 46 Pearce E, Sivaprasad S, Chong NV. Factors affecting reading speed in patients with diabetic macular edema treated with laser photocoagulation. *PLoS ONE* 2014;9:e105696.





## 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

W Bowl, B Lorenz, K Stieger, S Schweinfurth, K Holve, C Friedburg and M Andrassi-Darida

*Br J Ophthalmol* 2016 100: 1238-1244 originally published online December 1, 2015  
doi: 10.1136/bjophthalmol-2015-307855

---

Updated information and services can be found at:  
<http://bjo.bmj.com/content/100/9/1238>

---

### References

*These include:*

This article cites 44 articles, 11 of which you can access for free at:  
<http://bjo.bmj.com/content/100/9/1238#ref-list-1>

### Email alerting service

Receive free email alerts when new articles cite this article. Sign up in the box at the top right corner of the online article.

---

### Topic Collections

Articles on similar topics can be found in the following collections

[Editor's choice](#) (121)  
[Paediatrics](#) (358)  
[Epidemiology](#) (1094)  
[Retina](#) (1608)

---

### Notes

---

To request permissions go to:  
<http://group.bmj.com/group/rights-licensing/permissions>

To order reprints go to:  
<http://journals.bmj.com/cgi/reprintform>

To subscribe to BMJ go to:  
<http://group.bmj.com/subscribe/>

# OCT-Based Macular Structure–Function Correlation in Dependence on Birth Weight and Gestational Age—the Giessen Long-Term ROP Study

Wadim Bowl, Knut Stieger, Magdalena Bokun, Silke Schweinfurth, Kerstin Holve, Monika Andrassi-Darida, and Birgit Lorenz

Department of Ophthalmology, Justus-Liebig-University, Giessen, Germany

Correspondence: Birgit Lorenz, Department of Ophthalmology, Friedrichstrasse 18, Justus-Liebig-University, 35392 Giessen, Germany; birgit.lorenz@uniklinikum-giessen.de.

Submitted: December 10, 2015  
Accepted: March 31, 2016

Citation: Bowl W, Stieger K, Bokun M, et al. 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:OCT235–OCT241. DOI:10.1167/iovs.15-18843

**PURPOSE.** To compare retinal layer thicknesses in preterm and term-born children using spectral-domain optical coherence tomography (SD-OCT) and to correlate structure with retinal function.

**METHODS.** We performed SD-OCT single and volume scans in the foveal region of premature children aged 6 to 13 years without ROP (no-ROP,  $n = 100$ ) and with spontaneously regressed ROP (sr-ROP,  $n = 50$ ) documented with wide-angle digital imaging during routine screening for acute ROP, and 30 age-matched term-born children. Retinal layer segmentation and analysis was performed with custom-made software in single and volume-scans using an Early Treatment of Diabetic Retinopathy Study grid-based method, and compared to light increment sensitivity (LIS) data obtained with a microperimeter at eccentricity points of  $0^\circ$ ,  $2.8^\circ$ , and  $8^\circ$ , as previously described.

**RESULTS.** Overall, seven children had to be excluded due to poor image quality ( $n = 1$  no-ROP;  $n = 2$  sr-ROP;  $n = 4$  term). Total retina, ganglion cell + inner plexiform layer (GCL+) and outer nuclear layer + external limiting membrane (ONL+) thickness at the foveal center in no-ROP and sr-ROP were significantly higher compared with term children. Gestational age (GA) and birth weight (BW) were inversely correlated with these layer thicknesses. Rod and cone outer segment length did not differ in either group. The ratio of ONL+ to the whole retina at  $0^\circ$  correlated significantly with reduced LIS.

**CONCLUSIONS.** Increased thicknesses of the entire retina or specific layers at the fovea did not correlate with functional loss; but a thinner ONL in retinae without foveal pit did. This reduced ONL+ ratio is potentially caused by a reduced foveal cone density and may be the first morphologic functional correlate in prematurity and ROP.

**Keywords:** retinopathy of prematurity, birth weight, gestational age, spectral-domain optical coherence tomography, fundus-controlled perimetry, long-term functional outcome

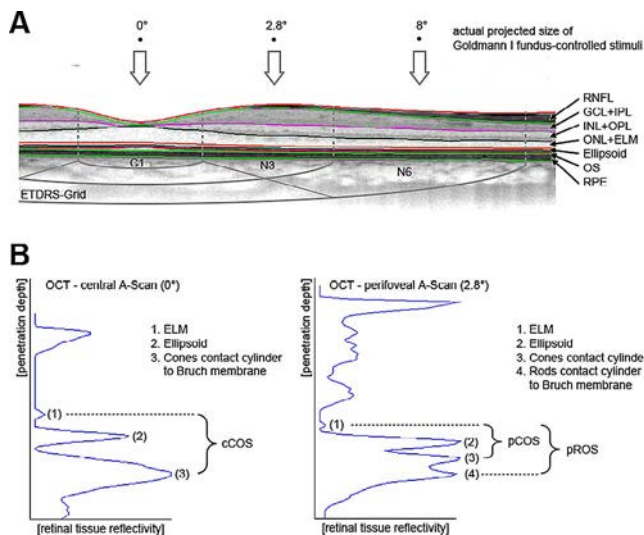
Premature birth interrupts developmental processes, including neuronal differentiation and cell migration in all neurologic tissues.<sup>1–3</sup> Minor sequelae in prematurely born children and their effects on daily life as they grow up are less well known. The most common retinal defect associated with preterm birth is retinopathy of prematurity (ROP), which can cause serious ocular complications related to neovascularization. We recently published long-term follow-up functional data on prematurely born children showing that the prevalence of subnormal visual acuity and visual central and paracentral light increment sensitivity (LIS) in fundus-controlled perimetry were significantly higher compared with an age-matched control group.<sup>4</sup> Similar effects on visual acuity (VA) were shown by others.<sup>5–7</sup>

Vasculogenesis begins in the central retina at 24 to 28 weeks gestational age (GA), and the peripheral retina is vascularized at 40 weeks GA.<sup>8</sup> Differentiation and maturation of the fovea and macular retinal layers begins at 24 to 27 weeks GA and is not completed until approximate age 3 to 4 years, resulting in an immature fovea even in term-born neonates.<sup>9–11</sup> Several histologic and optical coherence tomog-

raphy studies have described persistence of inner retinal layers and absence of the foveal curvature in the fetal eye, and subsequent changes in the width and length of photoreceptor structures over time.<sup>8,10–13</sup> Foveal development such as migration, redistribution, and growth of subcellular structures occur in premature infants ex-utero.<sup>14,15</sup> Several signs of immaturity have been reported in prematurely born neonates in spectral-domain optical coherence tomography (SD-OCT) measurements when compared with the adult fovea: a shallow foveal pit, persistence of inner retinal layers, and a thin photoreceptor layer, thinnest at the foveal center.<sup>15–17</sup> Vajzovic et al.<sup>18</sup> hypothesized that photoreceptor development of term-born children is considerably different from that found in preterm infants. It remains unclear how long it lasts until the foveal region of premature children reaches maturity and whether the OCT morphology could be a useful predictor of the resulting visual function.

The aim of the present study was to compare the foveal and perifoveal structure of prematurely born children with spontaneously regressed and without ROP to that of age-matched full-term children using SD-OCT, and to determine whether the





**FIGURE 1.** Spectral-domain OCT analysis methods. (A) Representative foveolar SD-OCT single scan, automatically segmented with custom software (Justus-Liebig-University).<sup>20</sup> A schematic representation of the dimensions of the ETDRS grid is displayed below the scan. Above the scan, three fundus-controlled Goldmann I stimuli are displayed in their actual size as projected on the retina.<sup>4</sup> (B) Representative central and perifoveal A-scans demonstrating the measurement of COS and ROS.<sup>21</sup>

findings were related to prematurity and ROP, and mirroring recently published visual deficits (VA and fundus-controlled LIS) in the same cohort.

## METHODS

The present study followed the tenets of the Declaration of Helsinki and was approved by the ethics committee of the Justus-Liebig-University of Giessen (Az 150/09). Informed consent was obtained from all parents and informed assent from all children participating in the study.

## Patients

The present study is a long-term follow-up study of prematurely born participants from a multicenter field study between 2001 and 2007 (Lorenz, 2009). All 150 preterm children included in the present study were imaged at the time of the ROP screening by digital wide-field retinal imaging (RetCam I; Massie Research Laboratories, Inc., Pleasanton, CA, USA), which provides objective documentation of ROP. In the present study, only children without apparent psychological or neuronal disorders, neonatal hypoglycemia, intraventricular hemorrhage, or severe birth asphyxia-related hypoxic-ischemic encephalopathy were included, and all children attended regular schools and showed no significant deficiencies in basic literacy and numeracy. Parents were also specifically asked as to early childhood development and performance at school. All perinatal data and digital fundus images were available from the original field study.<sup>19</sup> Detailed demographic data were recently published.<sup>4</sup>

A total of 30 healthy age-matched term-born children were recruited from the local population who had no history of ocular abnormalities, strabismus, amblyopia, or high refractive errors, and who were capable of performing all tests in this study.

## Optical Coherence Tomography

High-resolution SD-OCT was performed using a commercial device (Spectralis OCT; Heidelberg Engineering, Heidelberg, Germany). One eye of each participant was analyzed (matching to the eye in which fundus-controlled perimetry was performed—always the better-seeing eye<sup>4</sup>). Results of the left eye were mirrored along the vertical axis to be comparable with the right eye. For analysis of foveal shape and central thickness, only single scans (B-scan, >80 averaged scans) with best resolution and best foveal centration were taken into account. For analysis of the average retinal thickness, volume scans (C-scan, 16 averaged scans) were used. Images were exported into a custom-made automated layer segmentation software (DiOCTA<sup>20</sup>; copyright by Justus-Liebig-University, Giessen, Germany), and the thicknesses of the described retinal layers were measured automatically. The central foveal pit was selected manually by an experienced examiner. All segmentations in every scan in all quadrants were reviewed and, if necessary, corrected manually in order to achieve the most accurate segmentation outcome possible by an experienced operator. On average, 10.3% of all scans had to be corrected manually at least in one layer.

## Layer Segmentation

The thicknesses of eight retinal layers were quantified automatically from OCT images. We measured the following: retinal nerve fiber layer (RNFL); ganglion cell layer plus inner plexiform layer (GCL+); inner nuclear layer plus outer plexiform layer (INL + OPL); outer nuclear layer plus external limiting membrane (ONL+); inner segment (IS); inner ellipsoid segment of the photoreceptor layer (ellipsoid); outer segment of the photoreceptor layer (OS), and RPE (Fig. 1A).

Central foveal thickness was defined as the thickness of the entire retina from the inner aspect of the inner limiting membrane (ILM) to the inner aspect of the RPE at the foveal center. The inner retina layers included all retinal tissue from the inner aspect of the ILM to the outer border of the INL.

## Layer Thickness Analysis

We used two different methods in layer thickness analysis for OCT morphology description and structure-function analysis. First, we measured a single point (A-scan) at the respective position (0°, 2.8°, and 8°) nasal to the fovea. Second, the average retinal thickness and the average thickness of the different OCT layers were calculated with custom software (Justus-Liebig-University) and presented as numeric values for nine Early Treatment of Diabetic Retinopathy Study (ETDRS) fields. The total area measured had a diameter of 6 mm around the foveal center and was divided into three concentric regions. The central region was 1 mm in diameter (C1), and the inner and outer circles were divided in four quadrants each (3 mm inferior, superior, nasal, and temporal: I3, S3, N3, and T3, respectively; 6 mm inferior, superior, nasal, and temporal: I6, S6, N6, and T6, respectively; Fig. 1A).

Outer photoreceptor regions were analyzed as described by Spaide et al.<sup>21</sup> Two defined spots were selected at the central fovea and at 2.8° toward the optic nerve head (Fig. 1B). They largely corresponded with the fundus-controlled testing pattern used in our recent publication.<sup>4</sup> The analysis was performed on three A-scans next to each other surrounding the 0° and the 2.8° point. On the basis of the exported A-scans, the median of three measurements was taken: length of central fovea cone outer segments (cCOS); length of perifoveal cone outer segments (pCOS); and length of perifoveal rod outer segments (pROS; Fig. 1B).

TABLE 1. Light Increment Sensitivity and VA in Prematures Compared With Term-Born Children<sup>4</sup>

	<i>N</i>	LIS 0°, decibel; mean ± SD	LIS Nasal 2.8°, decibel; mean ± SD	LIS Nasal 8°, decibel; mean ± SD	VA, logMAR; mean ± SD
Term	30	14 ± 1.7	13 ± 1.4	10 ± 1.8	−0.07 ± 0.05
no-ROP	100	12 ± 2.2	12.2 ± 1.7	9 ± 1.9	0.00 ± 0.09
sr-ROP	50	12 ± 1.9	11.6 ± 1.0	9 ± 2.2	0.00 ± 0.11

### Structure-Function Correlation

The thus-defined OCT parameters were correlated with our recently published data on VA and LIS at 0°, 2.8°, and 8° with fundus-controlled perimetry in the same cohort of children.<sup>4</sup> In particular, fundus-controlled data allowed precise allocation to the structural OCT maps (Fig. 1A).

Visual acuity was assessed with ETDRS letters. Fundus-controlled perimetry was performed with a microperimeter (MP1; Nidek Technologies, Tokyo, Japan) at 17 positions at the posterior pole of a customized pattern (1 stimulus at 0°, 8 stimuli at 2.8°, and 8 stimuli at 8°). The examination started always with Goldmann III stimuli, followed by a second examination with Goldmann I stimuli.<sup>4</sup> Only Goldmann I stimuli provided reliable LIS thresholds.<sup>4</sup> Results of the left eye were mirrored along the vertical axis to be comparable with those of the right eye. For precise alignment of the structure-function correlation, only the three stimuli nasal to the fovea were taken into account (Fig. 1A). The single LIS parameters at each eccentricity (2.8° and 8°) were within the standard deviation of all eight stimuli tested. The analysis between the nasal, temporal, superior, or inferior parts of the different eccentricities did not show any statistically significant differences among the participants.<sup>4</sup>

### Statistical Analysis

Statistical analysis was conducted with commercial software (Sigma Plot 12.0; Systat Software GmbH, Erkrath, Germany). Normal distribution was tested with the Shapiro-Wilk normality test. Kruskal-Wallis 1-way ANOVA on ranks was applied to test for significant differences among the different premature groups and term-born controls. Multiple comparison tests (Holm-Sidak or Dunn's method) were applied when testing for statistical differences between the groups and sectors (BW, GA, or stage). The linear regression model and Pearson correlation were used to test for bivariate correlations when comparing VA, LIS, and retinal layer thickness. Statistical significance was assumed at  $P < 0.05$ .

### RESULTS

The study included 100 preterm children without ROP (no-ROP), 50 preterm children with spontaneously resolved ROP documented with digital wide-field retinal imaging, and 30 children born at term. Of the 50 children, maximum stage 1 was detected in 21 children (zone 2:  $n = 16$ ; zone 3:  $n = 5$ ); another 21 children had stage 2 (zone 2:  $n = 17$ ; zone 3:  $n = 4$ ); and 8 children had stage 3 (zone 2:  $n = 7$ ; zone 3:  $n = 1$ ). All children from both groups were also further divided into sectors according to BW (<1000, 1000–1500, and >1500 g) and GA (<28, 28–32, and >32 weeks). Seven children (no-ROP:  $n = 1$ ; sr-ROP:  $n = 2$ ; term:  $n = 4$ ) were excluded because of poor scan image quality. The study groups' descriptive characteristics, including gestational age, birth weight, actual age, and sex have been published previously.<sup>4</sup> Table 1 summarizes the functional outcome in LIS and VA in the study

groups at stimulus positions relevant for this study.<sup>4</sup> Statistically significant differences were observed for LIS and VA at the foveal center (at 0°) within all three groups, and for LIS at 2.8° between term and sr-ROP.

The mean values of foveal (0°), perifoveal (2.8°), and peripheral (8°) thicknesses of the whole retina are shown in Figure 2A for all three groups. The mean values of the foveal minimum were highest in the sr-ROP group, intermediate in the no-ROP group, and lowest in the term-born group. These differences were statistically significant among all three groups in the foveal center (0°;  $P = 0.011$ ) and between sr-ROP and term in the perifoveal measuring point (2.8°;  $P = 0.032$ ). These data were confirmed by the ETDRS-based layer analysis, in which the C1 sector, representing the fovea, was significantly thicker in the no-ROP and sr-ROP groups compared with term. (Supplementary Fig. S1).

The impact of the ROP stage on retinal thickness is shown in Figure 2B. Retinal thickness was higher in all three subgroups (stage 1, 2, and 3) compared with term-born children, but no significant differences were observed among each other ( $P = 0.012$ ). In the prematurely born children, low GA and BW correlated significantly with a thicker central fovea (Figs. 2C, 2D; GA:  $P = 0.026$ ; BW:  $P = 0.037$ ). Multiple regression analysis, including GA, BW, ROP (spontaneously regressed/without) showed that low GA was the only significant risk factor.

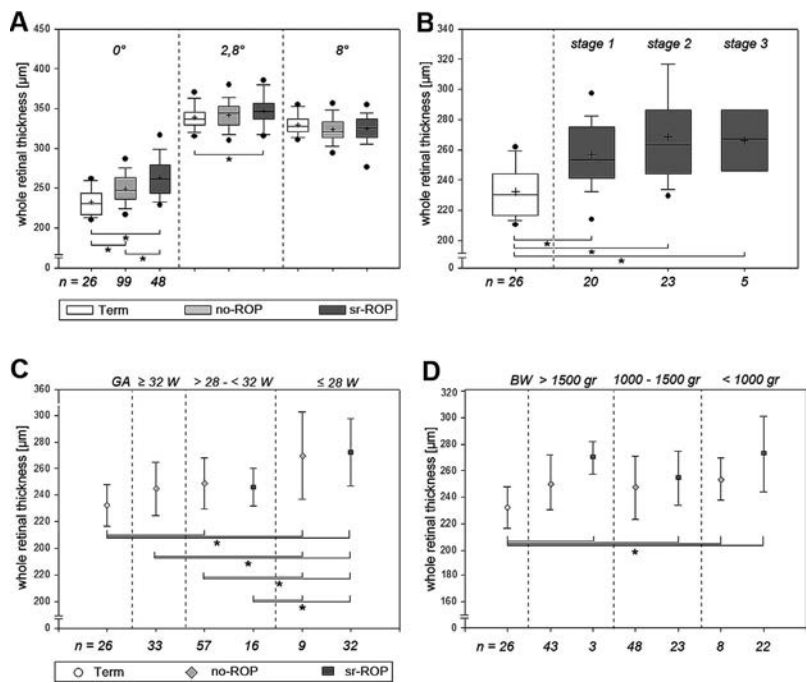
We observed significantly higher values of the mean thickness of the GCL+ layer for the sr-ROP group in relation to the no-ROP and term groups at 0° eccentricity (Fig. 3A;  $P = 0.014$ ). The layer ONL+ was significantly thicker in the no-ROP and sr-ROP groups compared with term (Fig. 3B;  $P = 0.022$ ). Again, these data were confirmed by the ETDRS grid-based layer analysis, in which C1, but no other sector, was significantly increased for both layers (Supplementary Figs. S2, S3;  $P = 0.045$ ). Similar to GCL+ and ONL+ thickness analysis, the INL+ thickness was significantly increased in C1 ( $P = 0.048$ ). All other sectors did not show any significantly changed layers within the groups (Supplementary Fig. S4). The analysis of RNFL thickness demonstrated no significant differences in the ETDRS grid layer analysis (Supplementary Fig. S5).

Measurements of cCOS, pCOS, and pROS did not reveal statistically significant changes between term and preterm children, independent of the presence or absence of ROP (cCOS:  $P = 0.601$ ; pCOS:  $P = 0.979$ ; pROS:  $P = 0.573$ ; Fig. 4).

When correlating whole retina thickness, GCL+, ONL+, RNFL, or INL+ with LIS or VA data, no correlation was found (data not shown), indicating that a thickened retina (often along with a shallow foveal pit or its complete absence) alone is not the reason for reduced LIS and VA in preterm children.

When analyzing the individual thickness profiles of all children, a subset of preterm children differed in their distribution of individual layers above IS (Fig. 5A). The retinal ratio analysis between different layers described in Table 2 was initiated after the single layer analysis did not result in conclusive data, although it was particularly noticeable that several children had abnormal foveae. When looking at the ratio of the ONL+ to the entire retinal thickness at the foveal





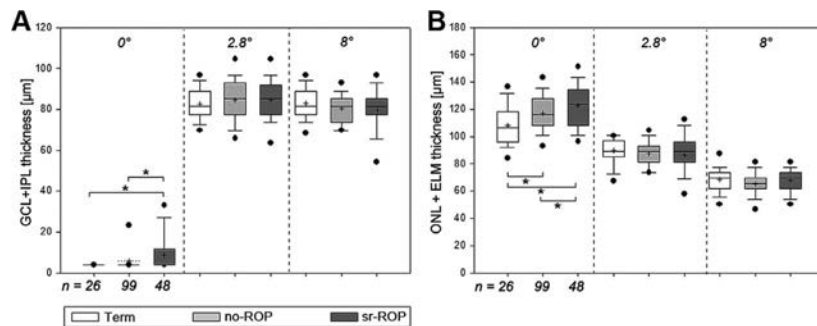
**FIGURE 2.** Whole retinal thickness analysis. **(A)** Spectral-domain OCT single-scan layer thicknesses of the whole retina displayed for the measuring points 0, 2.8, and 8° in sr-ROP and no-ROP children compared with term-born children. **(B)** Central whole retinal thicknesses in sr-ROP divided according to stage and compared with term. **(C)** Central foveal thickness divided by GA for no-ROP and sr-ROP groups compared with term. **(D)** Central foveal thickness divided by BW for no-ROP and sr-ROP groups compared with term. Significant differences ( $P < 0.05$ ) are represented with square brackets with asterisks. All other combinations are not significant.

minimum (foveal center at 0°), 29.3% of the no-ROP group (29/99 children), compared with 39.6% of the sr-ROP (19/48 children) had a ratio of ONL+ to whole retinal thickness (“retina”) below 45%, which is below the limit (complete range of measurements) of what was found in term-born children (Figs. 5A, 5B). The ratio of ONL+ to the sum of inner retinal layers (NFL + GCL + IPL + INL + OPL = IRL) and the ratio of IRL to whole retinal thickness differed significantly in the same subgroups (ANOVA  $P = 0.043$ ; Fig. 5B, Table 2). The impact of this morphologic anomaly, which we defined as macular developmental arrest (MDA), on LIS was significant (Fig. 5C). Children with significantly differing ratios had significantly lower LIS values compared with term-born children or children with normal ratios, whether they belonged to the no-ROP or the sr-ROP group ( $P = 0.009$ ). No correlation was found between VA values and the calculated retinal ratios (Supplementary Fig. S6).

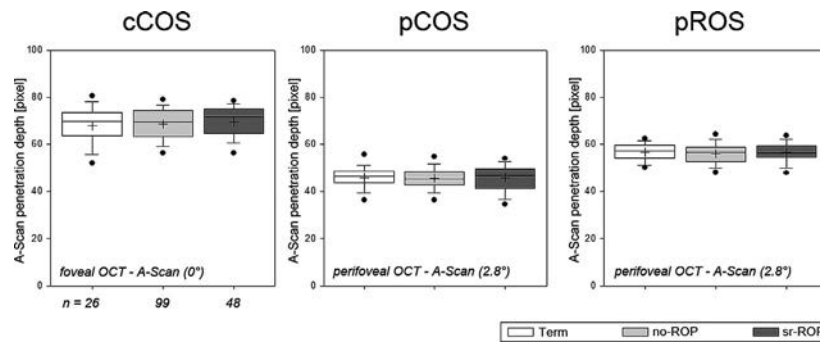
### DISCUSSION

In the present study, the effect of prematurity on foveal thickness was evaluated in 147 preterm children with and without ROP and 26 term-born children aged 6 to 13 years. None of the children showed any apparent psychological or neuronal disorders, neonatal hypoglycemia, or intraventricular hemorrhage, allowing concentration on the impact of ROP, gestational age, and birth weight on OCT morphology and functional outcome. To the best of our knowledge, this is the first OCT-based comparison of foveal morphology and LIS from fundus-controlled perimetry in a cohort of prematures. Furthermore, our study is the largest of prematures with analyzed foveal structure and function, and with documented retinal status at the time of screening for acute ROP<sup>1,15,17,18,22–26</sup>

Our analysis of retinal thickness confirms an increased central foveal thickness (0° and C1) in preterm children



**FIGURE 3.** Thickness analysis of GCL + IPL. **(A)** Spectral-domain OCT single scan layer thicknesses of the GCL + IPL layers displayed for the eccentricities 0, 2.8, and 8° in sr-ROP and no-ROP children compared with term-born children. **(B)** Spectral-domain OCT single-scan layer thicknesses of the ONL + ELM layers of the no-ROP and sr-ROP groups, compared with Term. Significant differences ( $P < 0.05$ ) are represented with square brackets with asterisks. All other combinations are not significant.

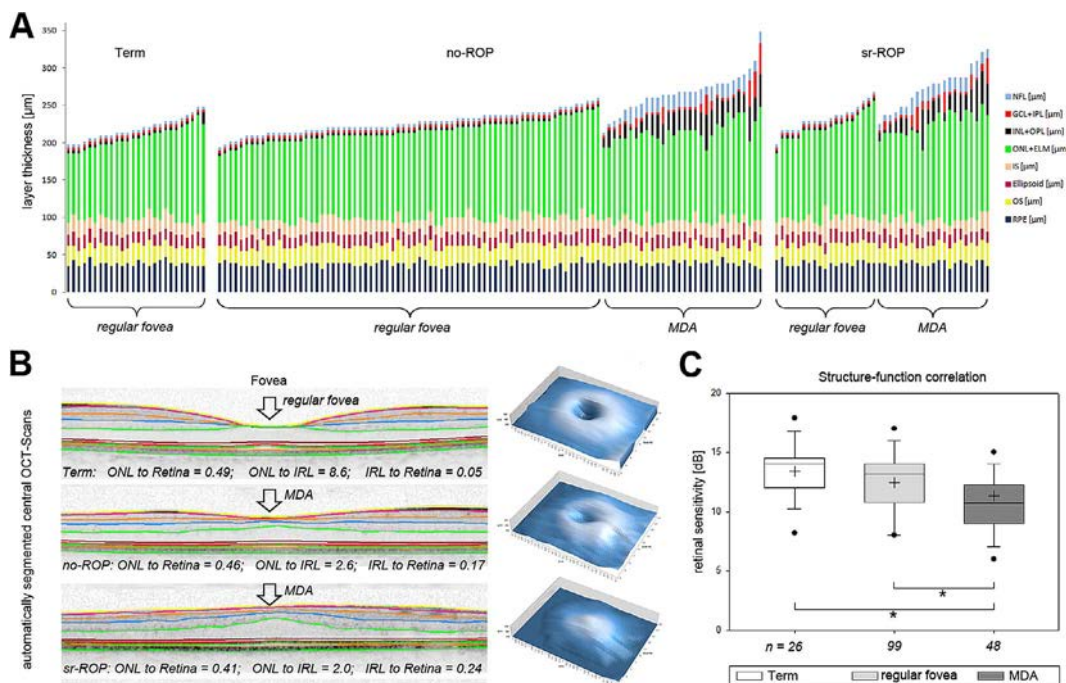


**FIGURE 4.** Photoreceptor outer segments analysis. Measurements of cCOS, pCOS, and pROS in sr-ROP and no-ROP patients compared with age-matched term-born children. Significant differences ( $P < 0.05$ ) are represented with *square brackets with asterisks*. All displayed combinations are not significant.

compared with that of full-term children reported in a number of recent studies,<sup>17,22–26</sup> and counteracts the study of Pueyo et al.<sup>1</sup> We observed thicker absolute GCL+ and ONL+ layers in preterm children in agreement with previous reports,<sup>16,22</sup> and confirm that other retinal layers were not significantly different as reported by the same authors.

Multiple comparison analysis of our data showed that foveal, GCL+, and ONL+ thickness strongly depended on GA, and less on BW. These parameters were inversely correlated with GA and BW, which is supported by Akerblom et al.<sup>17</sup> and Park et al.<sup>22</sup> Preterm birth between 24 and 28 weeks GA has been proposed as a critical period associated with a failure of the normal migration on inner retinal layers away from the fovea, resulting in increased foveal thickness.<sup>13,17,22</sup> In contrast, stage of ROP appeared to have no impact on the degree of abnormal foveal development.

While the absolute thicknesses of the GCL+, ONL+, and INL+ layers were significantly higher in prematures than in term-born controls, we found that the absolute layer thicknesses did not show a positive correlation to LIS or VA. A shallow foveal pit itself has been shown not to necessarily impede VA<sup>27</sup> or LIS, as shown in the present study. However, layer-specific OCT analysis disclosed a previously undescribed peculiarity in foveal morphology in a high number of premature children. One third of all prematures showed a disproportion of the ONL+ to whole retinal thickness ratio. This discrepancy emerged especially—but not exclusively—in prematures with higher central retinal thickness and independent of the groups, no-ROP or sr-ROP, which we defined as MDA. In previous studies, this morphology was often described as “shallow foveal pit,”<sup>24</sup> “foveal hypoplasia,”<sup>24,25</sup> or “fovea with overlying layers of neural cells.”<sup>23</sup> We suggest



**FIGURE 5.** Structure-function correlation of MDA as seen in SD-OCT. **(A)** Central thicknesses of retinal layers measured with SD-OCT, segmented with DiOCTA,<sup>20</sup> and plotted into the diagram. Every box represents one eye of one child, sorted by affiliation to their groups. Within the group, the children are sorted primarily by the whole retinal thickness and secondly by the sum of NFL + GCL + INL, described as MDA. **(B)** Automatically segmented SD-OCT-scans with marked fovea and associated ratio of “ONL+ to retina,” “ONL to IRL,” “IRL to retina,” and 3D-reconstruction of their foveal shape. **(C)** Preterms divided by ratio of “IRL to retina” compared with term (term, regular fovea, and MDA). Significant differences ( $P < 0.05$ ) are represented with *square brackets with asterisks*. All other combinations are not significant.

**TABLE 2.** Comparison of Three Different Mathematical Ratios Between ONL+, IRL, and Whole Retinal Thickness to Describe Retinal Morphology

	Ratio of ONL+ to Whole Retinal Thickness, mean (SD)	Ratio of ONL+ to IRL, mean (SD)	Ratio of IRL to Whole Retinal Thickness, mean (SD)
Term	0.499 ( $\pm 0.02$ )	9.176 ( $\pm 1.43$ )	0.055 ( $\pm 0.008$ )
no-ROP, regular fovea	0.515 ( $\pm 0.02$ )	10.062 ( $\pm 1.12$ )	0.052 ( $\pm 0.003$ )
no-ROP, MDA	0.441 ( $\pm 0.03$ )	2.386 ( $\pm 0.67$ )	0.197 ( $\pm 0.04$ )
sr-ROP, regular fovea	0.521 ( $\pm 0.04$ )	10.463 ( $\pm 1.5$ )	0.050 ( $\pm 0.003$ )
sr-ROP, MDA	0.452 ( $\pm 0.04$ )	2.522 ( $\pm 0.68$ )	0.191 ( $\pm 0.04$ )

that MDA describes best the underlying pathophysiology, resulting in a shallower foveal pit, significantly increased GCL+ and INL+ thickness, and simultaneous reduction of ONL+ thickness. Macular developmental arrest revealed a highly positive correlation to LIS measured with fundus-controlled perimetry.

In line with our photopic retinal sensitivity measurements, Menghini et al.<sup>28</sup> stated that in normal eyes, ONL thickness and cone density were significantly correlated. The relationship between ONL thickness and cone density was strongest at locations between 0.5 and 1.5° eccentricity, where cones dominate the ONL.<sup>28</sup> Their findings—observed with OCT and adaptive optics scanning laser ophthalmoscope (AOSLO) without the contribution from Henle fiber layer (HFL)<sup>28,29</sup>—compared favorably to similar results reported by others, where HFL measurements were included.<sup>30</sup> Although it remains still challenging to predict cone density from ONL thickness, our results show that prematures without ROP and with spontaneously regressed ROP have significantly reduced photopic retinal function on fundus-controlled perimetry, and that a likely explanation could be reduced cone density in the foveal center.

Interestingly, we did not find a reduced length of cone outer segments at 0 and 2.8° (cCOS, pCOS). This COS band, described by Spaide et al.,<sup>21</sup> was recently defined as the cone outer segment enclosed by apical processes of the RPE, and was reported to be absent at birth in prematures.<sup>12,18</sup> Recently published data on adaptive optics measurements of extrafoveal cone density and packing geometry in preterm eyes stated that there was no evidence of cone loss or changed thickness of photoreceptor laminae in children with treated ROP.<sup>31</sup> It was claimed that photoreceptors have at least a delayed maturation at the time of critical visual system development, and that this could be responsible for a reduced visual function.<sup>18</sup> So far, no longitudinal studies are available that have evaluated the development of retinal layers as seen with OCT over several years after birth. Evaluation of the cCOS, pCOS, and pROS thicknesses in our cohort is in agreement with ongoing maturation of photoreceptors into school age in prematures without ROP and with spontaneously regressed ROP, as suggested by Vajzovic et al.<sup>18</sup>

In conclusion, we found that the ratio of ONL+ to whole retinal thickness and IRL indicates a correlation between foveal morphology and LIS in former prematures without ROP and with spontaneously regressed ROP. As the reduced ONL+ ratio could indicate a reduced foveal cone density, further studies including AOSLO should follow to confirm our findings and further investigate the correlation between impaired retinal function and structural changes.

### Acknowledgments

Presented in part at the annual meeting of the Association for Research in Vision and Ophthalmology, Orlando, Florida, United States, May 2014.

Supported in part by a grant from the German Research Council (DFG LO457/10-1). The authors alone are responsible for the content and writing of the paper.

Disclosure: **W. Bowl**, None; **K. Stieger**, None; **M. Bokun**, None; **S. Schweinfurth**, None; **K. Holve**, None; **M. Andrassi-Darida**, None; **B. Lorenz**, None

### References

- Pueyo V, Gonzalez I, Altemir I, et al. microstructural changes in the retina related to prematurity. *Am J Ophthalmol*. 2015;159:797–802.
- Salmaso N, Jablonska B, Scafidi J, Vaccarino FM, Gallo V. Neurobiology of premature brain injury. *Nat Neurosci*. 2014;17:341–346.
- Malik S, Vinukonda G, Vose LR, et al. Neurogenesis continues in the third trimester of pregnancy and is suppressed by premature birth. *J Neurosci*. 2013;33:411–423.
- Bowl W, Lorenz B, Stieger K, et al. 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 [published online ahead of print December 1, 2015]. *Br J Ophthalmol*. doi:10.1136/bjophthalmol-2015-307855.
- Holmström GE, Larsson EK. Long-term follow-up visual functions in prematurely born children—a prospective population-based study up to 10 years of age. *J AAPOS*. 2008;12:157–162.
- Stephenson T, Wright S, O'Connor A, et al. Children born weighing less than 1701 g: visual and cognitive outcomes at 11–14 years. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2007;92:265–270.
- O'Connor AR, Fielder AR. Long-term ophthalmic sequelae of prematurity. *Early Hum Dev*. 2008;84:101–106.
- Provis JM. Development of the primate retinal vasculature. *Prog Retin Eye Res*. 2001;20:799–821.
- Garey LJ. Structural development of the visual system of man. *Hum Neurobiol*. 1984;3:75–80.
- Yuodelis C, Hendrickson AE. A qualitative and quantitative analysis of the human fovea during development. *Vision Res*. 1986;26:847–855.
- Hendrickson AE, Yuodelis C. The morphological development of the human fovea. *Ophthalmology*. 1984;91:603–612.
- Vajzovic L, Hendrickson AE, O'Connell RV, et al. Maturation of the human fovea: correlation of spectral-domain optical coherence tomography findings with histology. *Am J Ophthalmol*. 2012;154:779–789.e2.
- Wang J, Spencer R, Leffler JN, Birch EE. Critical period for foveal fine structure in children with regressed retinopathy of prematurity. *Retina*. 2012;32:330–339.
- Maldonado RS, O'Connell RV, Sarin N, et al. Dynamics of human foveal development after premature birth. *Ophthalmology*. 2011;118:2315–2325.
- Dubis AM, Subramaniam CD, Godara P, Carroll J, Costakos DM. Subclinical macular findings in infants screened for retinopa-

- thy of prematurity with spectral-domain optical coherence tomography. *Ophthalmology*. 2013;120:1665–1671.
16. Yanni SE, Wang J, Chan M, et al. Foveal avascular zone and foveal pit formation after preterm birth. *Br J Ophthalmol*. 2012;96:961–966.
  17. Akerblom H, Larsson E, Eriksson U, Holmstrom G. Central macular thickness is correlated with gestational age at birth in prematurely born children. *Br J Ophthalmol*. 2011;95:799–803.
  18. Vajzovic L, Rothman AL, Tran-Viet D, Cabrera M, et al. Delay in photoreceptor development in very preterm compared to term infants. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2015;56:908–913.
  19. Lorenz B, Spasovska K, Elflein H, Schneider N. Wide-field digital imaging based telemedicine for screening for acute retinopathy of prematurity (ROP). Six-year results of a multi-centre field study. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2009;247:1251–1262.
  20. Ehnes A, Wenner Y, Friedburg C, et al. Optical coherence tomography (OCT) device independent intraretinal layer segmentation. *Transl Vis Sci Technol*. 2014;3(1):1.
  21. Spaide RF, Curcio CA. Anatomical correlates to the bands seen in the outer retina by optical coherence tomography: literature review and model. *Retina*. 2011;31:1609–1619.
  22. Park KA, Oh SY. Analysis of spectral-domain optical coherence tomography in preterm children: retinal layer thickness and choroidal thickness profiles. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2012;53:7201–7207.
  23. Hammer DX, Iftimia NV, Ferguson RD, et al. Foveal fine structure in retinopathy of prematurity: an adaptive optics Fourier domain optical coherence tomography study. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2008;49:2061–2070.
  24. Recchia FM, Recchia CC. Foveal dysplasia evident by optical coherence tomography in patients with a history of retinopathy of prematurity. *Retina*. 2007;27:1221–1226.
  25. Ecsedy M, Szamosi A, Karko C, et al. A comparison of macular structure imaged by optical coherence tomography in preterm and full-term children. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2007;48:5207–5211.
  26. Lago A, Matieli L, Gomes M, et al. Stratus optical coherence tomography findings in patients with retinopathy of prematurity. *Arq Bras Oftalmol*. 2007;70:19–21.
  27. Marmor MF, Choi SS, Zawadzki RJ. Visual insignificance of the foveal pit: reassessment of foveal hypoplasia as fovea plana. *Arch Ophthalmol*. 2008;126:907–913.
  28. Menghini M, Lujan BJ, Zayit-Soudry S, Syed R, et al. Correlation of outer nuclear layer thickness with cone density values in patients with retinitis pigmentosa and healthy subjects. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2015;56:372–381.
  29. Lujan BJ, Roorda A, Knighton RW, Carroll J. Revealing Henle's fiber layer using spectral domain optical coherence tomography. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2011;52:1486–1492.
  30. Chui TY, Song H, Clark CA, Papay JA, Burns SA, Elsner AE. Cone photoreceptor packing density and the outer nuclear layer thickness in healthy subjects. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2012;53:3545–3553.
  31. Ramamirthan R, Akula JD, Soni G, Swanson MJ, et al. Extrafoveal cone packing in eyes with a history of retinopathy of prematurity. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2016;57:467–475.



# Einfluss der Makulareifung auf Ganzfeld- und multifokales ERG bei ehemaligen Extremfrühgeborenen mit und ohne akute Frühgeborenenretinopathie

## The Impact of Macular Development on Full-field and Multifocal ERG in Extremely Preterm-born Children with and without Acute Retinopathy of Prematurity

### Autoren

Wadim Bowl, Silke Schweinfurth, Kerstin Holve, Knut Stieger, Birgit Lorenz, Monika Andrassi-Darida

### Institut

Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde, Universitätsklinikum Gießen und Marburg GmbH, Standort Gießen

### Schlüsselwörter

Macular developmental Arrest, Ganzfeld-ERG, multifokales ERG, Frühgeborenenretinopathie, Extremfrühgeborene

### Key words

macular developmental arrest, full-field ERG, multifocal ERG, retinopathy of prematurity, extremely preterms

eingereicht 26.6.2017

akzeptiert 24.8.2017

### Bibliografie

DOI <https://doi.org/10.1055/s-0043-118830>

Klin Monatsbl Augenheilkd 2017; 234: 1235–1242 © Georg Thieme Verlag KG Stuttgart · New York | ISSN 0023-2165

### Korrespondenzadresse

Wadim Bowl

Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde, Universitätsklinikum Gießen und Marburg GmbH, Standort Gießen

Friedrichstraße 18, 35392 Gießen

Tel.: +49/(0)641/98543801, Fax: +49/(0)641/98543809

wadim.bowl@augen.med.uni-giessen.de

### ZUSAMMENFASSUNG

**Einleitung** Die Entwicklung und Reifung der Netzhaut ist ein komplexer Prozess, der sich bis in das Kleinkindesalter und darüber hinaus erstrecken kann. Die zentrale Netzhaut frühgeborener Kinder kann durch eine Reifungsstörung betroffen sein, die durch eine abgeflachte, dickere Fovea mit überlagernden Schichten innerer Netzhaut und einem gestörten Verhältnis der äußeren Photorezeptorschicht zu den inneren Netzhautschichten („macular developmental arrest“: MDA)

gekennzeichnet ist und zu funktionellen Nachteilen führen kann (Bowl et al. 2016 [18]). In dieser Studie untersuchten wir ehemalige Extremfrühgeborene mit spontan zurückgebildeter Frühgeborenenretinopathie (ROP) und ohne ROP sowie gleichaltrige Termingeborene elektrophysiologisch und betrachteten die Ergebnisse in Bezug zur Makulareifung.

**Methoden** Im Rahmen einer umfangreichen prospektiven Kohortenstudie untersuchten wir n = 60 frühgeborene Kinder mit spontan rückgebildeter ROP (srROP, n = 15), ohne ROP (noROP, n = 45) in der Anamnese sowie n = 10 termingeborene altersentsprechende Kinder (Term). Bei jedem Kind wurden zur funktionellen Analyse jeweils ein Ganzfeldelektroretinogramm (ffERG: a- und b-Welle), multifokales ERG (mfERG: P1) nach ISCEV-Standard sowie eine optische Kohärenztomografie (SD-OCT, Spectralis, Heidelberg Engineering, Deutschland) der Fovea zur morphologischen Einordnung durchgeführt.

**Ergebnisse** Im skotopischen ffERG zeigten Kinder mit srROP und noROP vor allem dann signifikant reduzierte b-Wellen-Antworten, wenn ein MDA im OCT nachweisbar war. Im mfERG war die P1-Komponente des zentralen Hexagons und des 2. konzentrischen Ringes bei Kindern mit MDA signifikant reduziert. Alle anderen Parameter zeigten keinen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen.

**Schlussfolgerung** Elektrophysiologische Veränderungen finden sich bei ehemaligen extrem frühgeborenen Kindern vor allem bei im SD-OCT nachweisbarer Makulareifungsstörung (MDA), und zwar sowohl bei Kindern ohne akute ROP als auch bei Kindern mit spontan zurückgebildeter ROP: Die reduzierte b-Welle im skotopischen ffERG und die reduzierte P1-Komponente im mfERG deuten auf eine Beteiligung der Bipolarzellen bei MDA hin. Insbesondere die Korrelation von MDA mit Auffälligkeiten im ffERG könnte ein Zeichen dafür sein, dass MDA mit einer globaleren Reifungsstörung der Netzhaut einhergeht und diese bei Extremfrühgeborenen mit und ohne ROP auftreten kann.

## ABSTRACT

**Introduction** Retinal development is a complex process that can continue into early childhood and beyond. Prematurity can affect the maturation of the central retina, characterised by a flatter foveal pit and overlying inner retinal layers (IRL), leading to a disturbed ratio of outer retinal layers to IRL (“macular developmental arrest”: MDA) and functional impairment (Bowl et al. 2016 [18]). The purpose of this study was to correlate functional results by electrophysiology with the morphological appearance of the fovea in children with spontaneously regressed and without ROP and term-born age-matched controls.

**Methods** We investigated n = 60 preterm-born children with spontaneously regressed (srROP, n = 15) and without ROP (noROP, n = 50) as part of an extensive prospective cohort study and compared them to n = 10 term-born age-matched controls (Term). Full-field electroretinogram (ffERG) and multifocal ERG (mfERG) based on ISCEV-standards were performed in every child for functional evaluation. Foveal mor-

phology was evaluated with optical coherence tomography (SD-OCT, Spectralis, Heidelberg Engineering, Germany).

**Results** Analysis of the scotopic ffERG showed significantly modified b-wave amplitudes in srROP and noROP, especially when MDA was found on SD-OCT. The mfERG exhibited a modified P1-component of the central hexagon and the second concentric ring in children with MDA. No other parameters were significantly changed.

**Conclusions** Electrophysiological changes can be found in extremely preterm-born children, especially with OCT-confirmed foveal maturation impairment (MDA), namely in children with spontaneously regressed ROP as well as in children without ROP. The reduced b-wave in the scotopic ffERG and the reduced P1-component in the mfERG indicate involvement of bipolar cells in extremely prematurely born children with MDA. In particular, the correlation of MDA with ffERG could be a sign of more global retinal maturation disturbance accompanying MDA, and this is seen even without acute ROP.

## Einleitung

Die Netzhautentwicklung beginnt früh in der Pränatalperiode, und zur Mitte der Schwangerschaft sind bereits alle Zelltypen angelegt, jedoch noch weitestgehend unreif [1]. Der folgende Entwicklungsverlauf umfasst die weitere Ausdifferenzierung der Zellen, ihre Migration und teilweise Apoptose, um das endgültige Erscheinungsbild der Netzhaut zu formen [2]. Die Entwicklung und Reifung der Netzhaut ist ein komplexer Prozess, der sich bis in das Kleinkindalter und darüber hinaus erstrecken kann [3–6]. Gesunde termingeborene Babys zeigen eine weniger differenzierte Stäbchen- als Zapfenantwort in der Ganzfeldelektroretinografie (Full-field ERG: ffERG), was darauf hindeutet, dass Zapfen früher ausreifen als Stäbchen [7, 8]. Eine zügige Entwicklung der ffERG-Antworten findet innerhalb der ersten 4 Lebensmonate statt und schreitet danach langsam bis zum Schulkindalter voran [9]. Bei frühgeborenen Babys der 30. Gestationswoche zeigen ffERG-Antworten sehr unreife niedrige Amplituden und lange Latenzen für Stäbchen und Zapfen [10, 11]. Bei ansonsten gesunden Frühchen gleichen sich die Antworten zur 40. Woche denen der gesund geborenen Kinder an [12]. Es gibt jedoch Anzeichen, dass sich die ffERG-Antworten bei Frühchen im weiteren Verlauf nicht im gleichen Ausmaß entwickeln wie bei gesunden termingeborenen Kindern und in unterschiedlichen Studien in einem bestimmten Ausmaß entweder in der Photorezeptorfunktion oder auf der Postrezeptorebene reduziert sind [13, 14].

Die Reifung des zentralen hinteren Pols, welcher die fovealen Zapfen beinhaltet, ist anfällig für Störungen, die durch die Frühgeborenenretinopathie (retinopathy of prematurity: ROP) hervorgerufen werden können [15]. Sowohl die zentrale Netzhautmorphologie, gemessen mit der optischen Kohärenztomografie, insbesondere im Spectral-Domain-Modus (SD-OCT), als auch die zentrale Funktion, gemessen bspw. mit der multifokalen Elektroretinografie (mfERG) sind bei Kindern, Jugendlichen und Erwach-

senen mit einer ROP in der Anamnese verändert [16, 17]. So haben OCT-Studien gezeigt, dass die Fovea von Patienten mit ROP eine flachere Einsenkung und eine dickere foveale Gesamtnetzhaut im Vergleich zu termingeborenen Kindern aufweisen [13, 17–19]. Das mfERG zeigt im Gegenzug signifikant reduzierte zentrale Antworten, hauptsächlich hervorgerufen durch reduzierte postrezeptorale Zellaktivität [16, 17, 20]. Zusätzliche Schichten innerer Netzhaut, welche die foveale äußere nukleäre Schicht (ONL+) und Henle-Fasern überlagern, verbunden mit einem gestörten Verhältnis der ONL+ zu den inneren Netzhautschichten, können als „macular developmental arrest“ (MDA) zusammengefasst werden [18]. Wir untersuchten in einer kürzlich erschienenen Publikation den Zusammenhang zwischen MDA und subjektiven Funktionsparametern, wie Visus und zentraler Lichtunterschiedsempfindlichkeit [18]. Hier berichten wir über den Zusammenhang von ffERG und mfERG mit MDA in derselben Patientenkohorte als Teil einer prospektiven Studie bei ehemaligen Extremfrühgeborenen, deren Netzhautstatus in Rahmen des augenärztlichen Frühgeborenen-Screenings immer mittels digitaler Weitwinkelfotografie dokumentiert worden war [21].

## Methoden

Die vorliegende Studie wurde als Teil einer prospektiven Langzeitnachsverfolgungsstudie ehemals extrem frühgeborener Kinder konzipiert (Förderung durch die DFG Lo457/10-1; Ethikvotum Gießen, Az 150/09), die nach ihrer Geburt zwischen den Jahren 2001 und 2007 mit einer digitalen Weitwinkelkamera (RetCam I; Massie Research Laboratories, Inc., Pleasanton, CA, USA) im Rahmen einer prospektiven multizentrischen telemedizinischen Studie untersucht wurden [21]. Perinatale Daten, inklusive einer dokumentierten ROP-Klassifikation, standen vollständig aus der Originalstudie zur Verfügung. Demografische Angaben finden sich in

► **Tab. 1.** Insgesamt untersuchten wir n = 15 extrem frühgeborene

► **Tab. 1** Demografische Daten und klinische Beschreibung der frühgeborenen Patienten (spontan rückgebildet: srROP; ohne ROP in der Anamnese: noROP; normale Foveamorphologie: noMDA; mit „macular developmental arrest“: MDA) und altersentsprechende termingeborene Kinder (Term).

	srROP	noROP		MDA	noMDA	Term
Patienten [n]	15	45	Gruppenumverteilung in MDA (n = 11 aus srROP und 30 aus noROP) und noMDA (3 aus srROP und 15 aus noROP)	41	19	10
Alter [Jahre]; Mittel ± SD	9,7 ± 1,8	9,5 ± 1,5		9,2 ± 1,6	9,6 ± 1,5	9,5 ± 1,4
Geschlecht (m/f)	8/7	27/18		26/17	20/27	4/6
Stadium (1/2/3)	4/8/3	–		3/7/1 von 11	1/1/2 von 4	–
GW [Wochen]; Mittel ± SD	28 ± 2,0	30 ± 2,4		29 ± 2,7	29 ± 2,6	40 ± 0,8
GG [g]; Mittel ± SD	1075 ± 239	1521 ± 412		1377 ± 415	1312 ± 377	3559 ± 278
BCVA [logMAR]; Mittel ± SD	–0,01 ± 0,05	–0,08 ± 0,05		0,02 ± 0,04	–0,02 ± 0,04	–0,1 ± 0,02
SER [dpt]; Mittel ± SD	0,4 ± 1,5	0,5 ± 1,5		0,5 ± 1,6	0,35 ± 1,7	–0,04 ± 0,5
foveale SD-OCT-Schichtanalyse						
Gesamtretinadicke [µm]	254 ± 33	247 ± 27		272 ± 24	229 ± 18	220 ± 9
IRL [µm]	32 ± 18	30 ± 22	48 ± 25	11 ± 7	9 ± 4	
ONL+ELM [µm]	124 ± 15	121 ± 13	127 ± 18	121 ± 11	117 ± 9	
ONL+/IRL-Verhältnis	4,9 ± 2,7	5,9 ± 3,4	3,2 ± 1,3	9,9 ± 1,6	9,9 ± 0,8	

GW: Gestationsalter; GG: Geburtsgewicht; BCVA: bestkorrigierter Visus; SER: sphärisches Äquivalent; IRL: innere Netzhautschichten; ONL: äußere nukleäre Schicht, ELM: externe limitierende Membran

Kinder mit einer spontan regredienten Frühgeborenenretinopathie (srROP) und n = 45 Kinder ohne Frühgeborenenretinopathie in der Anamnese. Ergänzt wurde unsere Studie durch n = 10 gesunde, termingeborene und altersentsprechende Kinder aus der lokalen Bevölkerung. Strabismus, Amblyopie, höhere Refraktionsanomalien ( $\leq \pm 2,5$  dpt) oder weitere Erkrankungen wurden bei den Normkindern durch eine eingehende augenärztliche und orthoptische Untersuchung ausgeschlossen. Alle Kinder in dieser Teilstudie haben alle Untersuchungen mit SD-OCT, mfERG und mfERG am besseren Auge (bei termingeborenen augengesunden Kindern randomisiert ausgewählt) erfolgreich absolviert.

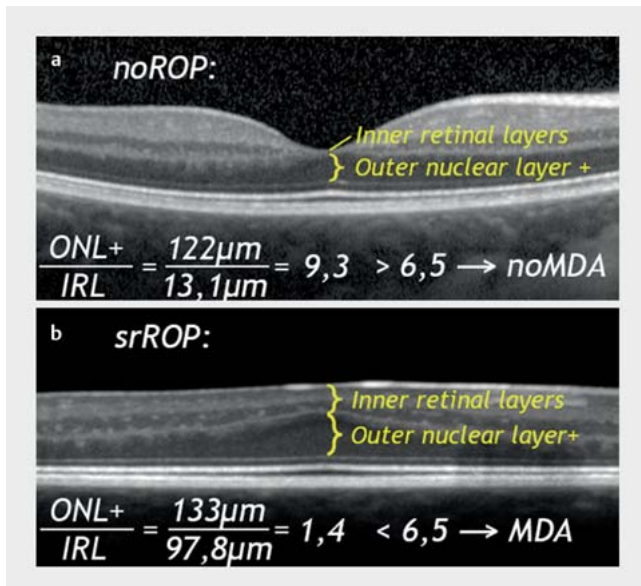
### ONL+/IRL-Verhältnis (MDA-Index)

Die Einteilung der Kinder nach Vorhandensein des „macular developmental arrest“ (MDA; Entwicklungshemmung der Makula) wurde mithilfe von High-Resolution-Spectral-Domain-OCT-Aufnahmen (SD-OCT) an einem Spectralis (HRA I, Heidelberg Engineering, Heidelberg, Deutschland) in Myosis durchgeführt. Jeweils das bessere Auge bzw. das führende Auge (bei 2 gleich guten Augen) des Patienten wurde untersucht und ausgewertet (passend zu den weiter durchgeführten Untersuchungen am mfERG und mfERG). Die Ergebnisse des linken Auges wurden auf das rechte Auge gespiegelt. Zur Analyse der zentralen Netzhautschichten wurde jeweils der Einzelscan mit der besten Qualität und bester fovealer Zentrierung ausgesucht (B-Scan; > 80 gemittelte Scans). Die Rohdaten wurden in eine von unserer Arbeitsgruppe entwickelte Segmentierungssoftware (DiOCTA; © Justus-Liebig-Universität, Gießen, Deutschland) exportiert und die Einzelschichtdicken automatisch vermessen.

Folgende Einzelschichten wurden segmentiert: Nervenfaserschicht (NFL); Ganglienzellschicht und innere plexiforme Schicht (GCL + INL = GCL+); innere nukleäre Schicht und äußere plexiforme Schicht (INL + OPL: INL+); äußere nukleäre Schicht und externe limitierende Membran (ONL + ELM: ONL+); innere Segmente, Ellipsoid und äußere Segmente (Ellipsoid + OS) sowie das retinale Pigmentepithel (RPE). Das Verhältnis von ONL+ zur IRL („IRL“ = „NFL“ + „GCL+“ + „INL+“) wurde wie in unserer kürzlich erschienenen Studie beschrieben berechnet und die Gruppen MDA (ONL+/IRL  $\leq 6,5$ ) und noMDA (ONL+/IRL > 6,5) gebildet (► **Abb. 1**) [18].

### Ganzfeld-ERG (full-field electroretinogram, ffERG)

Die Untersuchung erfolgte nach ISCEV-Standards (International Society of Clinical Physiology and Vision) [22] nach Mydriasis beider Pupillen und Verkabelung der Probanden mit Haut- und DTL-Elektroden (DTL: Dawson-Trick-Litzkow). Zur Stimulusprojektion und Signalanalyse wurde ein Espion System (Diagnosys LLC, Lowell, MA, USA) verwendet. Nach 30 Minuten Dunkeladaptation wurden im Skotopischen Einzelblitzmessungen mit 0,01 cd s/m<sup>2</sup>, 3 cd s/m<sup>2</sup> und 10 cd s/m<sup>2</sup>, oszillatorische Potenziale mit 3 cd s/m<sup>2</sup> sowie nach 10 Minuten Helladaptation photopische Einzelblitzmessungen mit 3 cd s/m<sup>2</sup> und 3 cd s/m<sup>2</sup> 30-Hz-Flicker-Messung durchgeführt. Die Fixation wurde kontinuierlich über eine Infrarotkamera im ColorDome kontrolliert. Alle ERG-Untersuchungen wurden von einem unserer 3 erfahrenen Untersucher durchgeführt und jeweils von den Eltern der Kinder im Untersuchungsraum begleitet (KH, SS, WB).



► **Abb. 1** Darstellung einer SD-OCT-Aufnahme direkt in der fovealen Grube mit der Messung der Parameter der äußeren nukleären Schicht und Henle-Faserschicht (outer nuclear layer = ONL+) und der Summe aller darüber liegenden Schichten der inneren Netzhaut (inner retinal layer = IRL). Das Verhältnis von ONL+/IRL wird berechnet und zum empirisch festgelegten Richtwert von 6,5 verglichen. **a** OCT-Aufnahme eines 7-jährigen Kindes aus der noROP-Gruppe. **b** OCT eines 8-jährigen Kindes aus der srROP-Gruppe.

## Multifokales Elektretinogramm (mfERG)

Der Proband verblieb nach der ffERG-Untersuchung und einer kurzen Erholungspause von 15 Minuten mit identischer Elektrodenverkabelung. Danach fixierte der Patient ein Muster aus 61 Hexagonen, entsprechend einem Gesichtsfeld von etwa 30° (Hexagon 1 im Zentrum; Ring 2: 6 Hexagone; Ring 3: 12 Hexagone; Ring 4: 18 Hexagone; Ring 5: 24 Hexagone). Das Stimulusprojektionssystem arbeitet mit einem monochromen CRT-Monitor bei einer Frame-Rate von 75 Hz und einer pseudorandomisierten m-Sequenz (Elementdauer 13,3 ms und Sequenzlänge  $2^{15}-1$  Elemente). Die Stimulation dauert 8 Minuten und wird in 16 Blöcke von 30 Sekunden Dauer eingeteilt. Stimulationshintergrund, helle und dunkle Elemente werden vom Hersteller mit 100 cd/m<sup>2</sup>, 200 cd/m<sup>2</sup> und < 2 cd/m<sup>2</sup> (Kontrast bei 99%) angegeben. Die nach ISCEV-Standards [23] abgeleiteten Antworten wurden durch das VERIS Multifocal System (EDI, Redwood City, CA, USA) am mfERG differenziell verstärkt, digitalisiert und dargestellt. Zur Analyse der mittleren Antworten wurden 5 konzentrische Hexagone verrechnet. Die Amplitude des Kerns 1. Ordnung wurde von der Baseline bis zum 1. Tal (N1) und von N1 bis zum 1. positiven Gipfel (P1) der Wellenantwort gemessen. Im Rahmen der Studie wurden alle Kinder mithilfe einer funduskontrollierten Perimetrie am Microperimeter MP1 (Nidek Technologies, Padua, Italien) auf Fixationsgenauigkeit untersucht veröffentlicht in [18]. Sämtliche Kinder konnten bei Aufforderung zur Fixation das Fixationskreuz durchgehend fixieren (Fixationsschwankungen innerhalb von 1° Radius) [18], was als indirektes Maß zur Fixation am mfERG herangezogen wurde.

## Statistische Auswertung

Die statistische Analyse erfolgte mit der kommerziell erhältlichen Software SigmaPlot 12.0 (Systat Software GmbH, Erkrath, Deutschland) und MS Excel 2013 (Microsoft, Redmond, WA, USA). Vor der Analyse möglicher Signifikanzen wurde auf Normalverteilung mit dem Shapiro-Wilk-Test geprüft. Bei den vorhandenen nicht parametrischen Daten wurde der Test Kruskal-Wallis One-way ANOVA on Ranks zum Testen signifikanter Unterschiede zwischen den Untergruppen verwendet. Als globales  $\alpha$ -Fehler-Niveau  $p \leq 0,05$  angenommen. Die Bonferroni-Korrektur für multiples Testen wurde zur Anpassung des globalen Signifikanzniveaus verwendet. Zur Abhängigkeitsanalyse mehrerer Parameter wurde eine Clusteranalyse mit dem DBSCAN-Algorithmus (density-based clustering) durchgeführt. Die Güte der Anpassung wurde mithilfe des Silhouettenkoeffizienten geprüft.

## Ergebnisse

Im Zeitraum von 2013 bis 2016 nahmen insgesamt 70 Kinder im Grundschulalter an unserer Studie teil (mittleres Alter:  $9,6 \pm 1,7$  Jahre). ► **Tab. 1** zeigt die Einteilung in die Gruppen (srROP, noROP und Term), sowie das jeweilige Gestationsalter und Geburtsgewicht. Der Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung (SD) des logMAR des bestkorrigierten Visus (BCVA) für das jeweils bessere Auge variierte von  $-0,01 \pm 0,05$  in der srROP-Gruppe über  $-0,08 \pm 0,05$  in der noROP-Gruppe bis zu  $-0,1 \pm 0,02$  bei den termingeborenen Kindern. Die srROP-Gruppe war bei Geburt signifikant leichter ( $p < 0,001$ ) und signifikant jünger ( $p = 0,008$ ) als die noROP- und die Term-Gruppe.

Das ONL+/IRL-Verhältnis (MDA-Index) zeigte eine nicht signifikante Verteilung zwischen den srROP- und noROP-Gruppen ( $p = 0,11$ ), jedoch einen deutlich signifikanten Unterschied zu der Term-Gruppe ( $p < 0,001$ ). 73,3% der Kinder aus der srROP-Gruppe und 66,7% der noROP-Gruppe hatten ONL+/IRL-Verhältnis von  $\leq 6,5$ , somit per Definition einen Macular developmental Arrest (MDA). Nach einer Gruppenumverteilung der srROP- und noROP-Gruppen in die MDA- und noMDA-Gruppen zeigte sich ein signifikanter Unterschied im ONL+/IRL-Verhältnis zwischen MDA und noMDA ( $p < 0,001$ ) und MDA und Term ( $p < 0,001$ ). Term und noMDA zeigten keinen signifikanten Unterschied im MDA-Index. Die MDA-Gruppe zeigte einen signifikant schlechteren BCVA (logMAR;  $0,02 \pm 0,04$ ) gegenüber noMDA (logMAR:  $-0,02 \pm 0,04$ ) und Term (logMAR:  $-0,1 \pm 0,02$ ;  $p = 0,01$ ).

Ergebnisse der elektrophysiologischen Untersuchungen sind in ► **Tab. 2** zusammengefasst. Das Signifikanzniveau für multiples Testen wurde durch die angewendete Bonferroni-Korrektur auf  $p = 0,0036$  festgesetzt. Die Auswertung der b-Welle im skotopischen ffERG ergab für beide Gruppenzusammenstellungen keine signifikanten Unterschiede zwischen frühgeborenen und termingeborenen Kindern (D 0,01 ERG b-Welle:  $p = 0,712$ ; D 3,0 ERG b-Welle:  $p = 0,608$ ). Ebenfalls keine Unterschiede konnten in den oszillatorischen Potenzialen gemessen werden (D 3,0 OSC b-Welle:  $p = 0,788$ ). Für helle Stimuli mit 10 cd s/m<sup>2</sup> Helligkeit wurden knapp am Signifikanzniveau liegende Reizantworten in der b-Welle zwischen den Gruppen srROP und noROP im Vergleich zu Term gemessen (D 10,0 ERG b-Welle:  $p = 0,004$ ). Deutlich signifikanter fiel der Unterschied zwischen MDA und noMDA (D 10,0 ERG b-

► **Tab. 2** Ergebnisse der elektrophysiologischen Untersuchungen. ffERG nach ISCEV. mfERG mit 30° Stimulusfenster und 5 konzentrischen Hexagonringen.

	srROP	noROP	MDA	noMDA	Term
Ganzfeld-ERG (ffERG; [ $\mu$ V])					
▪ D 0,01 ERG b-Welle	230 $\pm$ 98	221 $\pm$ 102	225 $\pm$ 96	218 $\pm$ 104	215 $\pm$ 98
▪ D 3,0 ERG a-Welle	201 $\pm$ 107	187 $\pm$ 78	176 $\pm$ 101	193 $\pm$ 81	202 $\pm$ 67
▪ D 3,0 ERG b-Welle	272 $\pm$ 144	308 $\pm$ 104	277 $\pm$ 132	298 $\pm$ 102	311 $\pm$ 87
▪ D 10,0 ERG a-Welle	193 $\pm$ 88	201 $\pm$ 74	194 $\pm$ 79	205 $\pm$ 83	214 $\pm$ 66
▪ D 10,0 ERG b-Welle	281 $\pm$ 132*	306 $\pm$ 111*	275 $\pm$ 122*	372 $\pm$ 118	374 $\pm$ 94
▪ D 3,0 OSC b-Welle	48 $\pm$ 20	48 $\pm$ 21	49 $\pm$ 21	48 $\pm$ 20	48 $\pm$ 19
▪ L3,0 ERG a-Welle	23 $\pm$ 10	35 $\pm$ 17	27 $\pm$ 14	36 $\pm$ 0	37 $\pm$ 14
▪ L3,0 ERG b-Welle	115 $\pm$ 31	128 $\pm$ 41	117 $\pm$ 36	140 $\pm$ 37	141 $\pm$ 33
▪ L30 Hz Flicker b-Welle	76 $\pm$ 14	87 $\pm$ 29	78 $\pm$ 18	83 $\pm$ 20	85 $\pm$ 25
multifokales ERG (mfERG; [nV])					
▪ P1-Komponente Ring 1	370 $\pm$ 81*	365 $\pm$ 88*	344 $\pm$ 73*	409 $\pm$ 90	422 $\pm$ 91
▪ Ring 2	412 $\pm$ 105	380 $\pm$ 100	346 $\pm$ 85*	412 $\pm$ 97	427 $\pm$ 93
▪ Ring 3	413 $\pm$ 86	400 $\pm$ 112	401 $\pm$ 117	399 $\pm$ 107	431 $\pm$ 101
▪ Ring 4	373 $\pm$ 101	391 $\pm$ 138	396 $\pm$ 100	402 $\pm$ 99	413 $\pm$ 94
▪ Ring 5	370 $\pm$ 94	404 $\pm$ 135	377 $\pm$ 1020	388 $\pm$ 112	411 $\pm$ 121

Werte jeweils dargestellt als Mittelwert  $\pm$  SD; \* Signifikanzanalyse immer gegen Term-Gruppe; Signifikanz ab  $p < 0,05$

Welle:  $p < 0,001$ ) und MDA zu Term aus (D 10,0 ERG b-Welle:  $p < 0,001$ ). Kein signifikanter Unterschied konnte zwischen noMDA und Term gemessen werden (D 10,0 ERG b-Welle:  $p = 0,576$ ). Die Analyse der skotopisch gemessenen a-Welle ergab für keine Gruppenzusammenstellung signifikante Unterschiede.

Photopische Reizantworten zeigten Tendenzen zur Signifikanz, jedoch keine signifikanten Ergebnisse im Vergleich aller Gruppen. Die srROP- und die MDA-Gruppe zeigten gegenüber Term die niedrigsten  $p$ -Werte in der Analyse der b-Welle für L3,0 ERG (srROP  $p = 0,072$ ; MDA  $p = 0,052$ ).

Im mfERG zeigten sich signifikante Unterschiede in der P1-Amplitude im zentralen Hexagon zwischen den srROP- und noROP-Gruppen und den termingeborenen Kindern (1:  $p = 0,002$ ). Das Signifikanzniveau für multiples Testen wurde durch die angewendete Bonferroni-Korrektur auf  $p = 0,005$  festgesetzt. Alle weiteren konzentrischen Zusammenfassungen der Hexagone (2 bis 5) zeigten in der Gruppenzusammenstellung srROP und noROP keine signifikante Differenz. Bei den MDA-Kindern zeigte sich eine deutliche signifikante Reduktion der P1-Amplitude im 1. Hexagon (1:  $p < 0,001$ ) und dem 2. konzentrischen Ring (2:  $p < 0,001$ ) im Vergleich zu noMDA und Term (Beispiel in ► **Abb. 2**).

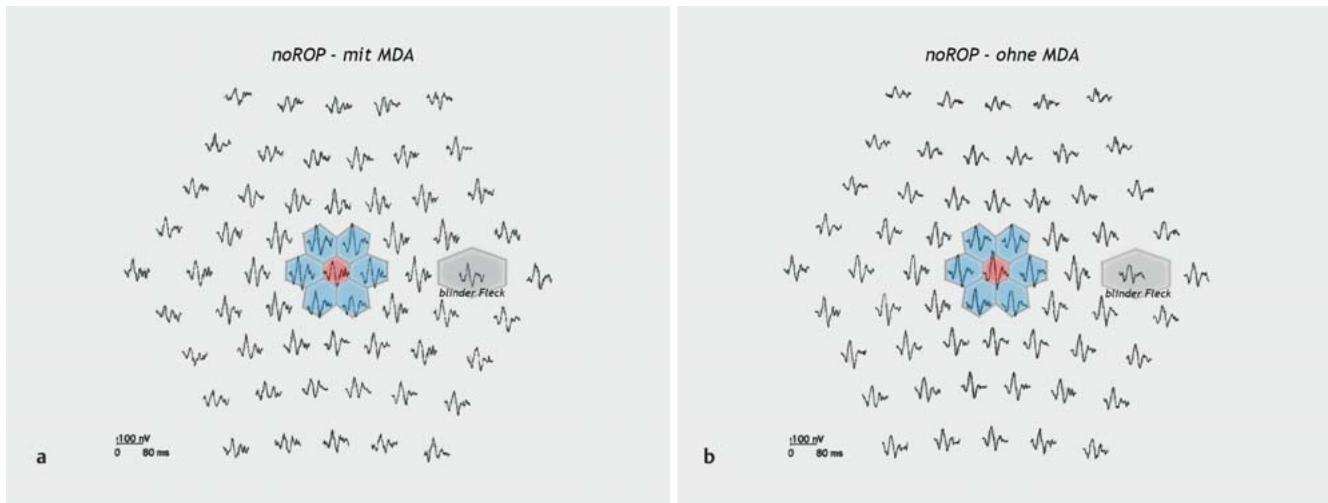
Sämtliche signifikant veränderten Parameter (ONL+/IRL-Verhältnis; ffERG D 10,0 ERG b-Welle; mfERG P1-Komponente Hexagon 1) wurden in einer 3-dimensionalen Clusteranalyse zusammengefasst (► **Abb. 3**). Die durchgeführte DBSCAN-Analyse (density-based clustering) ergab 2 voneinander deutlich getrennte Punktwolken. Das Zentroid von Cluster 1 liegt bei  $x = 3,76$  (ONL+/IRL-Verhältnis),  $y = 253,9$  (ffERG D10,0 ERG b-Welle in  $\mu$ V) und  $z = 322,7$  (mfERG P1-Komponente in nV). Das Zentroid von Cluster 2 liegt bei  $x = 10,35$  (ONL+/IRL-Verhältnis),  $y = 493,7$

(ffERG D 10,0 ERG b-Welle in  $\mu$ V) und  $z = 441,1$  (mfERG P1-Komponente in nV). Cluster 1 enthält Kinder aus der srROP- und noROP-Gruppe mit einem MDA-Index niedriger als 6,5. Cluster 2 enthält Kinder aus der srROP-, noROP- und Term-Gruppe mit einem MDA-Index höher oder gleich 6,5. Kinder in Cluster 1 haben eine im Mittel geringere P1-Komponente des zentralen Hexagons im mfERG und eine niedrigere b-Welle in D 10,0 ERG skotopisch als Kinder des Clusters 2. Der Silhouettenkoeffizient betrug 0,71 für Cluster 1 und 0,77 für Cluster 2 (bei einer Silhouettenkoeffizientenvariabilität von  $-1$  bis  $+1$ , wobei  $+1$  für die höchste Anpassungsgüte spricht).

## Diskussion

In dieser prospektiven Studie zeigen wir erstmals den Zusammenhang von objektiven elektrophysiologischen Funktionsanalysen der Netzhaut mit feinmorphologischen Untersuchungen der Netzhautmitte mittels SD-OCT von ehemaligen Extremfrühgeborenen im Grundschulalter, bei denen in der Neugeborenenperiode objektiv entweder keine ROP oder eine spontan rückgebildete ROP dokumentiert worden war (Lorenz et al. 2009 [21]). In der zur Verfügung stehenden Kohorte wurden bei jedem teilnehmenden Kind ein ffERG und mfERG nach ISCEV-Empfehlung sowie ein SD-OCT der Fovea durchgeführt. Unsere Ergebnisse zeigen, dass frühgeborene Kinder auch ohne ROP oder mit spontan zurückgebildeter ROP gegenüber termingeborenen Kindern in elektrophysiologischen Untersuchungen funktionelle Verluste haben können. Dies ist ein deutlicher Hinweis darauf, dass die sich entwickelnde Retina bei Frühgeborenen vulnerabel für Prozesse während der postnatalen Reifung ist. Insbesondere scheinen der hin-



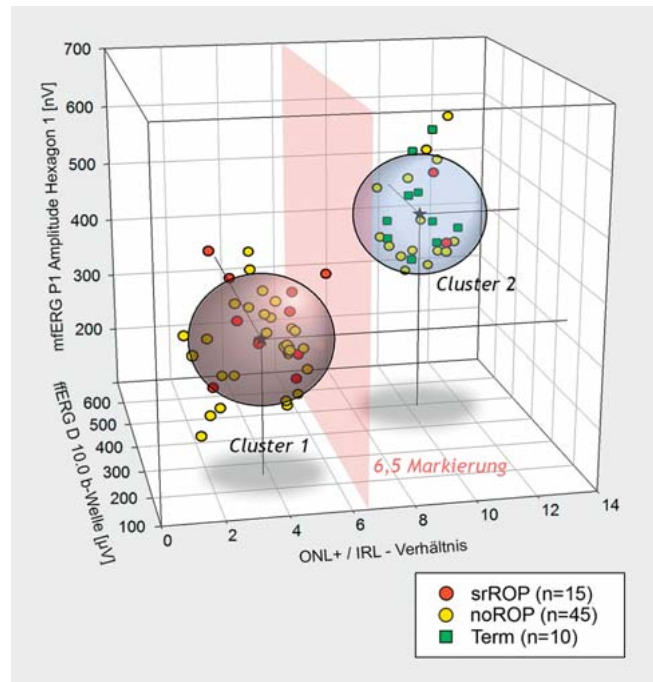


► **Abb. 2** Beispielhafte Darstellung des Trace-Array der monokularen multifokalen ERG-Aufzeichnung am VERIS Multifocal System (EDI, Redwood City, CA, USA) bei einem ehemals frühgeborenen Kind ohne ROP (noROP) mit Macular developmental Arrest (MDA, a) und einem Kind ohne ROP mit einer normal ausgeprägten Fovea (ohne MDA, b).

tere Pol und hier vor allem die Fovea anfällig zu sein, sogar dann, wenn keine akute ROP beobachtet wird.

Wir und andere Gruppen zeigten kürzlich eine veränderte foveale Morphologie mit einer verdickten zentralen Netzhaut, abgeflachter fovealer Grube und überlagernden Schichten innerer Netzhaut bei Frühgeborenen verschiedener Stadien der ROP [13, 18]. Das Missverhältnis von relativ dünner äußerer nukleärer Schicht zu den überlagernden Schichten innerer Netzhaut (ONL+/IRL-Verhältnis) definierten wir als „macular developmental arrest“ im Sinne einer fehlgeschlagenen Migration der Zellen innerer Netzhaut vom Zentrum zum Makulawall und von zusätzlichen Zapfen zur Foveamitte [18]. Wir berichteten, dass Kinder mit MDA einen reduzierten bestkorrigierten Visus und verringerte Lichtunterschiedsempfindlichkeit in der funduskontrollierten Perimetrie aufwiesen [18]. Einen reduzierten MDA-Index mit einhergehender Reduktion des BCVA konnten wir ebenfalls in einem Großteil der Patienten unserer Kohorte nachweisen (68,3% bei n untersuchten Kindern). Hierbei spielte das Vorhandensein einer ROP in der Anamnese eine untergeordnete Rolle. Insgesamt konnten wir beobachten, dass eine MDA bei Kindern mit niedrigem Geburtsgewicht und geringem Gestationsalter gehäuft auftritt. Wir vermuten, dass die Schwere der ROP, die bei extrem leichten und jungen Frühchen häufiger auftritt, ebenfalls einen Einfluss auf die Entwicklung einer MDA hat. Der genaue Ursprung und die zugrunde liegenden Faktoren, die letztendlich zu einer MDA führen, sind bisher noch nicht im Detail definiert.

Wir zeigen jetzt, dass ein niedriger MDA-Index auch mit elektrophysiologischen Veränderungen korreliert. Die P1-Komponente des mfERG wird geformt durch die Interaktion der Photorezeptorantwort und den Potenzialen der Bipolarzellen [24, 25]. In der vorliegenden Studie war die P1-Komponente bei frühgeborenen Kindern mit MDA niedriger als bei termingeborenen Kindern und Frühchen ohne MDA. Bisher ist unklar, welche Prozesse zu dieser signifikanten Reduktion führen. Ramamirtham et al. beschreiben veränderte optische Eigenschaften der Zapfen, die mit ihrer ver-



► **Abb. 3** Dreidimensionale Darstellung der Parameter ONL+/IRL (x-Achse), ffERG D 10,0 ERG b-Welle (y-Achse) und mfERG P1-Komponente im Hexagon 1 (z-Achse) im Verhältnis zueinander. Die DBSCAN-Clusteranalyse ergab 2 unabhängige Cluster (Cluster 1 und Cluster 2) mit Rauschen (außen liegende Messparameter). Die Zentroide (Schwerpunkte) der Cluster sind mit einem Stern und Achsenlinien (x–y–z) markiert.

änderten Dichte und Morphologie zusammenhängen [26]. Hammer et al. vermuteten hingegen, dass die Dichte der Bipolarzellen selbst abnimmt [17]. Da in unseren Messungen im ffERG hauptsächlich die b-Welle reduziert war, könnte man vermuten,

dass eher die Dysfunktion der Bipolarzellen an der Reduktion der P1-Komponente beteiligt ist.

Einen weiteren Hinweis auf die Beteiligung der Bipolarzellen liefert das fFERG. Wir konnten bei Kindern mit einem reduzierten MDA-Index eine reduzierte b-Welle unter skotopischen Bedingungen nachweisen. Allerdings war der Unterschied der b-Welle erst ab einer Blitzstärke von 10,0 cd s/m<sup>2</sup> signifikant, bei der bereits eine Mischantwort der Zapfen und Stäbchen und der zugehörigen Bipolarzellen erwartet wird. Bei der a-Wellen-Analyse konnten keine signifikanten Ergebnisse gefunden werden, weder im skotopischen noch im photopischen fFERG. Frühgeborene ohne MDA zeigten die gleichen Funktionswerte wie termingeborene Kinder. Ähnliche Beobachtungen wurden in anderen Studien bereits dargestellt, wobei Harris et al. reduzierte fFERG-Antworten sowohl in der a- als auch in der b-Welle bei etwa gleichaltrigen ehemals frühgeborenen Kindern (10 Jahre und älter) mit und ohne ROP in der Anamnese zeigten [14]. Bei älteren Kindern (ab 14 Jahren) normalisierte sich die b-Wellen-Antwort, wobei eine reduzierte a-Welle blieb [14]. Dies wurde auf eine Reorganisation neuronaler Verschaltung im postrezeptoralen Bereich zurückgeführt, die bei spontaner Rückbildung der ROP angenommen wurde [27–29]. Allerdings konnten verbesserte b-Wellen-Reizantworten nur bei Kindern ohne ROP bzw. mit milden Verläufen der ROP nachgewiesen werden [14]. In unserer Studie war die b-Welle unter photopischen Bedingungen in der MDA-Gruppe verglichen zur noMDA- und Term-Gruppe ebenfalls tendenziell niedriger, zeigte jedoch im Unterschied zum mfERG keine signifikanten Ergebnisse. Vermutlich hängt das Ergebnis mit einem größeren Gesichtsfeldbereich zusammen, der vom fFERG (Ganzfeld = 180°) im Gegensatz zum mfERG (30°) erfasst wird, wodurch der Einflussbereich der MDA auf das gesamte Gesichtsfeld reduziert wird.

## Fazit

In unserer Studie konnten wir einen Zusammenhang zwischen morphologischen Veränderungen der zentralen Netzhaut im Sinne eines „macular developmental arrest“ und elektrophysiologischen Veränderungen der zentralen und peripheren Netzhaut ermitteln. Die reduzierte b-Welle im skotopischen fFERG und die reduzierte P1-Komponente im mfERG könnten auf eine Beteiligung der Bipolarzellen bei MDA hinweisen. Es ist somit wahrscheinlich, dass MDA eine morphologisch erfassbare Veränderung einer möglicherweise globaleren Reifungsstörung der Netzhaut ist, die bei Frühgeborenen mit und ohne ROP auftreten kann. Globalere Faktoren, wie Gestationsalter oder Geburtsgewicht allein, lassen dagegen keine ausreichende Vorhersage bez. der zu erwartenden retinalen funktionellen Konsequenzen zu. Da heute mittels handgehaltenem SD-OCT die Makulamorphologie bereits früh postnatal hochauflösend analysiert werden kann, ist zu erwarten, dass prognostische Aussagen bez. der retinalen Funktion im späteren Alter bereits in den ersten Lebensjahren gemacht werden können.

## Interessenkonflikt

Die Autoren geben an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

## Literatur

- [1] Hendrickson A, Drucker D. The development of parafoveal and mid-peripheral human retina. *Behav Brain Res* 1992; 49: 21–31
- [2] Provis JM, van Driel D, Billson FA et al. Development of the human retina: patterns of cell distribution and redistribution in the ganglion cell layer. *J Comp Neurol* 1985; 233: 429–451
- [3] Hendrickson A, Possin D, Vajzovic L et al. Histologic development of the human fovea from midgestation to maturity. *Am J Ophthalmol* 2012; 154: 767–778.e2
- [4] Hendrickson AE. Primate foveal development: a microcosm of current questions in neurobiology. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1994; 35: 3129–3133
- [5] Provis JM, Diaz CM, Dreher B. Ontogeny of the primate fovea: a central issue in retinal development. *Prog Neurobiol* 1998; 54: 549–580
- [6] Vajzovic L, Hendrickson AE, O’Connell RV et al. Maturation of the human fovea: correlation of spectral-domain optical coherence tomography findings with histology. *Am J Ophthalmol* 2012; 154: 779–789.e2
- [7] Fulton AB, Hansen RM, Westall CA. Development of ERG responses: the ISCEV rod, maximal and cone responses in normal subjects. *Doc Ophthalmol* 2003; 107: 235–241
- [8] Hansen RM, Fulton AB. Development of the cone ERG in infants. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005; 46: 3458–3462
- [9] Birch DG, Anderson JL. Standardized full-field electroretinography. Normal values and their variation with age. *Arch Ophthalmol* 1992; 110: 1571–1576
- [10] Berezovsky A, Moraes NS, Nusinowitz S et al. Standard full-field electroretinography in healthy preterm infants. *Doc Ophthalmol* 2003; 107: 243–249
- [11] Hamilton R, Bradnam MS, Dudgeon J et al. Maturation of rod function in preterm infants with and without retinopathy of prematurity. *J Pediatr* 2008; 153: 605–611
- [12] Zhou X, Huang X, Chen H et al. Comparison of electroretinogram between healthy preterm and term infants. *Doc Ophthalmol* 2010; 121: 205–213
- [13] Åkerblom H, Andreasson S, Holmström G. Macular function in preterm children at school age. *Doc Ophthalmol* 2016; 133: 151–157
- [14] Harris ME, Moskowitz A, Fulton AB et al. Long-term effects of retinopathy of prematurity (ROP) on rod and rod-driven function. *Doc Ophthalmol* 2011; 122: 19–27
- [15] Isenberg SJ. Macular development in the premature infant. *Am J Ophthalmol* 1986; 101: 74–80
- [16] Fulton AB, Hansen RM, Moskowitz A et al. Multifocal ERG in subjects with a history of retinopathy of prematurity. *Doc Ophthalmol* 2005; 111: 7–13
- [17] Hammer DX, Iftimia NV, Ferguson RD et al. Foveal fine structure in retinopathy of prematurity: an adaptive optics Fourier domain optical coherence tomography study. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008; 49: 2061–2070
- [18] Bowl W, Stieger K, Bokun M et al. 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: OCT235–OCT241
- [19] Ecsedy M, Szamosi A, Karkó C et al. A comparison of macular structure imaged by optical coherence tomography in preterm and full-term children. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007; 48: 5207–5211
- [20] Hood DC. Assessing retinal function with the multifocal technique. *Prog Retin Eye Res* 2000; 19: 607–646
- [21] Lorenz B, Spasovska K, Elflein H et al. 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: 1251–1262

- [22] Marmor MF, Fulton AB, Holder GE et al. International Society for Clinical Electrophysiology of Vision. ISCEV Standard for full-field clinical electroretinography (2008 update). *Doc Ophthalmol* 2009; 118: 69–77
- [23] Hood DC, Bach M, Brigell M et al. International Society For Clinical Electrophysiology of Vision. ISCEV standard for clinical multifocal electroretinography (mfERG) (2011 edition). *Doc Ophthalmol* 2012; 124: 1–13
- [24] Hare WA, Ton H. Effects of APB, PDA, and TTX on ERG responses recorded using both multifocal and conventional methods in monkey. Effects of APB, PDA, and TTX on monkey ERG responses. *Doc Ophthalmol* 2002; 105: 189–222
- [25] Hood DC, Frishman LJ, Saszik S et al. Retinal origins of the primate multifocal ERG: implications for the human response. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2002; 43: 1673–1685
- [26] Ramamirtham R, Akula JD, Soni G et al. Extrafoveal cone packing in eyes with a history of retinopathy of prematurity. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2016; 57: 467–475
- [27] Jones BW, Kondo M, Terasaki H et al. Retinal remodeling. *Jpn J Ophthalmol* 2012; 56: 289–306
- [28] Marc RE, Jones BW, Watt CB et al. Extreme retinal remodeling triggered by light damage: implications for age related macular degeneration. *Mol Vis* 2008; 14: 782–806
- [29] Moskowitz A, Hansen RM, Fulton AB. Retinal, visual, and refractive development in retinopathy of prematurity. *Eye Brain* 2016; 8: 103–111



# Cone-Mediated Function Correlates to Altered Foveal Morphology in Preterm-Born Children at School Age

Wadim Bowl,\* Sinan Raoof, Birgit Lorenz, Kerstin Holve, Silke Schweinfurth, Knut Stieger, and Monika Andrassi-Darida

Department of Ophthalmology, Justus-Liebig-University, Giessen, Germany

Correspondence: Monika Andrassi-Darida, Department of Ophthalmology, Justus-Liebig-University, Friedrichstrasse 18, Giessen 35392, Germany; monika.andrassi-darida@augen.med.uni-giessen.de.

Current affiliation: \*Department of Nuclear Medicine, Justus-Liebig-University Giessen, Giessen, Germany.

Submitted: May 24, 2018

Accepted: February 21, 2019

Citation: Bowl W, Raoof S, Lorenz B, et al. Cone-mediated function correlates to altered foveal morphology in preterm-born children at school age. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2019;60:1614–1620. <https://doi.org/10.1167/iovs.18-24892>

**PURPOSE.** To correlate cone- and rod-mediated function with morphology of the macula in preterm-born children without and with spontaneously regressed retinopathy of prematurity (ROP).

**METHODS.** We performed spectral-domain optical coherence tomography (SD-OCT) single scans in the macular center of preterm-born children aged 6 to 12 years (mean  $\pm$  SD,  $7.4 \pm 1.8$ ) without ROP (noROP;  $n = 59$ ) and with spontaneously regressed ROP (srROP;  $n = 34$ ), documented with wide-angle digital imaging during routine screening for acute ROP, and compared the data from 14 age-matched term-born children. SD-OCT data were compared to functional cone- and rod-mediated results of scotopic and photopic chromatic pupillometry (cP) and two-color fundus-controlled perimetry (2C-FCP).

**RESULTS.** SD-OCT showed a shallowed foveal pit with significantly reduced outer nuclear layer to inner retinal layer ratio, indicating macular developmental arrest (MDA). MDA was present in 44% of the srROP and 27% of the noROP children. Pupil reaction to photopic red stimuli on blue background showed significantly lower values in all preterm-born children with MDA. In accordance, photopic light increment sensitivity (LIS) to red stimuli in the foveal center on the 2C-FCP was also significantly reduced in children with MDA. Under scotopic conditions, no significant differences were apparent in both pupil reaction with cP and LIS with 2C-FCP.

**CONCLUSIONS.** Both objective pupillary response to cone-mediated photopic red stimuli and subjective central cone-mediated results in fundus-controlled perimetry were reduced in preterm-born children with MDA. MDA was present in a significant number of patients with srROP, but also without ROP.

**Keywords:** chromatic pupillometry, two-color perimetry, optical coherence tomography, prematurity, retinopathy of prematurity, macular developmental arrest

Retinal maturation begins in the early prenatal period and by mid-gestation all retinal cell types are present but still not fully mature.<sup>1,2</sup> Differentiation of cell types, centrifugal and centripetal migration, and apoptosis are continuing in part not only until full-term birth but also until several years after birth.<sup>3,4</sup> Healthy, full-term infants have a more immature full-field electroretinogram (ffERG) response from rods than from cones when measured at birth, indicating a slower rod maturation process.<sup>5,6</sup> Rapid development of ffERG responses takes place in the first few months after birth.<sup>7</sup> Prematurely born infants show immature responses from both rods and cones.<sup>8,9</sup> Even if these responses seem to adapt to the responses of full-term infants at 40 weeks of gestational age, they are maturing more slowly in subsequent childhood development.<sup>10,11</sup> The impact of immaturity and retinopathy of prematurity (ROP) in preterm-born children on the structural and functional development of the retina is still not fully explored. Several studies<sup>12–15</sup> have shown increased macular thickness with a shallow fovea and persistent inner retinal layers (IRLs) in preterm-born children. These morphologic changes coexist with various visual dysfunctions when tested at school age, such as decreased best-corrected visual acuity,

altered foveal light increment sensitivity (LIS), and reduced multifocal ERG responses (mfERG).<sup>12,16–19</sup>

Reduced cone photoreceptor function under photopic lighting conditions in the foveal and parafoveal area<sup>12,16,18,19</sup> has been accurately evaluated with fundus-controlled perimetry.<sup>12</sup> Unfortunately, dark-adapted perimetry, as a practical diagnostic tool, is hampered by long test duration, high patient burden, and lack of accurate fixation control. Scotopic protocols require up to 60 or more minutes, and typically, more than 100 threshold estimates are made. The long duration and a high number of threshold measurements can fatigue patients and affect reliability and reproducibility.<sup>20</sup>

We previously have developed a fundus-controlled method to measure central LIS under scotopic conditions with minimal fixation inaccuracy and good sensitivity and specificity.<sup>12</sup> The present study aimed at correlating the precisely located values of photopic and scotopic responses to scotopic and photopic stimuli in former preterm children with or without spontaneously regressed ROP (srROP) by using scotopic and photopic chromatic pupillometry (cP). This approach is suited to young children with minimum compliance required. In parallel, we evaluated morphologic changes of the fovea as seen by spectral-domain optical coherence tomography (SD-OCT).



**TABLE 1.** Demographic Data and SD-OCT Parameters for Groups Divided Into Children With srROP and noROP in Comparison to nChild

Parameter	srROP	noROP	nChild	ANOVA, <i>P</i> Values
Patients = eyes	34	59	14	-
Age, mean ± SD, y	7.3 ± 1.6	7.5 ± 1.5	6.8 ± 1.8	>0.05
Sex				-
Male	29	29	5	
Female	15	30	9	
Stage, 1/2/3		-	-	-
1	8			
2	24			
3	2			
GA, mean ± SD, wk	28.4 ± 1.7	31.2 ± 2.1	40.2 ± 0.9	<0.001
BW, mean ± SD, g	1081 ± 316	1488 ± 326	3654 ± 505	<0.001
BCVA, mean ± SD, logMAR	0.00 ± 0.07	-0.02 ± 0.05	-0.06 ± 0.04	-
Foveal SD-OCT analysis				
Whole retinal thickness, μm	260 ± 22	251 ± 23	230 ± 14	>0.05
IRL thickness, μm	23 ± 14	18 ± 12	7 ± 3	>0.05
ONL+ELM thickness, μm	112 ± 16	118 ± 14	109 ± 14	>0.05
ONL+/IRL index	4.9 ± 3.1	5.3 ± 3.4	10.0 ± 0.8	>0.05

BCVA, best-corrected visual acuity; BW, birth weight; GA, gestational age.

## METHODS

### Subjects

The present investigation was performed as a part of a long-term follow-up study of preterm-born participants from a prospective multicenter field study conducted between 2001 and 2007.<sup>21</sup> Research followed the tenets of the Declaration of Helsinki. Ethical approval was obtained from the local institutional ethics committee (Az 150/1). A total of 107 subjects were included in the study: 93 preterm-born children and 14 healthy age-matched term-born controls.

All 93 preterm children were imaged at the time of the prospective ROP screening study by using digital wide-field retinal imaging (RetCam I; Massie Research Laboratories, Inc., Pleasanton, CA, USA), which provided reliable documentation of ROP.<sup>21</sup> In the present study, only children without apparent psychological or neuronal disorders, neonatal hypoglycemia, intraventricular hemorrhage, or severe birth asphyxia-related hypoxic-ischemic encephalopathy were included, and all children attended regular schools and showed no significant deficiencies in basic literacy and numeracy. Parents were specifically asked as to early childhood development and performance at school. All perinatal data were available from the original field study. Demographic data and group formation are displayed in Tables 1 and 2.

Fourteen healthy age-matched term-born children who had no history of ocular abnormalities, strabismus, amblyopia, or high refractive errors, and who were capable of performing all tests in this study, were recruited from the local population.

All analyses described below were performed in the groups of preterm-born children with srROP (*n* = 34), preterm-born children without ROP (noROP; *n* = 59), and age-matched term-born children (nChild; *n* = 14) (Table 1).

### Optical Coherence Tomography and Layer Segmentation

High-resolution SD-OCT was performed with a Spectralis-OCT (HRA+OCT; Heidelberg Eng, Heidelberg, Germany). One eye of each participant was analyzed, matching to the eye in which fundus-controlled scotopic and photopic perimetry was performed. This was always the better-seeing eye in case of interocular asymmetry, and the dominant eye in participants

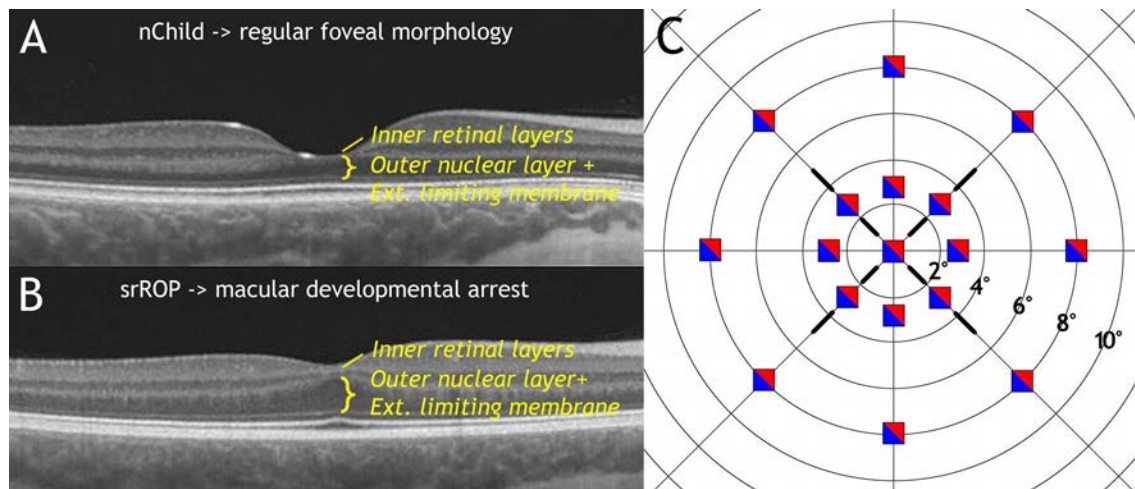
with symmetric performance. Left eye results were mirrored along the vertical axis to be comparable with the right eye. To evaluate the fovea, only single scans (B-scans, >80 averaged scans) with best resolution and best foveal centration were analyzed. Images were exported into a custom automated layer segmentation software<sup>22</sup> (DiOCTA; copyright by Justus-Liebig-University, Giessen, Germany), and the thicknesses of six defined retinal layers were measured automatically.

We defined the following layers: retinal nerve fiber layer (NFL); ganglion cell layer plus inner plexiform layer (GCL+IPL); inner nuclear layer plus outer plexiform layer (INL+OPL); outer nuclear layer plus external limiting membrane (ONL+ELM); inner segment plus inner ellipsoid segment of the photoreceptor layer plus outer segment of the photoreceptor layer (Ellipsoid + OS), and retinal pigment epithelium (RPE). The ratio of ONL+ELM (in short ONL+) to the sum of IRLs (IRL = NFL+GCL+IPL+INL+OPL) overlying the foveal center was calculated, as described in our recent publications<sup>12,19</sup> (Figs.

**TABLE 2.** Demographic Data and SD-OCT Parameters for Groups Divided Into Children With MDA and noMDA

Parameter	MDA ( <i>n</i> = 31)	noMDA ( <i>n</i> = 62)	ANOVA, <i>P</i> Values
Patients = eyes	31	62	-
Age, mean ± SD, y	7.5 ± 1.3	7.4 ± 1.6	>0.05
Sex			-
Male	18	30	
Female	13	32	
No ROP	16/31	43/62	
Stage			-
1	8	9	
2	4	10	
3	2*	0	
GA, mean ± SD, wk	29.8 ± 2.7	30.3 ± 2.0	>0.05
BW, mean ± SD, g	1264 ± 454	1377 ± 315	>0.05
BCVA, mean ± SD, logMAR	0.02 ± 0.05	-0.018 ± 0.05	>0.05
Foveal SD-OCT analysis			
Whole retinal thickness, μm	273 ± 23	245 ± 15	<0.001
IRL thickness, μm	31 ± 15	8 ± 1	<0.001
ONL+ thickness, μm	119 ± 15	119 ± 19	>0.05
ONL+/IRL index	4.5 ± 1.7	15 ± 2	<0.001

\* Stage and zone was not recorded for one child.



**FIGURE 1.** (A, B) Examples of OCT single scans with measure marks that demonstrate the outer nuclear layer with the external limiting membrane (ONL+) and the sum of inner retinal layers overlying the ONL+ in the center of the fovea. (C) Stimulus pattern used in scotopic and photopic fundus-controlled perimetry.

1A, 1B). To elucidate the impact of pathologically changed foveal morphology, the groups were redistributed into groups with an ONL+/IRL ratio  $\leq 6.5$  (with macular developmental arrest [MDA]) and at least seven with normal foveal morphology (noMDA). Corresponding values were evaluated in our previous publications.<sup>12,19</sup>

**Chromatic Pupillometry**

The pupil reaction to chromatic stimuli was recorded with a modified f2D Pupillometer (Bino1; AMTech, Dossenheim, Germany). The pupillometer is a goggle-based device with two inbuilt infrared-cameras for simultaneous recording of both pupil reactions (Fig. 2A). The frame speed was set to 25 Hz, according to the manufacturer's instructions. Stimulus projection was achieved with a time-triggered Espion Ganzfeld ColorDome Stimulator (Espion E<sup>2</sup>; Diagnosys LLC, Lowell, MA, USA).

Based on the protocols described by Park et al.,<sup>23</sup> Kardon et al.,<sup>24</sup> Kawasaki et al.,<sup>25</sup> and Lisowska et al.,<sup>26</sup> blue and red stimuli were displayed with a duration of 1 second under dark and light-adapted conditions. All preterm-born and term-born children were tested with a protocol containing three repeats

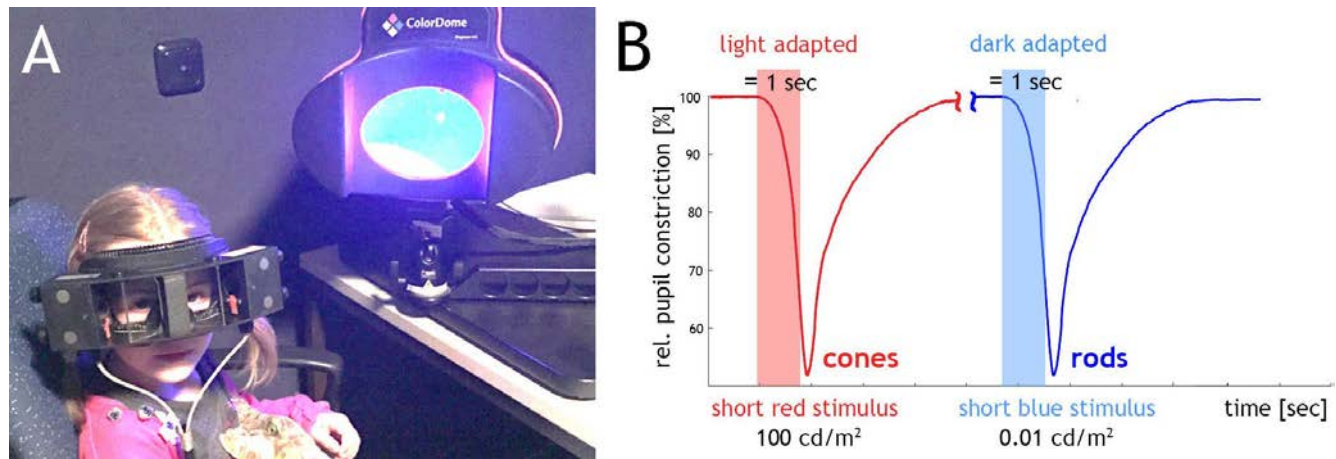
of fixed illuminances (0.01 cd/m<sup>2</sup> blue stimuli at a wavelength of 460 nm and 100 cd/m<sup>2</sup> red stimuli at a wavelength of 640 nm). Dark-adapted testing was performed after 20 minutes in the dark. Dark-adapted protocols were performed with blue stimuli on black background in a darkroom. Light-adapted protocols were performed with red stimuli on blue background (0.78 cd/m<sup>2</sup>) under room light conditions, with 3 minutes' adaptation time to the blue background before the test (Fig. 2B).

The direct pupil reaction to the short stimulus was recorded as the maximum pupil constriction amplitude. The pupil reaction was evaluated as the maximum constriction relative to the baseline of the dark- or light-adapted pupil diameter, and maximum pupil constriction amplitude was defined as the delta from a corrected baseline to the maximum deflection of the wave height.

**Fundus-Controlled Chromatic Perimetry (2C-FCP)**

A commercially available Microperimeter MP1 (Nidek Technologies, Padova, Italy) was modified for the purpose of two-color scotopic and photopic perimetry as described in our previous publication.<sup>27</sup> Stimuli were presented at 17 positions

Investigative Ophthalmology & Visual Science



**FIGURE 2.** (A) Child wearing the chromatic pupillometry goggles in front of the Ganzfeld stimulator. (B) Chromatic pupillometry examples for pupillary response measurement under scotopic and photopic conditions.



**TABLE 3.** Objective Scotopic and Photopic Chromatic Pupillometry and Subjective Scotopic Two-Color Fundus-Controlled Functional Data Grouped According to the Presence of ROP or of MDA

Examination Method	srROP (n = 34)	noROP (n = 59)	nChild (n = 14)	ANOVA
cP: scotopic blue, mean ± SD, %	32.3 ± 5.5	32.2 ± 4.7	31.8 ± 3.0	<i>P</i> = 0.980
2C-FCP: scotopic 8° blue, mean ± SD, dB	13.3 ± 3.5	12.9 ± 3.2	14.2 ± 2.2	<i>P</i> = 0.275
cP: photopic red, mean ± SD, %	32.2 ± 4.9	32.6 ± 4.7	36.1 ± 3.2	<i>P</i> = 0.005
2C-FCP: scotopic 0° red; mean ± SD, dB	6.9 ± 2.3	6.8 ± 2.2	7.2 ± 0.8	<i>P</i> = 0.876
2C-FP: photopic 0° red, mean ± SD, dB	12.4 ± 1.9	12.8 ± 2.3	13.4 ± 1.6	<i>P</i> = 0.285
	MDA (n = 31)	noMDA (n = 62)	nChild (n = 14)	ANOVA
cP: scotopic blue, mean ± SD, %	32.2 ± 3.4	32.3 ± 5.6	31.8 ± 3.0	<i>P</i> = 0.979
2C-FCP: scotopic 8° blue, mean ± SD, dB	13.3 ± 3.4	12.9 ± 3.2	14.2 ± 2.2	<i>P</i> = 0.396
cP: photopic red, mean ± SD, %	29.3 ± 3.5	34.1 ± 4.6	36.1 ± 3.2	<i>P</i> < 0.001
2C-FCP: scotopic 0° red, mean ± SD, dB	4.5 ± 1.7	7.9 ± 1.5	7.2 ± 0.8	<i>P</i> < 0.001
2C-FP: photopic 0° red, mean ± SD, dB	10.8 ± 1.5	13.6 ± 1.9	13.4 ± 1.6	<i>P</i> < 0.001

noMDA, regular foveal morphology on OCT.

of a customized pattern on the posterior pole of the retina up to 8° eccentricity. Light output of the MP1 was reduced by a Schott (Mainz, Germany) longpass filter RG780 (>50% transmission above 716 nm) and a Schott bandpass filter BG3 (>50% transmission from 250–435 nm) outside the instrument to create the stimulus colors red and blue. Goldmann size III blue and red stimuli were presented on a background of 0.16 cd/m<sup>2</sup> under dark-adapted conditions. Additionally, red stimuli were presented on a background of 1.27 cd/m<sup>2</sup> under light-adapted conditions, preset by the manufacturer. The rod-mediated light increment sensitivity measured with the blue stimuli was taken from the averaged results of 8 stimuli placed at 8° eccentricity (Fig. 1C).

### Statistical Analysis

Statistical analysis was conducted by using Sigma Plot 12.0 (Systat Software, San Jose, CA, USA) and MS Excel 2013 (Microsoft, Redmond, WA, USA). Normality test was conducted with the Shapiro-Wilk normality test. Kruskal-Wallis 1-way ANOVA on ranks was applied to test for significant differences among the different premature groups and term-born children to test for statistical differences between the groups. The Holm-Sidak test for multiple comparison was applied as a post hoc test for pairwise comparison. An overall significance level of *P* = 0.05 was set. To take into account the fact that there were multiple comparisons on three groups, the Bonferroni correction was used.

## RESULTS

### Morphologic Analysis of OCT Data

SD-OCT showed a shallowed foveal pit coupled with significantly reduced ONL+IRL ratio (*P* < 0.001) in 15 patients of the srROP group and 16 patients of the noROP groups compared to nChild. Mean retinal thicknesses in the foveal center were significantly greater in the srROP (*P* < 0.001) and noROP (*P* < 0.001) groups. Accordingly, mean thicknesses of the sum of IRLs were significantly thicker in both preterm-born groups (srROP and noROP) than in age-matched term-born controls (*P* = 0.011). However, the ONL+ELM thicknesses showed no significant differences between the three groups (*P* = 0.288).

In a previous analysis of structural and functional data from premature children, we have defined a cutoff value with regard to the ONL+IRL ratio as measured on SD-OCT images, which

separates subjects with a shallow foveal pit and presence of IRL at the fovea from those with a healthy foveal pit and no IRL (Figs. 2A, 2B).<sup>12</sup> We termed the first condition as “macular developmental arrest.” In the current study, MDA was present in 16 preterm children without ROP (27% of noROP) and 15 preterm children with srROP (44% of srROP), while noMDA was observed in 43 preterm children without ROP (73% of noROP) and 19 children with srROP (56% of srROP) (Table 2). The children with MDA displayed a significantly thicker IRL and whole retina thickness at the foveal minimum (*P* < 0.01, Table 2).

### Photopic Results

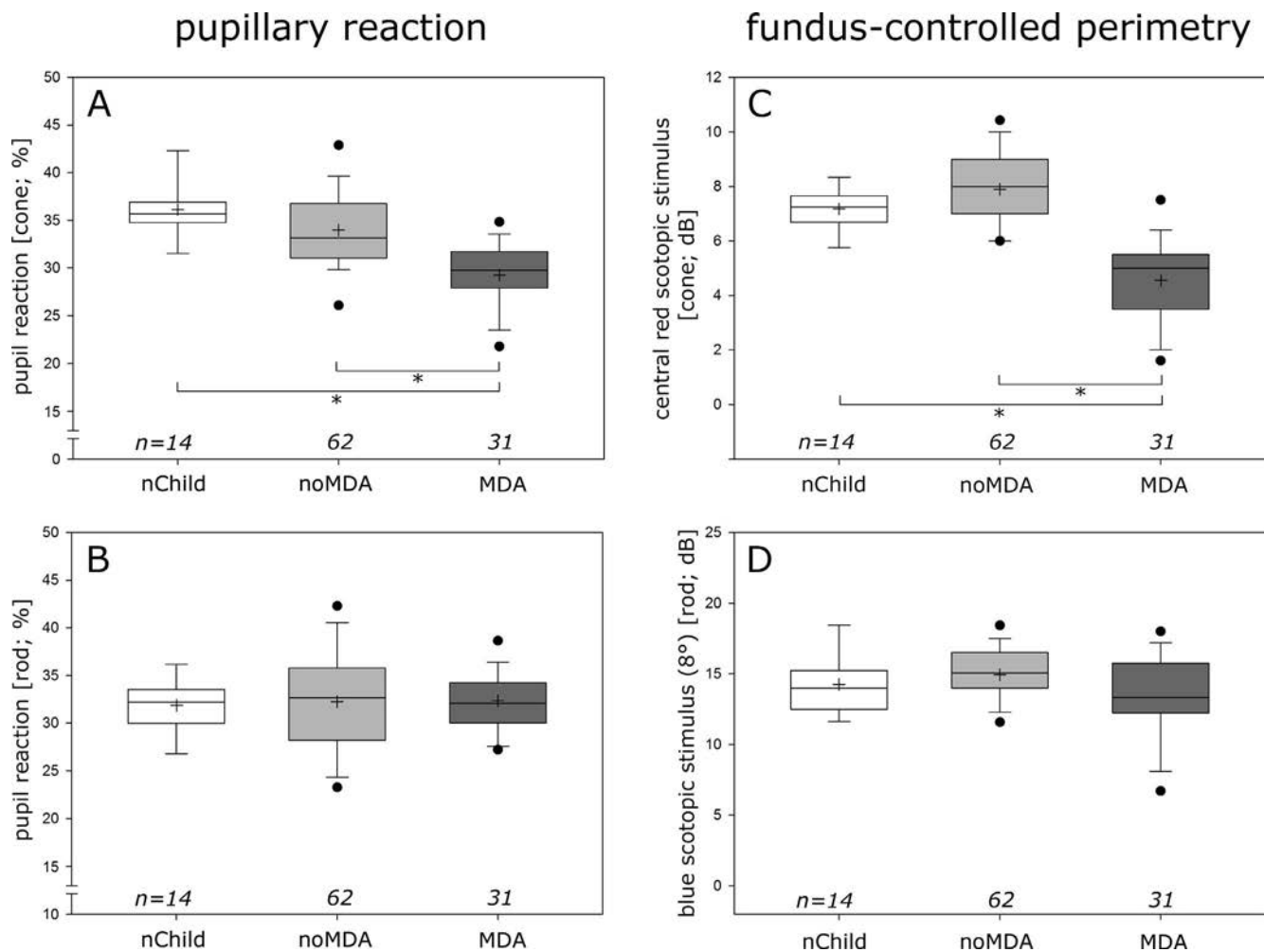
Under photopic conditions, the pupil reaction to red stimuli on blue background showed significantly lower values in both srROP and noROP groups compared to age-matched term-born controls (*P* = 0.005) (Table 3). The significance level was set at *P* = 0.005 owing to the Bonferroni correction. LIS measurements to red stimuli in the modified fundus-controlled perimeter showed no such significances for the srROP, noROP, and nChild groups (*P* = 0.285). Taking into account the results of the foveal morphologic analysis and redistributed preterm-born groups, the MDA group showed significantly reduced pupillary reaction to photopic red stimuli (*P* < 0.001) (Fig. 3A), and photopic LIS to red Goldmann III stimuli at 0° and 2.8° on the 2C-FCP (*P* < 0.001) (Fig. 4A; Table 3).

### Scotopic Results

Under scotopic conditions, all groups (srROP, noROP, nChild) showed no significant differences on both objectively measured pupil reaction to blue stimuli in cP and subjectively measured LIS to blue stimuli in 2C-FCP (*P* values in Table 3; Figs. 4B, 4C). Even after redistributing the groups of srROP and noROP according to MDA or noMDA, no significant differences were seen for scotopic reactions to blue stimuli in cP (Fig. 3B), or with regard to LIS regardless of eccentricity tested (Figs. 3D, 4). In contrast, MDA was associated with significantly reduced scotopic LIS to red Goldmann III stimuli at 0° and 2.8° on the 2C-FCP (*P* < 0.001) (Figs. 3C, 4B; Table 3).

## DISCUSSION

The present study adds to the previously reported results that MDA in preterm children has an effect on the central sensitivity under conditions that induce cone-mediated results. We and



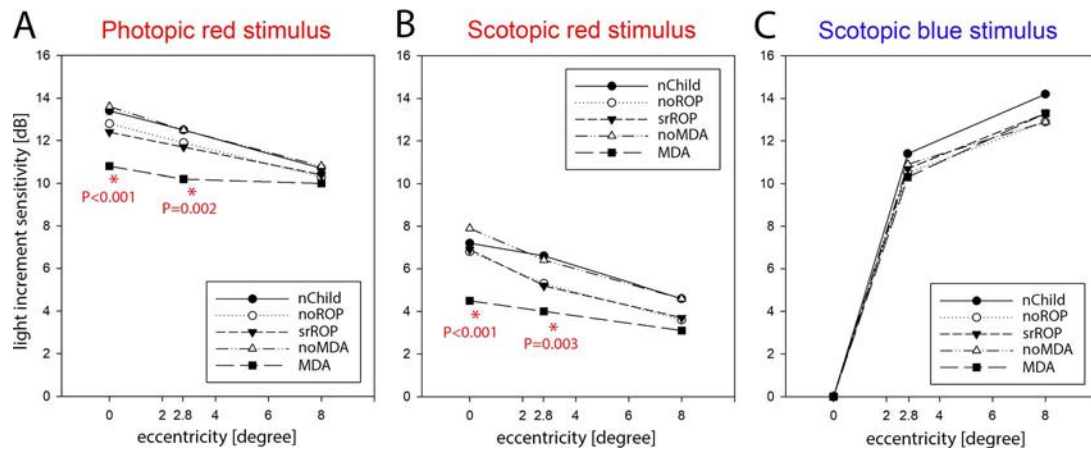
**FIGURE 3.** Data of chromatic pupillometry (A, B) and fundus-controlled perimetry (C, D), and patients and probands grouped according to the presence or absence of MDA. (A) Pupil reaction to red stimuli, showing the cone responses in the test, demonstrates a significantly reduced reaction in the MDA group, both when compared to noMDA or nChild. (B) Pupil reaction to blue stimuli, showing the rod responses in the test, demonstrates no differences between groups. (C) LIS values for the central red stimulus under scotopic conditions show a significantly reduced threshold in the MDA group compared to both the noMDA and nChild group. (D) LIS values for the blue stimuli under scotopic conditions show no significant differences between groups. \* $P = 0.05$ .

others<sup>12,28–30</sup> have shown previously a higher incidence of foveal abnormalities with SD-OCT in infants and children with a history of ROP. A current explanation is that IRLs have failed or not completed their centrifugal migration. Also, at the same time, cone photoreceptors have completed their centripetal migration after preterm birth.<sup>4,28,29</sup> One assumption is that the morphologic and functional changes in the central fovea go along with parafoveal changes and impairments of photoreceptors before and on the rod ring at approximately 18° eccentricity.<sup>28</sup> In our previous study,<sup>12</sup> preterm-born children show significantly reduced cone-mediated LIS to photopic red stimuli in the foveal center. We now showed that preterm-born children with MDA also had a significantly lower pupillary reaction to red, that is, cone-mediated stimuli with cP. The pathology was only evident in cones, as rod-mediated pupillary reaction was similar in all three groups. Pupillometry is an objective functional test requiring minimal cooperation and could therefore enable evaluation of central cone function even at a much younger age.

In previous reports, rod and cone photoreceptor function has been assessed in premature children with a history of ROP by ffERG and mfERG.<sup>10,11,16–19,31</sup> While scotopic ffERG allows

assessment of rod photoreceptor function, photopic ffERG describes cone function. Both ffERG methods measure the summation response of all photoreceptors, similar to the response of all rod or cone photoreceptors to blue or red cP. Interestingly, in the present study we observed reduced cone function but no alteration to the rod-mediated response in cP. Earlier studies using ffERG have described loss of rod function,<sup>11</sup> but no cone function loss.<sup>17</sup> However, in those studies, persistent rod function loss is only seen in children with severe ROP, whereas in children with milder forms of ROP, rod function is only reduced in infancy but is normal in school children. The data are therefore in line with our results obtained with cP, because we only assessed patients with mild spontaneously regressed or no ROP history.

MfERG is a way to document functional deficits of foveal cones.<sup>10,16,18,19,31</sup> The mfERG response is a complex waveform that combines contributions from the cone photoreceptors and potentials from cone ON and OFF bipolar cells of the postreceptor retina.<sup>32,33</sup> The spatial resolution of the mfERG enables assessment of local areas within the retina, similar to the data obtained with 2C-FCP. Again, mfERG data from patients with a history of severe ROP display reduced cone



**FIGURE 4.** Data of fundus-controlled perimetry with spatial resolution. (A) LIS values to photopic red stimuli at 0°, 2.8°, and 8° eccentricity. (B) LIS values to scotopic red stimuli at 0°, 2.8°, and 8° eccentricity. (C) LIS values to scotopic blue stimuli at 0°, 2.8°, and 8° eccentricity.

function, while milder forms of ROP or no ROP at all are not associated with cone function loss.<sup>31</sup> This correlation with severity of ROP is in line with the data obtained with 2C-FCP, where we assessed premature children with mild or no ROP.

Functional diagnostic tools for quantitative evaluation of retinal function of patients are valuable across patients with different retinal diseases.<sup>34–38</sup> Throughout all procedures, specific narrowband stimuli are used to determine rod- or cone-mediated reaction across the retina. Every procedure asks for active cooperation of the patient, except cP, where the response of the retina is estimated through the assessment of the pupil size. In the simplest form, cP is conducted by sequentially displaying a series of individual red or blue full-field stimuli in a specialized full-field-stimulator, while an infrared camera scans the pupil size of both eyes. The patient does not need to actively respond to the presented stimuli because the pupil reacts on a subconscious, autonomic level. In contrast to other diagnostic methods, like full-field stimulus test,<sup>39</sup> dark-adapted two-color threshold perimetry,<sup>40</sup> and fundus-controlled two-color threshold adaptometry,<sup>28</sup> cP examinations provide fully objective data on retinal function, but without spatial resolution. To our knowledge, this is the first study on premature-born children that provides cone- and rod-mediated responses measured with cP. The value of such objective functional data is supported by significantly correlated results from subjective fundus-controlled scotopic and photopic perimetry in the same cohort, providing exact spatially resolved information. The point in favor of the cP technique is its usability in children before school age, when cooperation in subjective functional tests is limited or absent as is in infants.

In conclusion, we showed for the first time a decreased objective cone-mediated pupillary response to photopic red stimuli that correlated to reduced central cone-mediated results in fundus-controlled perimetry in young preterm-born children with MDA. The functional deficits are measurable in premature children with and without ROP when MDA is present. This would indicate that prematurity itself is the main risk factor for MDA and resulting functional deficits.

### Acknowledgments

Supported by a grant from the German Research Council (DFG Lo457/10-1) and in part by a grant from the Else Kröner-Fresenius Stiftung (Project 2015\_A131).

Disclosure: **W. Bowl**, None; **S. Raoof**, None; **B. Lorenz**, None; **K. Holve**, None; **S. Schweinfurth**, None; **K. Stieger**, None; **M. Andrassi-Darida**, None

### References

- Åkerblom H, Andreasson S, Larsson E, Holmström G. Photoreceptor function in school-aged children is affected by preterm birth. *Trans Vis Sci Tech.* 2014;3(6):7.
- Hendrickson A, Drucker D. The development of parafoveal and mid-peripheral human retina. *Behav Brain Res.* 1992;49: 21–31.
- Provis JM, van Driel D, Billson FA, et al. Development of the human retina: patterns of cell distribution and redistribution in the ganglion cell layer. *J Comp Neurol.* 1985; 22:233:429–451.
- Vajzovic L, Hendrickson AE, O'Connell RV, et al. Maturation of the human fovea: correlation of spectral-domain optical coherence tomography findings with histology. *Am J Ophthalmol.* 2012;154:779–789.
- Zhou X, Huang X, Chen H, et al. Comparison of electroretinogram between healthy preterm and term infants. *Doc Ophthalmol.* 2010;121:205–213.
- Hansen RM, Fulton AB. Development of the cone ERG in infants. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2005;46:3458–3462.
- Birch DG, Anderson JL. Standardized full-field electroretinography: normal values and their variation with age. *Arch Ophthalmol.* 1992;110:1571–1576.
- Berezovsky A, Moraes NS, Nusinowitz S, et al. Standard full-field electroretinography in healthy preterm infants. *Doc Ophthalmol.* 2003;107:243–249.
- Hamilton R, Bradnam MS, Dudgeon J, et al. Maturation of rod function in preterm infants with and without retinopathy of prematurity. *J Pediatr.* 2008;153:605–611.
- Åkerblom H, Andreasson S, Holmström G. Macular function in preterm children at school age. *Doc Ophthalmol.* 2016;133: 151–157.
- Harris ME, Moskowitz A, Fulton AB, Hansen RM. Long-term effects of retinopathy of prematurity (ROP) on rod and rod-driven function. *Doc Ophthalmol.* 2011;122:19–27.
- Bowl W, Stieger K, Bokun M, et al. 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:OCT235–OCT241.
- Fieß A, Janz J, Schuster AK, et al. Macular morphology in former preterm and full-term infants aged 4 to 10 years. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2017;255:1433–1442.



14. Park KA, Oh SY. Analysis of spectral-domain optical coherence tomography in preterm children: retinal layer thickness and choroidal thickness profiles. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2012; 53:7201-7207.
15. Ecsedy M, Szamosi A, Karkó C, et al. A comparison of macular structure imaged by optical coherence tomography in preterm and full-term children. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2007;48:5207-5211.
16. Fulton AB, Hansen RM, Moskowitz A, Barnaby AM. Multifocal ERG in subjects with a history of retinopathy of prematurity. *Doc Ophthalmol.* 2005;111:7-13.
17. Fulton AB, Hansen RM, Moskowitz A. The cone electroretinogram in retinopathy of prematurity. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2008;49:814-819.
18. Michalczyk M, Urban B, Chrzanowska-Grenda B, Ozieblo-Kupczyk M, Bakunowicz-Lazarczyk A, Kretowska M. The assessment of multifocal ERG responses in school-age children with history of prematurity. *Doc Ophthalmol.* 2016;132:47-55.
19. Bowl W, Schweinfurth S, Holve K, Stieger K, Lorenz B, 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 [in German]. *Klin Monbl Augenbeilkd.* 2017;234:1235-1242.
20. Rohrschneider K, Bültmann S, Springer C. Use of fundus perimetry (microperimetry) to quantify macular sensitivity. *Prog Retin Eye Res.* 2008;27:536-548.
21. Lorenz B, Spasovska K, Elflein H, et al. 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;247:1251-1262.
22. Ehnes A, Wenner Y, Friedburg C, et al. Optical coherence tomography (OCT) device intraretinal layer segmentation. *Trans Vis Sci Tech.* 2014;3(1):1.
23. Park JC, Moura AL, Raza AS, Rhee DW, Kardon RH, Hood DC. Toward a clinical protocol for assessing rod, cone, and melanopsin contributions to the human pupil response. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2011;52:6624-6635.
24. Kardon R, Anderson SC, Damarjian TG, Grace EM, Stone E, Kawasaki A. Chromatic pupillometry in patients with retinitis pigmentosa. *Ophthalmology.* 2011;118:376-381.
25. Kawasaki A, Munier FL, Léon L, Kardon RH. Pupillometric quantification of residual rod and cone activity in Leber congenital amaurosis. *Arch Ophthalmol.* 2012;130:798-800.
26. Lisowska J, Lisowski L, Kelbsch C, et al.; RD-CURE Consortium. Development of a chromatic pupillography protocol for the first gene therapy trial in patients with CNGA3-linked achromatopsia. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2017;58:1274-1282.
27. Bowl W, Stieger K, Lorenz B. Fundus-controlled two-color dark adaptometry with the Microperimeter MP1. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2015;253:965-972.
28. Hammer DX, Iftimia NV, Ferguson RD, et al. Foveal fine structure in retinopathy of prematurity: an adaptive optics Fourier domain optical coherence tomography study. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2008;49:2061-2070.
29. Villegas VM, Capó H, Cavuoto K, McKeown CA, Berrocal AM. Foveal structure-function correlation in children with history of retinopathy of prematurity. *Am J Ophthalmol.* 2014;158:508-512.e2.
30. Dubis AM, Subramaniam CD, Godara P, Carroll J, Costakos DM. Subclinical macular findings in infants screened for retinopathy of prematurity with spectral-domain optical coherence tomography. *Ophthalmology.* 2013;120:1665-1671.
31. Altschwager P, Moskowitz A, Fulton AB, Hansen RM. Multifocal ERG responses in subjects with a history of preterm birth. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2017;58:2603-2608.
32. Hare WA, Ton H. Effects of APB, PDA, and TTX on ERG responses recorded using both multifocal and conventional methods in monkey: effects of APB, PDA, and TTX on monkey ERG responses. *Doc Ophthalmol.* 2002;105:189-222.
33. Hood DC, Frishman LJ, Saszik S, Viswanathan S. Retinal origins of the primate multifocal ERG: implications for the human response. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2002;43:1673-1685.
34. Dubis AM, Subramaniam CD, Godara P, Carroll J, Costakos DM. Subclinical macular findings in infants screened for retinopathy with spectral-domain optical coherence tomography. *Ophthalmology.* 2013;120:1665-1671.
35. Vinekar A, Avadhani K, Sivakumar M, et al. Understanding clinically undetected macular changes in early retinopathy of prematurity on spectral domain optical coherence tomography. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2011;52:5183-5188.
36. Thompson DA, Ali RR, Banin E, et al.; Monaciano Consortium. Advancing therapeutic strategies for inherited retinal degeneration: recommendations from the Monaciano Symposium. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2015;56:918-931.
37. Lorenz B, Strohmayer E, Zahn S, et al. Chromatic pupillometry dissects function of the three light sensitive retinal cell populations in RPE65 deficiency. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2012;53:5641-5652.
38. Lorenz B, Wegscheider E, Hamel C, Preising MN, Stieger K. Spatially resolved spectral sensitivities as a potential read-out parameter: clinical gene therapeutic trials. *Ophthalmic Res.* 2017;58:194-202.
39. Roman AJ, Cideciyan AV, Aleman TS, Jacobson SG. Full-field stimulus testing (FST) to quantify visual perception in severely blind candidates for treatment trials. *Physiol Meas.* 2007;28:N51-N56.
40. Jacobson SG, Cideciyan AV, Ratnakaram R, et al. Gene therapy for leber congenital amaurosis caused by RPE65 mutations: safety and efficacy in 15 children and adults followed up to 3 years. *Arch Ophthalmol.* 2012;130:9-24.

# OCT Angiography in Young Children with a History of Retinopathy of Prematurity

Wadim Bowl, MD, Marianne Bowl, MD, Silke Schweinfurth, Kerstin Holve, Robert Knobloch, MS, Knut Stieger, DVM, PhD, Monika Andrassi-Darida, MD, Birgit Lorenz, MD, PhD

**Purpose:** To describe the size and appearance of the foveal avascular zone (FAZ) in the superficial and deep plexus in young children with treated or spontaneously regressed retinopathy of prematurity (ROP), in comparison with age-matched controls and young adults, as seen with OCT angiography (OCTA), and to compare these parameters with foveal classic OCT images and visual function.

**Design:** Prospective, cross-sectional study.

**Participants:** Twenty-five children with treated or spontaneously regressed ROP (mean  $5.0 \pm 0.8$  years) compared with 15 healthy term-born age-matched children and 20 healthy adults.

**Methods:** OCTA was performed using a DRI OCT Triton (Swept Source OCT, Topcon, Oakland, NJ). The best-quality images of 1 eye per patient were analyzed. Superficial FAZ and deep FAZ were analyzed separately. Single-scan OCTs were performed using a Spectralis SD-OCT (HRA+OCT, Heidelberg Engineering, Heidelberg, Germany). The foveal pit characteristics and the degree of macular developmental arrest (MDA), defined as the ratio of the outer nuclear layer + external limiting membrane (ONL+) and the inner retinal layers in the fovea (ONL+/IRL-ratio), were analyzed with a custom-made automated layer segmentation tool (DiOCTA, copyright by Justus-Liebig-University, Giessen, Germany). Visual acuity (VA) was tested with Early Treatment of Diabetic Retinopathy Study letter charts.

**Main Outcome Measures:** The ONL+/IRL-ratio, superficial FAZ area, deep FAZ area, foveal parameters, and VA.

**Results:** Foveal pit depth and area were significantly reduced in both treated and spontaneously regressed ROP, whereas the foveal diameter was comparable in all groups. OCTA showed a significantly narrowed superficial FAZ in eyes with treated and spontaneously regressed ROP. In contrast, the deep FAZ was of comparable size in all groups. A reduced superficial FAZ significantly correlated with reduced ONL+/IRL-ratio, and thus the degree of MDA. In treated and spontaneously regressed ROP, reduced superficial FAZ and MDA correlated significantly with diminished VA.

**Conclusions:** OCTA is feasible in young children with a history of ROP and without neurodevelopmental delay. It allows detecting a decreased superficial FAZ size noninvasively. A small superficial FAZ, reduced ONL+/IRL-ratio as a measure of MDA, and reduced VA are concurrent factors in preterm children who are otherwise neurologically normal. *Ophthalmology Retina* 2018;2:972-978 © 2018 by the American Academy of Ophthalmology

The adult human fovea is a specialized region of the central posterior pole of the human retina and confers higher visual acuity (VA) than do other areas of the retina. This effect is attributed to an optimal configuration of retinal components that minimize light scatter, in particular vertically arranged elongated cones separated from each other by the processes of the radial fibers of Müller cells.<sup>1,2</sup> Inner retinal layers are displaced eccentrically from the fovea, resulting in a characteristic morphologic pit, which is accompanied by the absence of blood vessels overlying the outer nuclear layer (ONL). This avascular region is known as the foveal avascular zone (FAZ). The human retina contains 2 plexus, the superficial plexus located within the retinal nerve fiber layer (RNFL) and the deep plexus localized within the inner plexiform layer (IPL). These plexus are connected via a set of transverse capillaries. At the fovea, both plexus are physiologically absent, thus forming the FAZ, with the

superficial plexal hiatus being approximately 600  $\mu\text{m}$  in diameter, whereas the deep plexal hiatus is approximately 900  $\mu\text{m}$  in diameter in healthy young individuals.<sup>3</sup>

The retina is one of the last tissues of the developing fetus to undergo vascularization, a process that begins at 14 to 16 weeks postconception.<sup>4-6</sup> While blood vessels proliferate across the retina, antiproliferative and anti-angiogenic factors expressed within the foveal region prevent the extension of capillaries into the incipient fovea, resulting in the FAZ.<sup>7,8</sup> The formation of the foveal pit involves centrifugal migration of inner retinal neurons away from the center and a centripetal migration of cone cell nuclei,<sup>9</sup> with the absence of foveal blood vessels as part of this development.<sup>10</sup> Data suggest that 24 to 27 weeks postconception is a critical period for the development of the fovea, including development of the perifoveal vascular plexus and formation of the foveal pit,<sup>6</sup> whereas



Table 1. Demographic and Clinical Description of Preterm-Born Children and Full-Term Born Controls

Group	Patients = Eyes [n]	Age (yrs); Mean $\pm$ SD	Gender (M/F)	Stage (1/2/3)	Zone (I/II/III)	Treatment (Laser/Anti-VEGF)	GA (wks); Mean $\pm$ SD	GW (g); Mean $\pm$ SD	BCVA (logMAR); Mean $\pm$ SD	SER (D); Mean $\pm$ SD
Treated ROP	10	5.0 $\pm$ 0.8	10/0	0/1/9	2/8/9	6/4	24.0 $\pm$ 1.3	668.5 $\pm$ 168.2	0.22 $\pm$ 0.11	0.4 $\pm$ 1.0
Spontaneously regressed ROP	15	4.9 $\pm$ 1.5	11/4	4/11/0	0/10/5	—	26.3 $\pm$ 2.0	790.5 $\pm$ 260.7	0.08 $\pm$ 0.14	1.1 $\pm$ 2.2
Term-born children	15	5.1 $\pm$ 1.4	6/9	—	—	—	—	3588 $\pm$ 684.2	-0.02 $\pm$ 0.04	1.3 $\pm$ 1.7
Adults	20	29.4 $\pm$ 10.7	6/14	—	—	—	—	—	-0.03 $\pm$ 0.04	-1.1 $\pm$ 1.3

Anti-VEGF = Anti-vascular endothelial growth factor therapy; BCVA = best-corrected visual acuity; D = diopter; GA = gestational age; GW = birth weight; logMAR = logarithm of the minimum angle of resolution; ROP = retinopathy of prematurity; SD = standard deviation; SER = spherical equivalent.

foveal cone packing proceeds throughout this critical period.<sup>11</sup> Any disturbance of the development during this critical period may affect VA.

Spectral-domain OCT (SD-OCT) studies in preterm children with or without a history of retinopathy of prematurity (ROP) described shallowed or absent foveal depressions and increased retinal thickness due to additional inner retinal layers overlying the ONL with a small or absent FAZ in a considerable number of former preterm subjects.<sup>12–17</sup> To describe this process, we suggested the term “macular developmental arrest” (MDA).<sup>17</sup> In the present study, we used the recently introduced OCT angiography (OCTA) to noninvasively assess FAZ architecture of the superficial and deep capillary plexus (superficial FAZ and deep FAZ). Furthermore, we investigated whether FAZ parameters correlate with other morphologic or functional foveal abnormalities in preterm children with a history of treated ROP or spontaneously regressed ROP. The data were compared with data from healthy age-matched term-born children and healthy adults.

## Methods

### Participants

This was an observational, prospective study. Research followed the tenets of the Declaration of Helsinki. Ethical approval was obtained from the local institutional ethics committee (Az 150/1). The study comprised 10 young children with treated ROP (6 with laser; 4 treated with intravitreal bevacizumab, 0.312 mg in 0.025 ml), 15 children with spontaneously regressed ROP, 15 healthy term-born age-matched children, and 20 term-born healthy adults. None of the healthy subjects reported a history of ocular or systemic disease, and results of a comprehensive eye examination were normal in all. The table-mounted OCTA technique requires a certain degree of collaboration from all children participating in the study. Therefore, only premature children without neurologic or mental/psychologic deficits or impairments, tested on a regular basis in pediatric screenings, were chosen to participate in the study. Demographics, gestational age at birth, birth weight, and ROP-related parameters are displayed in Table 1. Best-corrected VA was assessed using Early Treatment of Diabetic Retinopathy Study letter charts. Experienced orthoptists assessed VA in our clinic.

In all children, only best-quality OCTA images of 1 eye were used for analysis. In healthy adults and in children with equal-quality images in both eyes, the analyzed eye was randomly selected.

### Foveal Pit Metrics

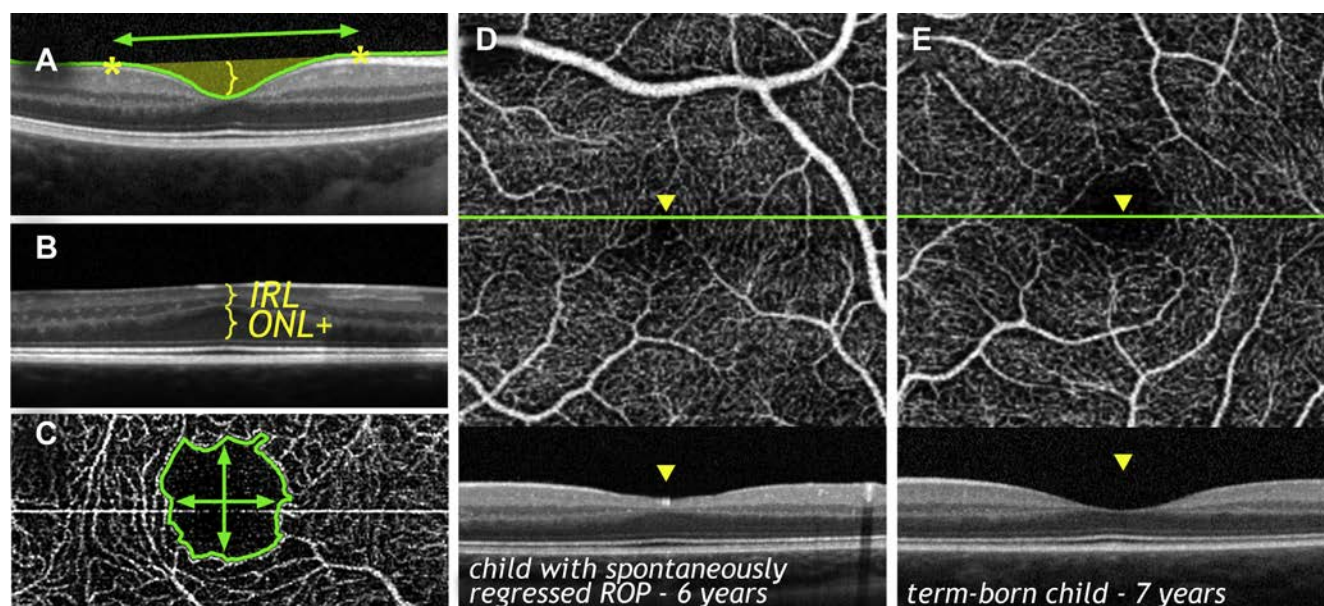
The Spectralis SD-OCT (HRA+OCT, Heidelberg Engineering, Heidelberg, Germany) was used to obtain all standard scans. Spectralis uses an 870-nm wavelength imaging laser to obtain 40 kHz A-Scans and 1.536 A-Scans per B-Scan. The B-Scan was averaged at least 80 times to obtain high-quality single scans. The central SD-OCT single-line scan was used to determine the foveal metrics presented in Figure 1A. Layer segmentation was performed using the custom-developed segmentation tool DiOCTA (copyright by Justus-Liebig-University, Giessen, Germany)<sup>18</sup> and exported into a customized MatLab (MathWorks, Natick, MA) program. The highest peaks at the nasal and temporal aspects of the fovea were determined in an automated fashion. Foveal diameter was defined as the rim-to-rim distance in micrometers (shortest linear distance between the highest temporal and nasal peaks). The depth of the foveal pit (foveal depression) was defined as the difference in micrometers between the rim-to-rim vector and the lowest foveal pit position in micrometers. The foveal depression surface area (area under the curve) was calculated as the area within foveal circumferential margins and the foveal surface curve in square millimeters, defined by the surface of the nerve fiber layer (NFL).

### ONL+/IRL-Ratio

The thicknesses of 6 retinal layers were quantified automatically from SD-OCT images in the central single scan. Measured were RNFL, ganglion cell layer plus inner plexiform layer (GCL+IPL), inner nuclear layer plus outer plexiform layer (INL+OPL), outer nuclear layer plus external limiting membrane (ONL+ELM, in short ONL+), inner segment plus inner ellipsoid segment of the photoreceptor layer plus outer segment of the photoreceptor layer (ellipsoid + OS), and retinal pigment epithelium (RPE). The ratio of ONL+ to the sum of the inner retinal layers (NFL+GCL+IPL+INL+OPL = IRL) at the foveal center was calculated as described in our recent publication (Fig 1B).<sup>17</sup> Central foveal thickness was defined at the central OCT A-Scan as the thickness of the entire retina from the inner aspect of the internal limiting membrane to the inner aspect of the RPE.

### FAZ Measurement

The DRI OCT Triton (Swept Source OCT = SS-OCTA, Topcon, Oakland, NJ) was used for OCTA image acquisition. The Triton uses a 1.050-nm wavelength laser beam with 100 kHz A-Scans. A 6.0  $\times$  6.0-mm angiography scan was centered on the fovea. Both the superficial and deep vasculature network were imaged simultaneously. The superficial vasculature network was assumed to be between the layer boundaries of the internal limiting membrane (+2.6  $\mu$ m) and IPL (+15.6  $\mu$ m), and the deep vasculature network between the layer boundary of IPL (+15.6  $\mu$ m) and a parallel layer in a distance of 70.2  $\mu$ m toward the RPE. All angiography images



**Figure 1.** A, Example of the measurement of foveal metrics (diameter and foveal depth). B, The position of the outer nuclear layer + external limiting membrane (ONL+) and the sum of the inner retinal layers (IRL) (Spectralis SD-OCT (HRA+OCT, Heidelberg Engineering, Heidelberg, Germany)). C, An example of the measurement of the superficial foveal avascular zone (FAZ). Comparison of the superficial FAZ in a preterm-born child with spontaneously regressed retinopathy of prematurity (ROP) (D) and an age-matched term-born healthy child (E). The OCT angiography (OCTA) images are superimposed with an OCT single scan to ensure perfect foveal centering (marked with arrowheads) (DRI OCT Triton [Swept Source OCT, Topcon, Oakland, NJ]).

had a resolution of  $320 \times 320$  pixels. All settings were predefined by the manufacturer.

The size of the superficial FAZ was assessed for all images by 2 experienced observers (observer 1: MB; observer 2: WB). Averaged data of both observers were used for FAZ evaluation. All images were corrected manually for motion and eye movement artifacts. The difference between the 2 observers was on average 3.77%. The superficial FAZ area was measured with the 3-dimensional technical and imaging tool embedded in Photoshop CS6 Extended (Adobe Systems Inc., San Jose, CA). Examples of the superficial FAZ are shown in Figure 1A and B. An example of a manually selected superficial FAZ boundary is shown in Figure 1C. Area, perimeter, maximal height, width, and circularity of the delineated FAZs were evaluated. All angiography images were superimposed on the associated SD-OCT scans crossing the macula to ensure perfect alignment of the fovea to a specific vascular lacuna (noted in Fig 1D and E).

The deep FAZ was measured by combining the superimposed images of the superficial FAZ and the deep FAZ. Then the superficial FAZ signal was subtracted (Fig 2), thus eliminating vasculature shadow effects on the deep plexus image (Fig 2C).

## Statistical Analysis

Statistical analysis was conducted with commercial software (Sigma Plot 12.0; Systat Software GmbH, Erkrath, Germany) and MS Excel 2013 (Microsoft, Redmond, WA). Normal distribution was tested with the Shapiro–Wilk normality test. A Kruskal–Wallis 1-way analysis of variance on ranks was applied to test for significant differences among the different premature groups and term-born to test for statistical differences between the groups. A Dunn’s method was used as a post hoc test for pairwise comparison. Density-based clustering (DBSCAN) was performed to reveal the significance among appearance of foveal morphology, FAZ, and different VA

results. Silhouette coefficient analysis was used for internal evaluation of clustering results.

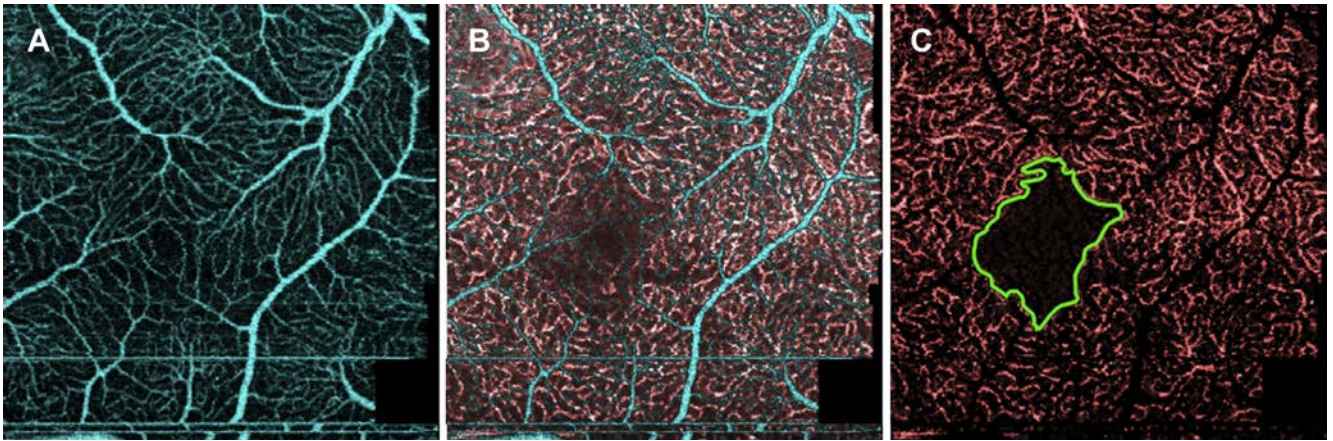
## Results

All analyses were performed in all groups, that is, treated, spontaneously regressed ROP, age-matched term-born children, and healthy term-born adults (Table 1). The analysis included 25 eyes from 25 children with a history of ROP. Six patients had received laser treatment, and 4 patients had received intravitreal bevacizumab monotherapy (0.312 mg/0.025 ml). The findings were compared with 15 eyes from healthy term-born children and 20 eyes from healthy adults. The demographic features are listed in Table 1. There was no statistically significant age difference among treated ROP, spontaneously regressed ROP, and age-matched healthy children ( $P = 0.612$ ). All treated preterm-born children were boys, as by chance only their parents had accepted to participate in the study.

The measured FAZ parameters are listed in Table 2. In all eyes, we identified a measurable superficial FAZ. The shape of the superficial FAZ was irregular in all eyes, with an interindividual variance of the perimeter. In preterm-born children, the superficial FAZ had the shape of a slightly vertically elongated ellipse, whereas the superficial FAZ in both term-born children and adults was close to a circle. The FAZ area in the superficial plexus was significantly smaller in the treated ROP group ( $P < 0.001$ ) and the spontaneously regressed ROP group ( $P < 0.001$ ) compared with healthy term-born children and adults. There was no statistically significant difference between term-born healthy children and healthy adults ( $P = 0.212$ ). The deep FAZ was larger than the superficial FAZ in all groups but showed no significant difference among groups ( $P = 0.273$ ).

Spectral-domain OCT showed a shallowed foveal pit coupled with significantly lowered foveal depression ( $P < 0.001$ ) and





**Figure 2.** OCTA of the superficial (A) and deep (B) foveal vasculature of a preterm-born child at age 5 years (OCTA device DRI OCT Triton, Swept Source OCT, Topcon). C, The superimposed and subtracted analysis used to visualize the deep vasculature network, with the outlined perimeter of the deep avascular zone. The vessels of the superficial and deep vasculature were colored to simplify understanding of the subtraction procedure.

foveal depression area ( $P < 0.001$ ) in 10 of 10 eyes with treated ROP and in 9 of 15 eyes with spontaneously regressed ROP. Six of 15 eyes with spontaneously regressed ROP showed a normal foveal configuration. The foveal diameter was statistically stable, with interindividual differences and a trend toward smaller diameters in the ROP groups ( $P = 0.104$ ). Spectral-domain OCT layer segmentation and ONL+/IRL-ratio calculation showed a reduced ONL+/IRL-ratio in all patients with a significantly lower

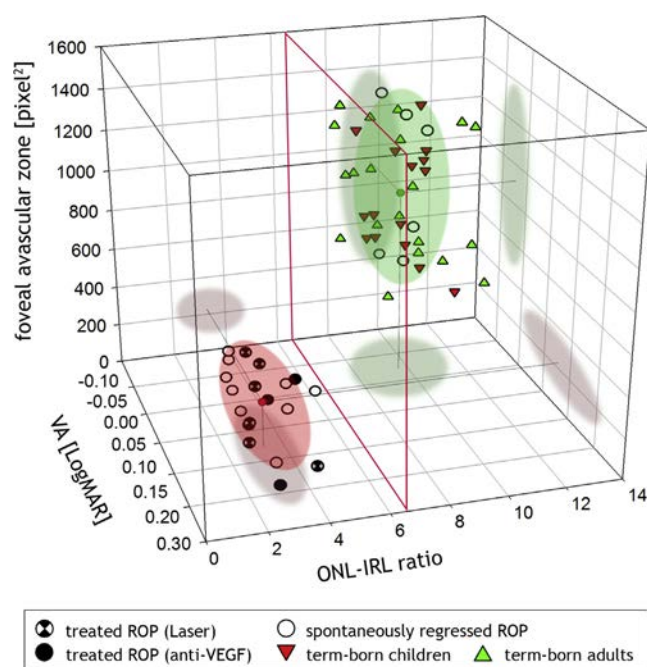
foveal depression ( $P < 0.001$ ). Mean retinal thicknesses were significantly greater in the treated ROP ( $P < 0.001$ ) and spontaneously regressed ROP ( $P < 0.001$ ) groups. Accordingly, mean NFL (treated ROP  $P < 0.001$ ; spontaneously regressed ROP  $P < 0.001$ ), GCL+IPL (treated ROP  $P < 0.001$ ; spontaneously regressed ROP  $P = 0.0012$ ) and ONL+ (treated ROP  $P < 0.001$ ; spontaneously regressed ROP  $P = 0.001$ ) thicknesses were significantly thicker in both ROP groups compared with term-born

**Table 2.** Central OCT Layer Thickness Analysis, Foveal Avascular Zone (Superficial and Deep Plexus), and Foveal Metrics in Preterm-Born Children and Full-Term Controls

Parameter	Treated ROP	Spontaneously Regressed ROP	Term-Born Children	Adults
Central OCT Layer Analysis	n = 10	n = 15	n = 15	n = 20
Whole retina [ $\mu\text{m}$ ]	292.2 $\pm$ 48.7	244.5 $\pm$ 32.2	207.2 $\pm$ 9.7	212.8 $\pm$ 10.9
NFL [ $\mu\text{m}$ ]	9.6 $\pm$ 1.1	9.3 $\pm$ 1.6	2.3 $\pm$ 1.3	6.1 $\pm$ 3.9
GCL+IPL [ $\mu\text{m}$ ]	20.0 $\pm$ 7.7	16.7 $\pm$ 7.8	5.9 $\pm$ 2.7	4.1 $\pm$ 3.2
INL+OPL [ $\mu\text{m}$ ]	16.1 $\pm$ 9.7	13.1 $\pm$ 10.3	4.6 $\pm$ 2.9	7.0 $\pm$ 3.9
ONL+ELM [ $\mu\text{m}$ ]	161.0 $\pm$ 23.8	137.7 $\pm$ 19.2	112.8 $\pm$ 4.7	124.9 $\pm$ 9.8
Ellipsoid+OS [ $\mu\text{m}$ ]	38.5 $\pm$ 1.9	39.4 $\pm$ 3.9	38.9 $\pm$ 3.2	38.3 $\pm$ 5.5
RPE [ $\mu\text{m}$ ]	36.8 $\pm$ 2.6	35.5 $\pm$ 2.7	35.8 $\pm$ 2.3	33.9 $\pm$ 6.9
ONL+/IRL-ratio	<b>3.2<math>\pm</math>0.7</b>	<b>5.7<math>\pm</math>3.0</b>	<b>9.6<math>\pm</math>1.1</b>	<b>9.8<math>\pm</math>1.4</b>
OCTA FAZ superficial layer				
Area [ $\text{pixel}^2$ ]	<b>247.0<math>\pm</math>106.6</b>	<b>548.8<math>\pm</math>504.9</b>	<b>900.4<math>\pm</math>286.9</b>	<b>894.4<math>\pm</math>282.9</b>
Perimeter [pixel]	83.9 $\pm$ 26.6	100.5 $\pm$ 37.7	107.1 $\pm$ 26.9	131.4 $\pm$ 22.9
Circularity	0.5 $\pm$ 0.11	0.55 $\pm$ 0.14	0.74 $\pm$ 0.07	0.65 $\pm$ 0.12
Height [pixel]	21.9 $\pm$ 6.6	27.5 $\pm$ 11.6	36.1 $\pm$ 7.1	36.5 $\pm$ 7.3
Width [pixel]	19.7 $\pm$ 9.5	26.2 $\pm$ 10.0	37.2 $\pm$ 6.6	36.2 $\pm$ 6.7
OCTA FAZ deep layer				
Area [ $\text{pixel}^2$ ]	1792 $\pm$ 277	1698 $\pm$ 386	1803 $\pm$ 334	1811 $\pm$ 488
Perimeter [pixel]	193 $\pm$ 23	187 $\pm$ 17	201 $\pm$ 38	197 $\pm$ 33
Circularity	0.5 $\pm$ 0.1	0.6 $\pm$ 0.1	0.6 $\pm$ 0.1	0.6 $\pm$ 0.1
Height [pixel]	48.9 $\pm$ 11.1	56.2 $\pm$ 20.8	56.3 $\pm$ 12.3	51.4 $\pm$ 9.9
Width [pixel]	54.6 $\pm$ 10.2	58.2 $\pm$ 19.4	57.6 $\pm$ 8.2	53.6 $\pm$ 9.6
Foveal morphology				
Depression height [ $\mu\text{m}$ ]	41.2 $\pm$ 21.7	92.1 $\pm$ 26.8	131.7 $\pm$ 17.1	121.0 $\pm$ 17.5
Depression area [ $\text{mm}^2$ ]	0.037 $\pm$ 0.016	0.094 $\pm$ 0.037	0.145 $\pm$ 0.011	0.124 $\pm$ 0.030
Diameter [ $\mu\text{m}$ ]	2248 $\pm$ 313	2331 $\pm$ 340	2701 $\pm$ 234	2534 $\pm$ 256

Mean values in bold (ONL+/IRL ratio and FAZ area) are the most significant morphological parameters that define the clusters in [Figure 3](#).

ELM = external limiting membrane; FAZ = foveal avascular zone; GCL = ganglion cell layer; INL = inner nuclear layer; IPL = inner plexiform layer; IRL = inner retinal layers; NFL = nerve fiber layer; OCTA = OCT angiography; ONL = outer nuclear layer; OPL = outer plexiform layer; OS = outer segments; ROP = retinopathy of prematurity; RPE = retinal pigment epithelium.



**Figure 3.** Three-dimensional graph shows the interdependent parameters ONL + (ONL+ELM) to IRL (sum of NFL + GCL + IPL + INL + OPL) ratio (ONL+/IRL-ratio), visual acuity (VA), and superficial foveal avascular zone (FAZ) in 60 eyes from 60 subjects (10 eyes with treated ROP, 15 eyes with spontaneously regressed retinopathy of prematurity (ROP), 15 eyes of term-born children, and 20 eyes of healthy adults). By using DBSCAN algorithm (red and green sphere) with centroids (marked with X-Y-Z drop lines), 2 clusters result. The 2 clusters depict the 2 separate groups of subjects with (red sphere;  $n = 19$  eyes) or without (green sphere;  $n = 41$  eyes) macular developmental arrest (MDA).

healthy children and healthy adults. Significant differences were found in the GCL+IPL ( $P = 0.017$ ) and ONL+ ( $P = 0.021$ ) between the treated and spontaneously regressed ROP groups. No significant differences were found in the NFL ( $P = 0.0766$ ) and INL+OPL ( $P = 0.483$ ) between the treated ROP and spontaneously regressed ROP groups. No statistical significance was found in the ellipsoid + OS and RPE layers in any group (analysis of variance  $P = 0.881$  and  $P = 0.778$ ).

Visual acuity was significantly reduced in both treated ( $P < 0.001$ ) and spontaneously regressed ROP ( $P = 0.011$ ) groups compared with term-born healthy children. In all eyes with lowered superficial FAZ (10 treated ROP and 9 spontaneously regressed ROP), VA was significantly lower in comparison with all eyes with superficial FAZ areas within normal limits ( $P < 0.001$ ; 6 spontaneously regressed ROP and 15 term-born healthy children). Because differences in foveal morphology and the ONL+/IRL-ratio were concordant with reduced superficial FAZ area and VA, a 3-dimensional representation was chosen to describe this complex relationship (Fig 3). The cluster analysis (DBSCAN-algorithm) revealed 2 clusters. Cluster 1 (red sphere) contains all children with a reduced ONL+/IRL-ratio, reduced VA, and a small superficial FAZ area. Cluster 2 (green sphere) includes all children with a normal ONL+/IRL-ratio, normal VA, and a normal superficial FAZ area. Cluster 1 comprises only children with treated or spontaneously regressed ROP, and cluster 2 comprises all healthy controls and 6 eyes from the spontaneously regressed ROP group. Within the latter group, all eyes had normal foveal morphology. The centroid of cluster 1 (red sphere) is  $X = 3.31$  (ONL+/IRL-ratio),  $Y = 0.16$  (VA in logarithm of the minimum

angle of resolution),  $Z = 228.9$  (superficial FAZ area in  $\text{pixel}^2$ ), and that of cluster 2 (green sphere) is  $X = 9.64$  (ONL+/IRL-ratio),  $Y = -0.03$  (VA in logarithm of the minimum angle of resolution),  $Z = 924.3$  (superficial FAZ area in  $\text{pixel}^2$ ). The average silhouette coefficient in cluster 1 is 0.81, and 0.76 in cluster 2. The silhouette coefficient value varies between  $-1$  and  $1$ , where  $1$  corresponds to the highest clustering goodness, indicating a well-matched status to its group and a poorly matched status to the alternate group.

## Discussion

In the present study, using SD-OCT and SS-OCTA, we found that in preterm-born children, a history of treated or spontaneously regressed ROP was associated with a shallow foveal pit and persistent inner retinal layers (IRLs). These findings correlated significantly with reduced central visual function. We and others have previously reported a higher incidence of foveal abnormalities seen with SD-OCT in infants and children with a history of ROP.<sup>14,17,19–21</sup> The severity of ROP may play only a tangential role in the persistence of IRL at the fovea in preterm-born children, because comparable observations were made in preterm-born children without documented ROP.<sup>17</sup> In line with this, affected children in the present study did not show any significant differences in their morphologic or functional results when subdivided into groups according to ROP stage or therapy.

The reduced FAZ seems to involve both the superficial and the deep vascular network when looking at the original OCTA images from the 2 layers. Falavarjani et al<sup>22</sup> and Dolz-Marco et al<sup>23</sup> described this phenomenon as a fusion of both the superficial and deep capillary plexus in the foveal center. In the current study, we showed that vascular shadow artifacts confound the original deep FAZ image from the instrument. By using a specialized image-analysis technique of noise reduction and vascular-shadow subtraction, we could assess the actual borders of the deep FAZ. We found that the deep vascular network maintains its physiologic borders even when the superficial FAZ is smaller, thus not differing significantly between preterm- and term-born groups. The central SD-OCT single scans support the findings that in preterm-born children with MDA, INL and IPL, where the deep FAZ is located, are enlarged to a smaller extent than the ganglion cell layer, where the superficial FAZ is located.

The single-layer analysis of SD-OCT scans confirms an increased central foveal thickness in preterm- versus term-born children, documented by several groups including ours.<sup>14,17,24</sup> We previously reported thicker central GCL+ and ONL+ layers in preterm children and confirmed that other retinal layers were not significantly different.<sup>6,14,17,24</sup> Although a shallow foveal pit alone did not uniformly impede VA,<sup>17,25</sup> a significantly reduced VA and central light increment sensitivity (LIS), measured with fundus-controlled perimetry, were linked to a change in the ONL+ to the inner retinal layer ratio.<sup>17</sup> Furthermore, parafoveal LIS was unchanged in these children, indicating that dysfunction was limited to the area of the central foveal depression. This correlation among foveal pit morphology, VA, and LIS was especially apparent in preterm born children with



greater central thickness and independent of a history of acute ROP.<sup>17</sup> In our previous publication, we suggested MDA to describe the underlying pathophysiology resulting in a shallower foveal pit, significantly increased GCL+ and INL+ thickness, and simultaneous relative reduction of ONL+ thickness.<sup>17</sup> In the present study, the degree of MDA correlated significantly with a smaller superficial FAZ and reduced VA.

Correlations between the FAZ dimensions and the foveal pit morphology, such as foveal pit depth, width, and volume, have been reported.<sup>26,27</sup> Our term-born group and our control group of healthy adults had comparable macular dimensions as well as our cohort of preterm-born children. This is in accordance with Yanni et al,<sup>6</sup> but in contrast to Hammer et al.<sup>14</sup> However, the foveal pit depth differed in premature-born compared with term-born participants, because the external borders of the fovea had relatively constant dimensions. In all cases, we could identify a superficial FAZ, although sometimes small. This is in contrast to one report in which the superficial FAZ was absent in children with treated or regressed ROP,<sup>22</sup> but in line with the report by Yanni et al,<sup>6</sup> who also demonstrated a smaller superficial FAZ in premature-born children with a gestational age of  $\leq 27$  weeks.

Histologic and OCT studies on the formation of the FAZ describe divergent observations of normal perinatal development. Henkind et al<sup>28</sup> reported that the foveal center was fully vascularized in fetal life in kittens and rhesus monkey, and subsequent vascular remodeling resulted in the formation of the FAZ. In contrast, Engerman<sup>29</sup> found that in the rhesus monkey the macular capillaries arrested before reaching the foveal center. In humans, SD-OCT examination of premature-born children showed that the thickness and number of inner retinal layers at the foveal center, where the superficial and deep plexus are located, decreased in the postnatal period.<sup>30–32</sup> The foveal development after birth includes simultaneous centrifugal displacement of the inner retinal layers and centripetal concentration of the outer retinal layers.<sup>33</sup> An alternative explanation is that higher levels of vascular endothelial growth factor in preterm eyes may promote abnormal vascularization of the foveal center.<sup>32</sup> Unfortunately, the coincidence of inner retinal and vascular abnormalities in the fovea of preterm children found in the present study does not allow distinction between these 2 models. Because of the timing of these events, it would seem more likely that the size of the FAZ modifies foveal pit development.<sup>6–8,33,34</sup> On the basis of the findings of the current study, the critical structure underlying the abnormal morphology of the fovea seen in these patients is the abnormal small superficial FAZ. Because of the limited number of eyes investigated, confirmation of the results in larger cohorts of preterm-born children is warranted.

## Conclusions

Our study describes the superficial and deep FAZ in combination with morphologic alterations of the inner retinal layers and VA. Furthermore, we demonstrate how

the fast Swept-Source OCTA technique can be used in very young children. We showed that in preterm born children who are otherwise neurologically normal, a small superficial avascular zone, reduced ONL+/IRL-ratio, and reduced VA are concurrent findings. Retinopathy of prematurity itself seems to play a minor role in the origin of MDA. Although our study population is limited in size, the findings may represent a first step in enabling more reliable predictions of later visual function by SD-OCT examinations in infants.

## Acknowledgments

The DRI OCT Triton device (Swept Source OCT, Topcon) was provided by the manufacturer for a trial period of 4 weeks to our institution. We thank Dr. N. Matthew Ellinwood, Ames, Iowa, for editing content.

## References

1. Yamada E. Some structural features of the fovea centralis in the human retina. *Arch Ophthalmol*. 1969;82:151–159.
2. Mintz-Hittner HA, Knight-Nanan DM, Satriano DR, Kretzer FL. A small foveal avascular zone may be an historic mark of prematurity. *Ophthalmology*. 1999;106:1409–1413.
3. Hussain N, Hussain A. Diametric measurement of foveal avascular zone in healthy young adults using optical coherence tomography angiography. *Int J Retina Vitreous*. 2016;12:27.
4. Hughes S, Yang H, Chan-Ling T. Vascularization of the human fetal retina: roles of vasculogenesis and angiogenesis. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2000;41:1217–1228.
5. Provis JM, Leech J, Diaz CM, et al. Development of the human retinal vasculature: cellular relations and VEGF expression. *Exp Eye Res*. 1997;65:555–568.
6. Yanni SE, Wang J, Chan M, et al. Foveal avascular zone and foveal pit formation after preterm birth. *Br J Ophthalmol*. 2012;96:961–966.
7. Gariano RF. Special features of human retinal angiogenesis. *Eye (Lond)*. 2010;24:401–407.
8. Kozulin P, Natoli R, O'Brien KM, et al. Differential expression of anti-angiogenic factors and guidance genes in the developing macula. *Mol Vis*. 2009;15:45–59.
9. Provis JM, Hendrickson AE. The foveal avascular region of developing human retina. *Arch Ophthalmol*. 2008;126:507–511.
10. Springer AD, Hendrickson AE. Development of the primate area of high acuity. 1. Use of finite element analysis models to identify mechanical variables affecting pit formation. *Vis Neurosci*. 2004;21:53–62.
11. Novotny HR, Alvis DL. A method of photographing fluorescence in circulating blood in the human retina. *Circulation*. 1961;24:82–86.
12. Lago Ad, Matieli L, Gomes M, et al. Stratus optical coherence tomography findings in patients with retinopathy of prematurity. *Arq Bras Oftalmol*. 2007;70:19–21.
13. Ecsedy M, Szamosi A, Karkó C, et al. A comparison of macular structure imaged by optical coherence tomography in preterm and full-term children. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2007;48:5207–5211.
14. Hammer DX, Iftimia NV, Ferguson RD, et al. Foveal fine structure in retinopathy of prematurity: an adaptive optics Fourier domain optical coherence tomography study. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2008;49:2061–2070.
15. Maldonado RS, O'Connell RV, Sarin N, et al. Dynamics of human foveal development after premature birth. *Ophthalmology*. 2011;118:2315–2325.

16. Wang J, Spencer R, Leffler JN, Birch EE. Critical period for foveal fine structure in children with regressed retinopathy of prematurity. *Retina*. 2012;32:330–339.
17. Bowl W, Stieger K, Bokun M, et al. 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:OCT235–241.
18. Ehnes A, Wenner Y, Friedburg C, et al. Optical coherence tomography (OCT) device independent intraretinal layer segmentation. *Transl Vis Sci Technol*. 2014;3:1. eCollection 2014.
19. Wu WC, Lin RI, Shih CP, et al. Visual acuity, optical components, and macular abnormalities in patients with a history of retinopathy of prematurity. *Ophthalmology*. 2012;119:1907–1916.
20. Villegas VM, Capó H, Cavuoto K, et al. Foveal structure-function correlation in children with history of retinopathy of prematurity. *Am J Ophthalmol*. 2014;158:508–512.
21. Dubis AM, Subramaniam CD, Godara P, et al. Subclinical macular findings in infants screened for retinopathy of prematurity with spectral-domain optical coherence tomography. *Ophthalmology*. 2013;120:1665–1671.
22. Falavarjani KG, Iafe NA, Velez FG, et al. Optical coherence tomography angiography of the fovea in children born preterm. *Retina*. 2017;37:2289–2294.
23. Dolz-Marco R, Phasukkijwatana N, Sarraf D, Freund KB. Optical coherence tomography angiography in fovea plana. *Ophthalmic Surg Lasers Imaging Retina*. 2016;47:670–673.
24. Akerblom H, Larsson E, Eriksson U, Holmström G. Central macular thickness is correlated with gestational age at birth in prematurely born children. *Br J Ophthalmol*. 2011;95:799–803.
25. Marmor MF, Choi SS, Zawadzki RJ, Werner JS. Visual insignificance of the foveal pit: reassessment of foveal hypoplasia as fovea plana. *Arch Ophthalmol*. 2008;126:907–913.
26. Chui TY, Zhong Z, Song H, Burns SA. Foveal avascular zone and its relationship to foveal pit shape. *Optom Vis Sci*. 2012;89:602–610.
27. Dubis AM, Hansen BR, Cooper RF, et al. Relationship between the foveal avascular zone and foveal pit morphology. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2012;53:1628–1636.
28. Henkind P, Bellhorn RW, Murphy ME, Roa N. Development of macular vessels in monkey and cat. *Br J Ophthalmol*. 1975;59:703–709.
29. Engerman RL. Development of the macular circulation. *Invest Ophthalmol*. 1976;15:835–840.
30. Vajzovic L, Hendrickson AE, O’Connell RV, et al. Maturation of the human fovea: correlation of spectral-domain optical coherence tomography findings with histology. *Am J Ophthalmol*. 2012;154:779–789.
31. Lee H, Purohit R, Patel A, et al. In vivo foveal development using optical coherence tomography. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2015;56:4537–4545.
32. Hartnett ME. Pathophysiology and mechanisms of severe retinopathy of prematurity. *Ophthalmology*. 2015;122:200–210.
33. Hendrickson AE, Yuodelis C. The morphological development of the human fovea. *Ophthalmology*. 1984;91:603–612.
34. Provis JM. Development of the primate retinal vasculature. *Prog Retin Eye Res*. 2001;20:799–821.

## Footnotes and Financial Disclosures

Originally received: October 25, 2017.

Final revision: February 7, 2018.

Accepted: February 12, 2018.

Available online: July 20, 2018. Manuscript no. ORET\_2017\_451.

Department of Ophthalmology, Justus-Liebig-University, Giessen, Germany.

Financial Disclosure(s):

The author(s) have no proprietary or commercial interest in any materials discussed in this article.

**HUMAN SUBJECTS:** Human subjects were included in this study. Study protocol was approved by the local institutional ethics committee. Informed consent was obtained from all human subjects and guardians, as applicable. All research adhered to the tenets of the Declaration of Helsinki.

No animal subjects were used in this study.

Author Contributions:

Research design: Bowl, Lorenz

Data acquisition and/or research execution: Bowl, Bowl, Schweinfurth, Holve, Knobloch, Andrassi-Darida

Data analysis and/or interpretation: Bowl, Bowl, Schweinfurth, Holve, Knobloch, Stieger, Andrassi-Darida, Lorenz

Obtained funding: N/A

Manuscript preparation: Bowl, Stieger, Lorenz

Abbreviations and Acronyms:

**ELM** = external limiting membrane; **FAZ** = foveal avascular zone; **IPL** = inner plexiform layer; **LIS** = light increment sensitivity; **MDA** = macular developmental arrest; **NFL** = nerve fiber layer; **OCTA** = OCT angiography; **ONL** = outer nuclear layer; **RNFL** = retinal nerve fiber layer; **ROP** = retinopathy of prematurity; **SD-OCT** = spectral-domain OCT; **VA** = visual acuity.

Correspondence:

Birgit Lorenz, MD, PhD, Friedrichstrasse 18, 35392 Giessen, Germany.  
E-mail: birgit.lorenz@augen.med.uni-giessen.de.

# Choroidal Thickness with Swept-Source Optical Coherence Tomography versus Foveal Morphology in Young Children with a History of Prematurity

Wadim Bowl Marianne Bowl Silke Schweinfurth Kerstin Holve  
Monika Andrassi-Darida Knut Stieger Birgit Lorenz

Department of Ophthalmology, Justus-Liebig-University, Giessen, Germany

## Keywords

Choroidal thickness · Retinopathy of prematurity · Swept-source optical coherence tomography · Macular developmental arrest

## Abstract

**Aim:** Comparison of choroidal thickness (CT) and foveal morphology as seen with swept-source optical coherence tomography (SS-OCT) in children with a history of treated or spontaneously regressed retinopathy of prematurity (tROP or srROP) to assess the impact on best-corrected visual acuity (BCVA). **Methods:** CT was measured by SS-OCT (DRI-OCT Triton; Topcon, USA) single scans of a 6-mm diameter around the fovea in 17 children with tROP or srROP (4–7 years of age) and compared to 25 controls (age-matched children and adults). The disproportion of the outer nuclear layer and inner retinal layers at the fovea (i.e., the ONL+/IRL ratio) as a measure of macular developmental arrest (MDA) was manually analyzed. BCVA was tested with ETDRS letter charts and correlated with the morphology. **Results:** CT was significantly thinner in children with tROP and srROP compared to term-born healthy children (nKids) at all measurement marks

( $p < 0.001$ ), and mostly affected in the subfoveal area. tROP showed the lowest CT. CT allowed no direct conclusion about ONL+/IRL, but correlated positively with BCVA. **Conclusions:** Reduced CT in children with a history of ROP is linked to ROP severity. These findings overlap with the degree of MDA. CT appears to be involved in ROP, but MDA showed a higher impact on the BCVA of the examined cohort.

© 2018 S. Karger AG, Basel

## Introduction

Retinopathy of prematurity (ROP) is a proliferative disease characterized by the abnormal maturation of peripheral and central retinal vasculature. ROP arises out of the oxygen partial pressure to which preterm infants are exposed after birth compared with that in utero and also a general loss of maternally derived factors [1, 2]. Photoreceptor deficits seem to predominate in the central retina, although central retinal vessel discrepancies are relatively small compared with that observed in the periphery [3–6]. Shao et al. [3] stated that a possible explanation for

deficient photoreceptor integrity and retinal vascular deficits might lie in the choroidal vascular system, particularly as the choroid is the main supplier of oxygen and nutrients to the outer retina and the photoreceptor layer. Recent studies with rat models demonstrated a pronounced central choroidal involution, which could explain the associated outer retinal structural and functional deficits [3].

Several studies using enhanced-depth imaging spectral-domain optical coherence tomography (EDI SD-OCT) on human patients reported an inverse relationship between temporal choroidal thickness (CT) and the stage of ROP in preterm children [7–10]. Although SD-OCT is usual in the clinical assessment of chorioretinal disorders, analysis of the choroid may be affected by the limited depth of penetration (850 nm), even when applying the EDI method [11, 12]. Accurately visualizing the choroidoscleral interface in the whole spectrum of patients remains a challenge [13, 14]. The problem in the differentiation of the choroidoscleral interface in some eyes using SD-OCT is connected to inadequate penetration of tissue by the laser source [13, 14].

Recent technological advances in retinal imaging such as the development of swept-source (SS)-OCT at a 1,050-nm wavelength enable higher-density raster scan protocols, and deeper image penetration is contributing to better visualization of the choroidal detail [13, 14]. SS-OCT studies on CT revealed morphological changes of the choroid in addition to retinal changes in various pathological chorioretinal conditions with markedly improved imaging quality [15, 16]. It remains unclear whether the choroid is primarily involved, affected concurrently with the retina or secondarily involved in these diseases [17–19]. It is noteworthy that subfoveal total CT regression was even found to be associated with normal aging processes [20, 21]. A comparison between superior quality CT measurements employing the SS-OCT in young preterm children is still to be made.

We recently published that a lowered ratio between the thickness of the central outer nuclear layer and (the sum of overlying) inner retinal layer (ONL+/IRL) correlated directly with reduced central visual function in preterm children [6]. A ratio  $<6.5$  was considered to reflect macular developmental arrest (MDA) [6]. Other groups also showed that long-term visual outcome was compromised in patients with treated ROP (tROP) or resolved ROP [4–6]. In this study, we measured CT by SS-OCT and correlated it with ONL+/IRL in young children with a history of tROP or spontaneously regressed ROP (srROP). For comparison, age-matched, healthy, term-born children

(nKids) and young adult subjects were evaluated in the same way. The aim was to analyze an eventual impact of central CT on the retinal macular changes in preterms with a history of ROP associated with the impaired visual function.

## Methods

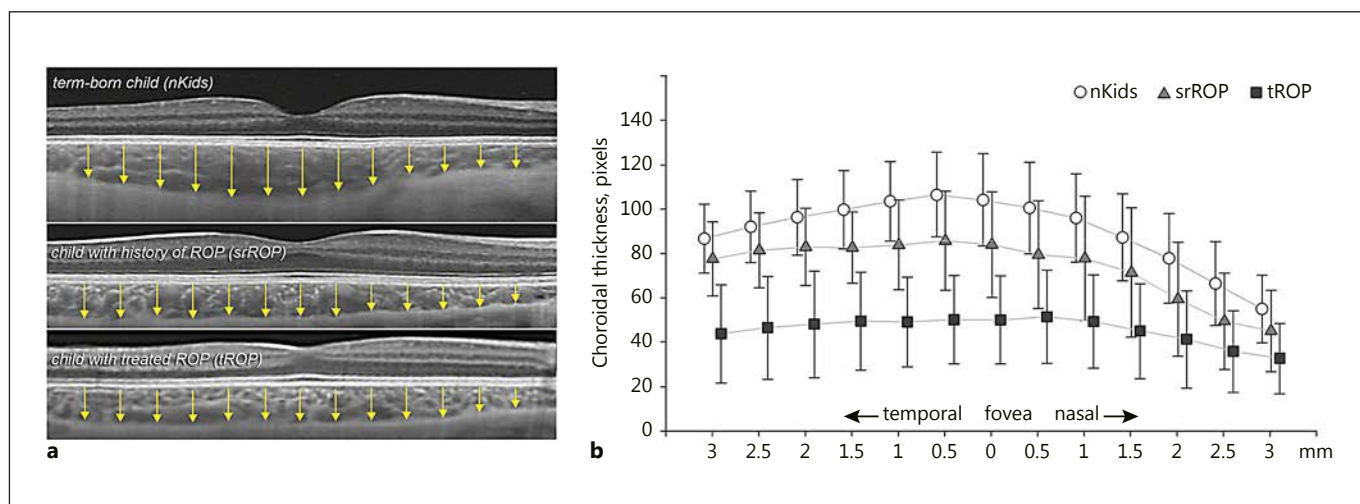
### Subjects

This was a prospective observational study. Research presented in this paper followed the tenets of the Declaration of Helsinki. Ethical approval was obtained from the local institutional ethics committee (Az 150/1). Informed consent was obtained from all adults and from the parents of the involved children. All preterm-born children included had been imaged with digital wide-field retinal imaging (RetCam II; Massie Research Laboratories Inc., Pleasanton, CA, USA) at the time of screening for acute ROP, providing objective documentation of ROP. Twenty preterm-born children and 10 term-born, age-matched controls were invited to participate in the study. All children were born between 2009 and 2013. Only children without apparent psychological or neurological disorders, neonatal hypoglycemia, intraventricular hemorrhage, or severe birth asphyxia-related hypoxic-ischemic encephalopathy were included. Choroidal measurements were only possible in 26 of 30 children (87%). The main reason for problems in the evaluation of CT were a lack of cooperation during the OCT recording and the associated quality loss. Eleven young children had a history of tROP, 7 after transpupillary diode laser photocoagulation (OcuLight GL, Iridex, CA, USA) and 4 after intravitreal bevacizumab (a single dose, 0.312 mg in 0.025 mL) [22]. Six children had a history of srROP. Fourteen (term-born) healthy adults were also evaluated. None of the healthy subjects reported a history of ocular or systemic disease, and a comprehensive eye examination was normal in all subjects. Refraction was measured in cycloplegia. Demographics, gestational age at birth, birth weight, and ROP-related parameters are displayed in Table 1. Best-corrected visual acuity (BCVA) was assessed using ETDRS letter charts or pediatric Patti Pics™ (depending on the cooperation and ability of the tested children). Two children were suffering from amblyopia and 5 (4 with tROP and 1 with srROP) had strabismus. Only the results of the better eye in preterm-born children and a randomly chosen eye in nKids and young adults were used in our statistical analyses.

### ONL+/IRL Ratio

The DRI OCT Triton device (Topcon, NJ, USA) was used for SS-OCT image acquisition. The Triton uses a 1,050-nm wavelength laser beam with 100-kHz A-scans. The thicknesses of 6 retinal layers were manually quantified from the OCT images in the central single scans. We measured the following: retinal nerve fiber layer (NFL), ganglion cell layer plus inner plexiform layer (GCL + IPL), INL plus outer plexiform layer (INL + OPL), ONL plus external limiting membrane (ONL + ELM), inner segment plus inner ellipsoid segment of the photoreceptor layer plus outer segment of the photoreceptor layer (ISE + OS), and retinal pigment epithelium (RPE). The ratio of ONL + ELM to the sum of inner retinal layers (NFL + GCL + IPL + INL + OPL = IRL) overlying the foveal center was calculated, as described in our previous publication [6].





**Fig. 1. a** Example SS-OCT (DRI OCT Triton; Topcon) single scans are represented with measure marks that demonstrate whole choroidal thickness in 3 different cohorts (a healthy term-born child, a child with treated ROP, and a child with spontaneously regressed

ROP). **b** Choroidal thickness distribution (mean  $\pm$  SD) in age-matched healthy children (nKids,  $n = 9$ ) compared to young children with a history of treated (tROP,  $n = 11$ ) or spontaneously regressed ROP (srROP,  $n = 6$ ).

**Table 1.** Demographic and clinical description of preterm and full-term groups, including the ratio of the outer nuclear layer (plus inner plexiform layer) and inner retinal layers

	tROP	srROP	nKids	nAdults
Patients, $n$	11	6	9	14
Age, years	5.5 $\pm$ 1.1	6.0 $\pm$ 1.5	6.0 $\pm$ 0.8	29.4 $\pm$ 10.7
Gender (M/F)	8/3	4/2	6/3	3/11
ROP stage (1/2/3)	0/0/11	3/3/0	–	–
Type of treatment (laser/anti-VEGF)	7/4	–	–	–
Gestational age, weeks	24.3 $\pm$ 1.6	26.3 $\pm$ 1.0	–	–
Birth weight, g	665.2 $\pm$ 172.7	769.0 $\pm$ 209.1	3,707 $\pm$ 688.1	–
BCVA, logMAR	0.22 $\pm$ 0.16	0.05 $\pm$ 0.12	–0.04 $\pm$ 0.05	–0.04 $\pm$ 0.04
SER, dpt	–0.4 $\pm$ 1.3	1.6 $\pm$ 2.5	1.2 $\pm$ 1.7	–1.3 $\pm$ 1.2
ONL+/IRL	2.3 $\pm$ 1.1	5.5 $\pm$ 3.1	10.2 $\pm$ 1.5	9.8 $\pm$ 1.4

Values are expressed as mean  $\pm$  SD, unless otherwise indicated. ROP, retinopathy of prematurity; srROP spontaneously regressed ROP; tROP, treated ROP; nKids/nAdults, term-born healthy children/adults; BCVA, best-corrected visual acuity in the better eye (srROP, tROP, random in healthy controls); SER, spherical equivalent refraction; ONL+/IRL, ratio of the outer nuclear layer (+ inner plexiform layer) and inner retinal layers.

#### Choroidal Thickness

SS-OCT imaging for measuring subfoveal, nasal, and temporal CT was performed using the horizontal, high-quality, single scans of the Triton through the fovea. CT was measured at the fovea, and at 500- $\mu$ m intervals up to 3 mm temporal and nasal to the fovea (Fig. 1). A mean overall CT was obtained by calculating average values of CT measurements at all eccentricities (Fig. 1). Two experienced observers (M.B and W.B.) performed the measurements independently, using a digital caliper tool embedded in the measurement log system in Adobe Photoshop CS6 Extended (Adobe

Systems Inc., San Jose, CA, USA). To avoid bias, the mean of 2 measurements was calculated to perform the statistical analysis. CT was defined as the distance from the hyperreflective line of the subfoveal Bruch membrane to the innermost hyperreflective line of the subfoveal choroidoscleral interface. All images were mirrored to the left eye. Only the results of the better-seeing eye (tROP/srROP) or the randomly chosen eye in the healthy age-matched controls and young adults were used in our statistical analyses.

**Table 2.** Choroidal thickness at different positions centred at the fovea

Nasal	0.5 mm	1.0 mm	1.5 mm	2.0 mm	2.5 mm	3.0 mm
tROP	50.4±20.2	47.2±21.1	44.0±21.3	41.2±20.8	33.8±17.3	33.6±16.9
srROP	78.4±23.3	75.8±27.1	70.3±29.3	57.3±24.8	48.3±20.8	43.9±17.5
nKids	101.8±18.6	98.3±18.4	84.7±18.4	75.3±21.3	62.4±18.3	53.6±16.1
nAdults	97.1±21.1	97.2±20.1	83.7±21.6	79.6±21.8	61.5±19.3	55.8±16.2
Temporal	-0.5 mm	-1.0 mm	-1.5 mm	-2.0 mm	-2.5 mm	-3.0 mm
tROP	51.1±18.9	48.1±20.3	48.4±21.2	47.1±21.9	46.5±21.2	44.8±21.0
srROP	84.8±21.4	82.9±21.4	81.7±17.1	82.0±17.5	82.4±18.0	76.6±16.7
nKids	111.5±18.0	107.5±18.0	102.7±16.2	97.4±15.7	93.5±17.8	92.7±18.5
nAdults	107.2±18.7	101.1±18.5	97.5±19.9	96.0±18.1	91.4±16.6	84.2±12.3
Subfoveal	tROP	srROP	nKids	nAdults		
	48.9±19.8	82.3±27.8	106.3±19.7	104.2±21.4		

All parameters are expressed as means ± SD in pixels. ROP, retinopathy of prematurity; tROP, treated ROP group ( $n = 11$ ); srROP, spontaneously regressed ROP group ( $n = 6$ ); nKids, age-matched term-born healthy young children ( $n = 9$ ); nAdults, term-born healthy young adults ( $n = 14$ ).

### Statistical Analysis

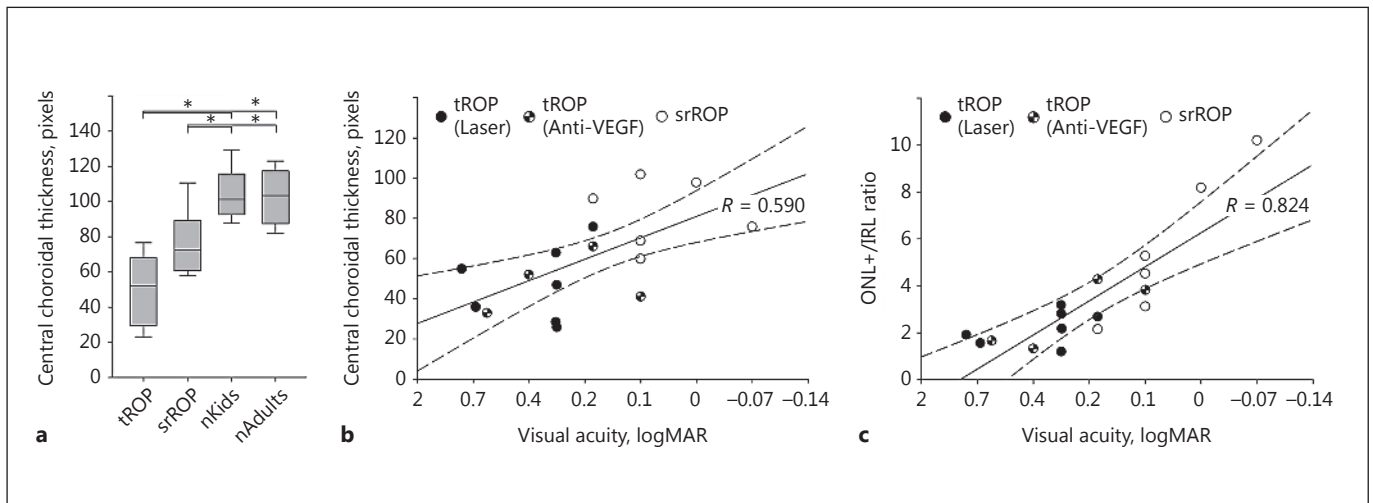
Statistical analysis was conducted with commercial software (Sigma Plot 12.0; Systat Software GmbH, Erkrath, Germany) and MS Excel 2013 (Microsoft, Redmond, WA, USA). Normal distribution was tested with the Shapiro-Wilk normality test. Kruskal-Wallis 1-way ANOVA on ranks was applied to test for significant differences in the different preterm groups and the term-borns to test for statistical differences. Density-based clustering (DBSCAN) was performed to reveal significance between central CT and the affected ONL+/IRL. Silhouette coefficient analysis was used for internal evaluation of clustering results.

### Results

In the analyses, we included 17 eyes of 17 children with a history of ROP (documented with digital wide-field imaging; RetCam II). Eleven of these 17 eyes had been treated with laser ( $n = 7$ ) or intravitreal injection of bevacizumab (0.312 mg in 0.025 mL) per eye ( $n = 4$ ). The findings were compared to those for 9 eyes of 9 healthy age-matched term-born children and 14 eyes of 14 healthy adults. The demographic features of the study population are listed in Table 1. There was no statistically significant difference between tROP, srROP, and nKids in current age ( $p = 0.602$ ).

The measured CT parameters in the horizontal foveal scan are displayed in Figure 1 and Table 2. The mean data

in all healthy subjects showed the highest values in the subfoveal region, with a significant decrease to the temporal and nasal measurement border (Fig. 1a; temporal  $p < 0.001$ ; nasal  $p < 0.001$ ). The nasal margin was significantly thinner than the temporal margin at the same foveal eccentricity ( $p < 0.001$ ). The distribution of all CT values in children with a history of ROP (tROP and srROP) is shown in Figure 1b and Table 2. In contrast to all healthy subjects, a significant peak of the mean values was absent in the subfoveal region. Nevertheless, there was a significant difference between the temporal and nasal borders at the 3-mm eccentricity ( $p = 0.016$ ). Of note, widely distributed values, especially in the central foveal region, were seen in the srROP children. Figure 2a shows the relation of ROP severity to the overall central CT, where the tROP group had the lowest CTs; this was statistically significant (tROP vs. nKids:  $p < 0.001$ ; tROP vs. srROP:  $p < 0.001$ ). The children in the srROP group differed significantly from the age-matched controls ( $p < 0.001$ ). There were no significant differences between healthy term-born children and healthy young adults ( $p = 0.759$ ). There was a positive dependence on birth weight of the current measurements of CT ( $R = 0.391$ ;  $p = 0.036$ ). Gestational age did not correlate with CT ( $R = 0.228$ ;  $p = 0.273$ ). Mean ± SD spherical equivalent refraction (SER, i.e., tROP:  $-0.4 \pm 1.3$ ; srROP  $1.6 \pm 2.5$ ) showed no correlation with central CT ( $R = 0.430$ ;  $p = 0.102$ ).



**Fig. 2. a** Subfoveal choroidal thickness distribution depending on the severity of ROP in children with a history of treated ROP (tROP,  $n = 11$ ) or spontaneously regressed ROP (srROP,  $n = 6$ ) in comparison to healthy age-matched term-born children (nKids,  $n = 9$ ) and young adults (nAdults,  $n = 14$ ). \*  $p < 0.05$ , significance.

**b** Statistical dependence of subfoveal choroidal thickness on best-corrected visual acuity ( $p = 0.024$ ). **c** Statistical dependence of ONL+/IRL (MDA index) on best-corrected visual acuity ( $p < 0.001$ ). **b, c** A regression line (solid line) and 0.05/0.95 confidence intervals (dotted line) are marked.

BCVA was significantly reduced in both the tROP ( $p < 0.001$ ) and srROP ( $p = 0.012$ ) groups compared to the nKids (Table 1). BCVA showed a positive correlation with the central CT ( $R = 0.599$ ;  $p = 0.024$ ) in both the tROP and srROP groups (Fig. 2b). The highest correlation was seen between BCVA and the MDA index (ONL+/IRL) in both the tROP and srROP groups (Fig. 2c;  $R = 0.824$ ;  $p < 0.001$ ).

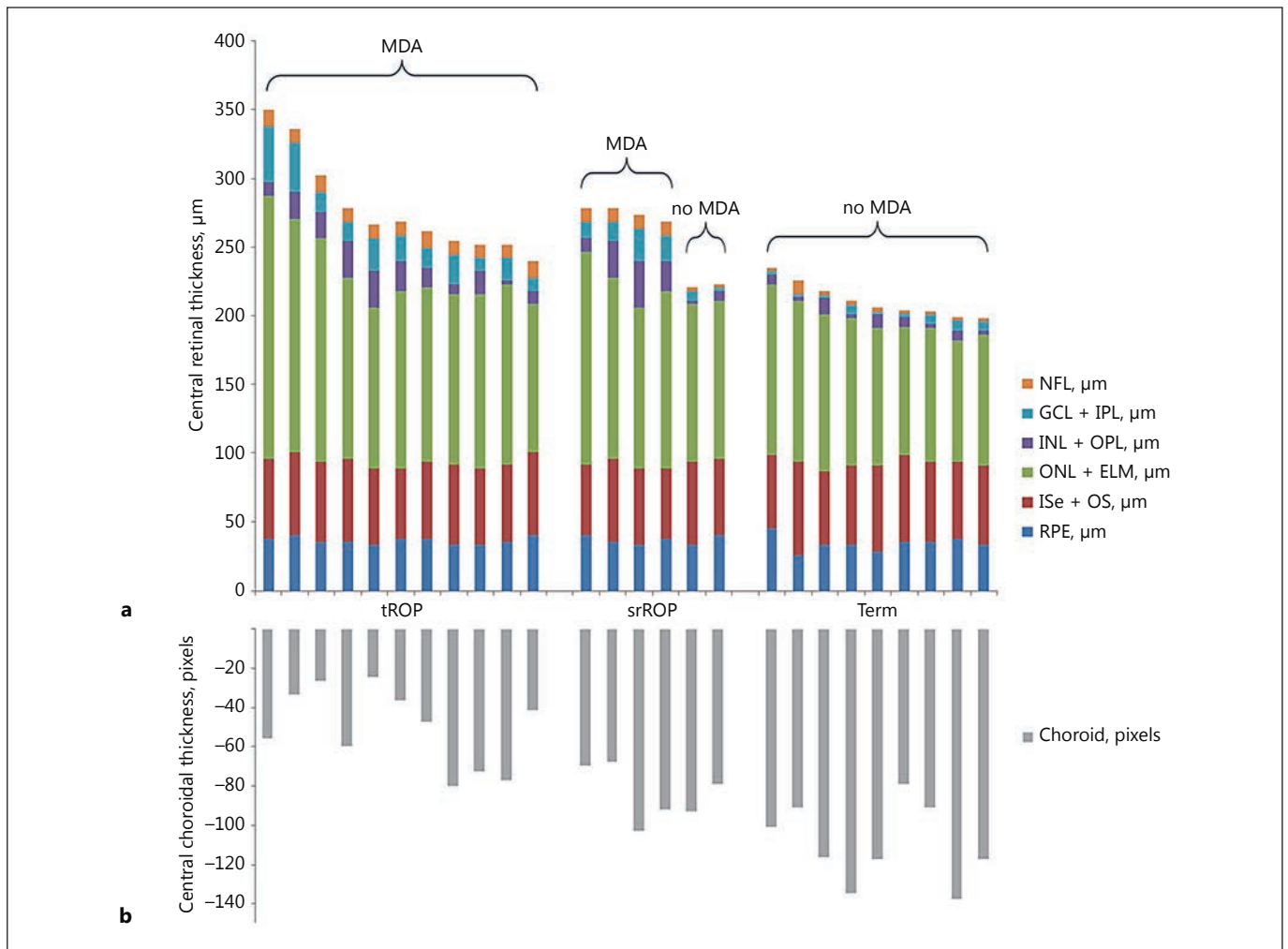
SS-OCT layer segmentation and ONL+/IRL calculation (Fig. 3; 4a) showed a reduced ONL+/IRL in all tROP children and in two-thirds of srROP children (8/12 eyes with a lowered ONL+/IRL; Table 1). Since changes in central CT were in parallel with ONL+/IRL, a 2-dimensional cluster representation was chosen to describe the complex relationship (Fig. 3b). The cluster analysis (DBSCAN algorithm) revealed 2 clusters. Cluster 1 contained all children with a reduced ONL+/IRL and a lowered central CT. Cluster 2 included all children with a normal ONL+/IRL and normal central CT. While cluster 1 only comprised children with tROP or srROP, cluster 2 summarized all healthy controls and 2 children from the srROP group, and all had eyes with normal foveal morphology and CT. While the tROP children showed a uniform distribution in cluster 1, srROP children were distributed in the upper half of cluster 1 (a low ONL+/IRL, but a nearly normal central CT). Neither laser treatment nor intravitreal anti-VEGF injection seemed to have an

impact on the distribution of CT within cluster 1. The centroid of cluster 1 is  $x = 2.7$  (ONL+/IRL) and  $y = 56.3$  (CT area in pixels) and of cluster 2 is  $x = 9.9$  (ONL+/IRL),  $y = 102.3$  (CT area in pixels). The average silhouette coefficient in cluster 1 was 0.64, and 0.77 in cluster 2 (with silhouette coefficient variability between  $-1$  and  $1$ , where  $1$  corresponds to high clustering goodness).

## Discussion

In this prospective cross-sectional study, we found that the tROP-group subfoveal CT was, on average, 34% thinner than in the srROP group, and 53% thinner than in the nKids group. The srROP group showed subfoveal CT values 22% lower than in the nKids group. In agreement with other studies [7–9, 23], we found CT to be significantly thinner at locations up to 3 mm temporal and nasal to the fovea in prematurely born children when compared with the term-born controls. These findings support the theory of choroidal involvement in the pathogenesis of ROP proposed by Shao et al. [3], and support the hypothesis of choroidal involution in these children.

An explanation for significantly thinner choroids might be myopia in children, particularly involving the central foveal regions [24]. Previous studies investigating the cause of poor visual acuity (VA) in high myopia found



**Fig. 3.** Comparison of the measurements of single-layer segmentation of the optical coherence tomography for each individual retinal layer and child (a) and the associated central choroidal thicknesses in each individual child (b). All participants were assigned

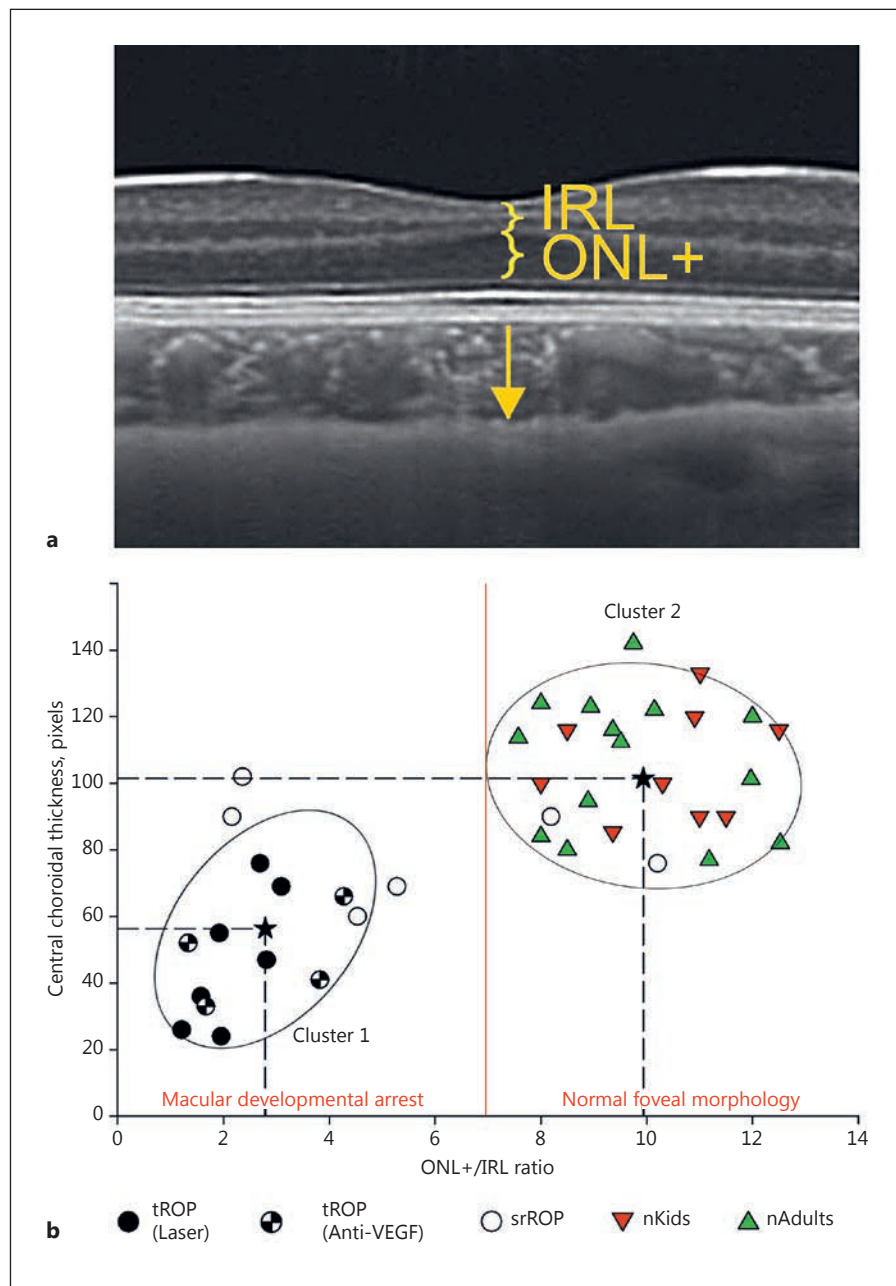
to a group according to a history of treated ROP (tROP), spontaneously regressed ROP (srROP), or term-borns (Term), and additionally being classified as having macular developmental arrest (MDA) or no MDA.

subfoveal CT to be negatively correlated with VA [23, 25]. They suggested that a very thin choroid might deliver decreased metabolic support to the outer retina, which could affect photoreceptor function or cause photoreceptor loss [25]. Since in our study, none of the children with a history of tROP or srROP had high myopia (mean SER in tROP:  $-0.4 \pm 1.3$  and in srROP:  $1.6 \pm 2.5$ ), we excluded myopia as a cause of the significant differences in CT measured in our cohort. Nonetheless, we did observe that reduced CT was correlated with BCVA ( $R = 0.599$ ), and ONL+/IRL showed a higher correlation with BCVA ( $R = 0.824$ ).

To date, it has not been conclusively determined what mechanisms lead to the thinner CT in ROP. Previous

studies observed a decrease in VEGF expression in the choroid in 1-month-old rats subjected to oxygen-induced retinopathy [26]. While ROP has been shown to cause central and peripheral visual disorder, the exact cause of these deficits is not known [6, 27, 28]. In an animal ROP model, Shao et al. [3] found that an involution of choroid tissue and choriocapillaris, which supplies nutrients and oxygen to the outer retina, was an important contributor to reduced cone and rod function. They suggested 15-deoxy- $\Delta^{12,14}$ -prostaglandin J2 (15d-PGJ2) as a key mediator that might cause choroidal vaso-obliteration, thereby affecting CT through the induction of oxidant stress in ROP [3]. In addition, the application of laser

**Fig. 4. a** An example SS-OCT (DRI OCT Triton; Topcon) single scan is represented with measure marks that demonstrate whole subfoveal choroidal thickness, outer nuclear layer with inner plexiform layer (ONL+) and the sum of the inner retinal layers (IRL) overlying the ONL+ in the center of the fovea. **b** A cluster-graph shows the parameters ONL+/IRL ratio and subfoveal choroidal thickness in 40 subjects (11 with tROP, 6 with srROP, 9 term-born children [nKids], and 14 healthy adults [nAdults]). Data are divided into 2 clusters calculated by the DBSCAN algorithm with centroids (marked with  $x$ - $y$  drop lines), showing 2 separated groups of subjects with (cluster 1;  $n = 15$ ) and without (cluster 2;  $n = 25$ ) macular developmental arrest (MDA index:  $ONL+/IRL < 7$ ).



treatment to the eyes could affect choroidal circulation [29]. In agreement with this finding, we observed a positive correlation of central CT and BCVA in children with a history of ROP. Treated eyes were more affected by the lowered CT than untreated eyes. Of note, eyes with intraocular anti-VEGF injections did not show significant differences from laser-treated eyes.

Our layer analysis of retinal SS-OCT images confirmed thicker central IRL and ONL+ layers in preterm children,

as we and others have previously described [6, 30–32]. Significantly reduced BCVA showed a high correlation with a disproportion of the ONL+ and the IRL ( $R = 0.824$ ). These results are in line with our previous study on children with srROP or no ROP [6]. This ONL+/IRL discrepancy emerged especially in preterm born children with higher central retinal thickness, and occurred more frequently (but not exclusively) in children with advanced stages of ROP [6]. In our previous publication, we sug-



gested “macular developmental arrest” as a term to describe the underlying pathophysiology resulting in a shallower foveal pit, a significantly increased GCL+ and INL+ thickness, and a simultaneous relative reduction of ONL+ thickness [6]. Our cluster analysis with the dependent parameters ONL+/IRL and subfoveal CT divided all participants into 2 independent clusters, with an overlap of subfoveal CT values in these 2 clusters. The related consideration of both statistical methods shows that the reduced ONL+/IRL had a higher predictive value for BCVA than the CT did.

Several studies already measured CT in premature children using SD-OCT [7, 8, 10]. However, to our knowledge, this is the first study to measure CT in young preterm infants using the superior SS-OCT technique. Although EDI techniques improved the visualization of the choroid and sclera in earlier studies, these structures were not always clearly seen because the maximum of the wavelength-amplitude of the light sources used in SD-OCT devices (range 800–870 nm) is not optimal for deep penetration of choroidal tissue [12, 33, 34]. The optimal wavelength of 1,050 nm as the main feature of SS-OCT improves the visualization of the entire thickness of the posterior coats of the eye, as longer wavelengths exhibit less scatter and can penetrate deeper into the tissue because they are not absorbed by water [33]. Moreno et al. [35] demonstrated the feasibility of using SD-OCT to examine the choroid in premature infants, and visualized the choroidoscleral junction in 78%. Similarly, Erol et al. [8] were able to measure subfoveal CT in 80% of the premature infants. The SS-OCT single scans in our study visualized the choroidoscleral junction at all eccentricities of the scan of every child and young adult, in agreement with the results reported by Copete et al. [14] for healthy subjects.

We are aware of the limited size of our cohort as a main limitation of our study. In addition, a group of preterm children without ROP in their history would bridge the gap between children with srROP and term-born healthy children. The strength of our study is the objective documentation of acute ROP at the time of screening, together with a follow-up into school-age.

In summary, we showed that lowered CT in children with objectively documented ROP was linked to the severity of ROP. This finding overlaps with the significant morphologic changes described by the ONL+/IRL (or MDA index) of the retina in preterms, but does not show absolute conformity with it. MDA appears to be a more sensitive parameter to predict the consequences for VA. Our study has shown the involvement of the choroid in ROP and its impact on the vision of the examined children. Our small study population does not permit general statements to be made about the impact of the choroidal layers on the development of the photoreceptor layer or the formation of the foveal pit. However, our findings may represent the first step to enabling reliable, noninvasive measurement of the CT. Further work is needed to elucidate whether the thinner choroid in tROP and regressed ROP is a consequence of ROP or prematurity, and if it is conducive to the associated central visual function deficits.

### Acknowledgment

The manufacturer (Topcon) provided the DRI OCT Triton device for a trial period of 4 weeks at our institution.

### Disclosure Statement

There is no conflict of interests for any author.

### References

- 1 Chen ML, Guo L, Smith LE, Dammann CE, Dammann O: High or low oxygen saturation and severe retinopathy of prematurity: a meta-analysis. *Pediatrics* 2010;125:e1483–e1492.
- 2 Chen J, Smith LE: Retinopathy of prematurity. *Angiogenesis* 2007;10:133–140.
- 3 Shao Z, Dorfman AL, Seshadri S, Djavari M, Kermorvant-Duchemin E, Sennlaub F, Blais M, Polosa A, Varma DR, Joyal JS, Lachapelle P, Hardy P, Sitaras N, Picard E, Mancini J, Sapielha P, Chemtob S: Choroidal involution is a key component of oxygen-induced retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011;52:6238–6248.
- 4 Fulton AB, Hansen RM, Moskowitz A: Development of rod function in term born and former preterm subjects. *Optom Vis Sci* 2009;86:E653–E658.
- 5 Fulton AB, Hansen RM, Moskowitz A, Barnaby AM: Multifocal ERG in subjects with a history of retinopathy of prematurity. *Doc Ophthalmol* 2005;111:7–13.
- 6 Bowl W, Stieger K, Bokun M, Schweinfurth S, Holve K, Andrassi-Darida M, 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:OCT235–OCT241.
- 7 Park KA, Oh SY: Analysis of spectral-domain optical coherence tomography in preterm children: retinal layer thickness and choroidal thickness profiles. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012;53:7201–7207.
- 8 Erol MK, Coban DT, Ozdemir O, Dogan B, Tunay ZO, Bulut M: Choroidal thickness in infants with retinopathy of prematurity. *Retina* 2016;36:1191–1198.
- 9 Wu WC, Shih CP, Wang NK, Lien R, Chen YP, Chao AN, Chen KJ, Chen TL, Hwang YS, Lai CC, Huang CY, Tsai S: Choroidal thickness in patients with a history of retinopathy of prematurity. *JAMA Ophthalmol* 2013;131:1451–1458.

- 10 Anderson MF, Ramasamy B, Lythgoe DT, Clark D: Choroidal thickness in regressed retinopathy of prematurity. *Eye* 2014;28:1461–1468.
- 11 Spaide RF, Koizumi H, Pozzoni MC: Enhanced depth imaging spectral-domain optical coherence tomography. *Am J Ophthalmol* 2008;146:496–500.
- 12 Adhi M, Liu JJ, Qavi AH, Grulkowski I, Lu CD, Mohler KJ, Ferrara D, Kraus MF, Baumal CR, Witkin AJ, Waheed NK, Hornegger J, Fujimoto JG, Duker JS: Choroidal analysis in healthy eyes using swept-source optical coherence tomography compared to spectral domain optical coherence tomography. *Am J Ophthalmol* 2014;157:1272–1281.e1.
- 13 Srinivasan VJ, Adler DC, Chen Y, Gorczynska I, Huber R, Duker JS, Schuman JS, Fujimoto JG: Ultrahigh-speed optical coherence tomography for three-dimensional and en face imaging of the retina and optic nerve head. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008;49:5103–5110.
- 14 Copete S, Flores-Moreno I, Montero JA, Duker JS, Ruiz-Moreno JM: Direct comparison of spectral-domain and swept-source OCT in the measurement of choroidal thickness in normal eyes. *Br J Ophthalmol* 2014;98:334–338.
- 15 Ferrara D, Mohler KJ, Waheed N, Adhi M, Liu JJ, Grulkowski I, Kraus MF, Baumal C, Hornegger J, Fujimoto JG, Duker JS: En face enhanced-depth swept-source optical coherence tomography features of chronic central serous chorioretinopathy. *Ophthalmology* 2014;121:719–726.
- 16 Ohno-Matsui K, Akiba M, Ishibashi T, Moriyama M: Observations of vascular structures within and posterior to sclera in eyes with pathologic myopia by swept-source optical coherence tomography. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012;53:7290–7298.
- 17 Mullins RF, Johnson MN, Faidley EA, Skeie JM, Huang J: Choriocapillaris vascular dropout related to density of drusen in human eyes with early age-related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011;52:1606–1612.
- 18 Kim SW, Oh J, Kwon SS, Yoo J, Huh K: Comparison of choroidal thickness among patients with healthy eyes, early age-related maculopathy, neovascular age-related macular degeneration, central serous chorioretinopathy, and polypoidal choroidal vasculopathy. *Retina* 2011;31:1904–1911.
- 19 Adhi M, Ferrara D, Mullins RF, Baumal CR, Mohler KJ, Kraus MF, Liu J, Badaro E, Alasil T, Hornegger J, Fujimoto JG, Duker JS, Waheed NK: Characterization of choroidal layers in normal aging eyes using en face swept-source optical coherence tomography. *PLoS One* 2015;10:e0133080.
- 20 Margolis R, Spaide RF: A pilot study of enhanced depth imaging optical coherence tomography of the choroid in normal eyes. *Am J Ophthalmol* 2009;147:811–815.
- 21 Spaide RF: Age-related choroidal atrophy. *Am J Ophthalmol* 2009;147:801–810.
- 22 Lorenz B, Stieger K, Jäger M, Mais C, Stieger S, Andrassi-Darida M: Retinal vascular development with 0.312 mg intravitreal bevacizumab to treat severe posterior retinopathy of prematurity: a longitudinal fluorescein angiographic study. *Retina* 2017;37:97–111.
- 23 Fujiwara T, Imamura Y, Margolis R, Slakter JS, Spaide RF: Enhanced depth imaging optical coherence tomography of the choroid in highly myopic eyes. *Am J Ophthalmol* 2009;148:445–450.
- 24 Read SA, Collins MJ, Vincent SJ, Alonso-Caneiro D: Choroidal thickness in myopic and nonmyopic children assessed with enhanced depth imaging optical coherence tomography. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2013;54:7578–7586.
- 25 Nishida Y, Fujiwara T, Imamura Y, Lima LH, Kurosaka D, Spaide RF: Choroidal thickness and visual acuity in highly myopic eyes. *Retina* 2012;32:1229–1236.
- 26 Tan CS, Ngo WK, Cheong KX: Comparison of choroidal thicknesses using swept source and spectral domain optical coherence tomography in diseased and normal eyes. *Br J Ophthalmol* 2015;99:354–358.
- 27 Siatkowski RM, Dobson V, Quinn GE, Summers CG, Palmer EA, Tung B: Severe visual impairment in children with mild or moderate retinal residua following regressed threshold retinopathy of prematurity. *J AAPOS* 2007;11:148–152.
- 28 Fulton AB, Hansen RM, Petersen RA, Vanderveen DK: The rod photoreceptors in retinopathy of prematurity: an electroretinographic study. *Arch Ophthalmol* 2001;119:499–505.
- 29 Pryds A, Larsen M: Choroidal thickness following extrafoveal photodynamic treatment with verteporfin in patients with central serous chorioretinopathy. *Acta Ophthalmol* 2012;90:738–743.
- 30 Yanni SE, Wang J, Chan M, Carroll J, Farsiou S, Leffler JN, Spencer R, Birch EE: Foveal avascular zone and foveal pit formation after preterm birth. *Br J Ophthalmol* 2012;96:961–966.
- 31 Hammer DX, Iftimia NV, Ferguson RD, Bigelow CE, Ustun TE, Barnaby AM, Fulton AB: Foveal fine structure in retinopathy of prematurity: an adaptive optics Fourier domain optical coherence tomography study. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008;49:2061–2070.
- 32 Dolz-Marco R, Phasukkijwatana N, Sarraf D, Freund KB: Optical coherence tomography angiography in fovea plana. *Ophthalmic Surg Lasers Imaging Retina* 2016;47:670–673.
- 33 Huynh E, Chandrasekera E, Bukowska D, McLenachan S, Mackey DA, Chen FK: Past, present, and future concepts of the choroidal scleral interface morphology on optical coherence tomography. *Asia Pac J Ophthalmol* 2017;6:94–103.
- 34 Waldstein SM, Faatz H, Szymaczek M, Glodan AM, Podkowinski D, Montuoro A, Simader C, Gerendas BS, Schmidt-Erfurth U: Comparison of penetration depth in choroidal imaging using swept source vs. spectral domain optical coherence tomography. *Eye* 2015;29:409–415.
- 35 Moreno TA, O'Connell RV, Chiu SJ, Farsiou S, Cabrera MT, Maldonado RS, Tran-Viet D, Freedman SF, Wallace DK, Toth CA: Choroid development and feasibility of choroidal imaging in preterm and term infants utilizing SD-OCT. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2013;54:4140–4147.

# Handgehaltene optische Kohärenztomografie in pädiatrischer Ophthalmologie: Erfahrung der Gießener Universitätsaugenklinik

## Handheld Optical Coherence Tomography in Paediatric Ophthalmology: Experience of the Department of Ophthalmology in Giessen

### Autoren

W. Bowl<sup>1</sup>, M. Andrassi-Darida<sup>2</sup>, K. Holve<sup>1</sup>, S. Schweinfurth<sup>1</sup>, R. Knobloch<sup>1</sup>, B. Lorenz<sup>1,2</sup>

### Institute

<sup>1</sup> Justus-Liebig-Universität Gießen

<sup>2</sup> Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde, Universitätsklinikum Gießen und Marburg GmbH, Standort Gießen

### Schlüsselwörter

- Kinderophthamologie
- handgehaltene Spectral-Domain-OCT
- Frühgeborenenretinopathie
- frühkindlicher Nystagmus
- Netzhautdystrophien

### Key words

- pediatric ophthalmology
- handheld spectral domain OCT
- retinopathy of prematurity (ROP)
- infantile nystagmus
- retinal dystrophies

**eingereicht** 22.6.2016

**akzeptiert** 22.7.2016

### Bibliografie

**DOI** <http://dx.doi.org/10.1055/s-0042-114042>  
 Online-publiziert 13.9.2016  
 Klin Monatsbl Augenheilkd 2016; 233: 1142–1148 © Georg Thieme Verlag KG Stuttgart · New York · ISSN 0023-2165

### Korrespondenzadresse

**Prof. Birgit Lorenz**  
 Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde  
 Universitätsklinikum Gießen und Marburg GmbH, Standort Gießen  
 Friedrichstraße 18  
 35392 Gießen  
 Tel.: + 49/(0)641/994 3800  
 Fax: + 49/(0)641/994 3809  
 birgit.lorenz@uniklinikum-giessen.de

### Zusammenfassung



**Einleitung:** Optische Kohärenztomografie ist ein wichtiges Werkzeug zur Darstellung und Analyse retinaler Ultrastrukturen. Allerdings ist die Einsatzmöglichkeit üblicher Standgeräte bei Kindern begrenzt. In unserem Artikel berichten wir über unsere Erfahrungen bei der täglichen Arbeit mit dem handgehaltenen Gerät Biotigen zur Spectral-Domain optischen Kohärenztomografie (HH-SD-OCT) bei Säuglingen und Kleinkindern der kinderophthalmologischen Ambulanz.

**Methoden:** Zwischen Oktober 2014 und April 2016 untersuchten wir insgesamt 259 Patienten. Ausgewertet wurden Indikationen und Diagnosen. Einzelne Beispiele verschiedener Patientenfälle werden exemplarisch vorgestellt, um Vor- und Nachteile der neuartigen Technik darzustellen.

**Ergebnisse:** Mit einer mittleren Untersuchungszeit von 18,3 Minuten ( $\pm 8,3$  SD) konnten Kinder ab einem Alter von 7 Wochen nicht invasiv untersucht werden (Median: 1,59 Jahre;  $\pm 1,32$  SD). Mit 32,8% aller Fälle waren Beurteilungen im Rahmen einer Frühgeburt die häufigste Indikation zum HH-SD-OCT. Nystagmus, Netzhautdystrophien, reduzierter Visus und Albinismus umfassten weitere 37,4% aller Indikationen.

**Schlussfolgerung:** Das handgehaltene OCT ist eine gewinnbringende Ergänzung in der Diagnostik von Erkrankungen in der pädiatrischen Ophthalmologie. Neben bereits etablierten Methoden zur Bildgebung wie dem Kontaktverfahren zur Weitwinkelfundusfotografie ermöglicht das HH-SD-OCT, neue Informationen retinaler Veränderungen objektiv zu dokumentieren und sie im Verlauf weiterzuverfolgen. Bei unruhiger Fixation ist aufgrund des fehlenden Eyetrackings eine Orientierung am hinteren Netzhautpol schwierig und Verlaufsuntersuchungen nur mit zusätzlichem Analyseaufwand möglich.

### Abstract



**Introduction:** Optical coherence tomography is an important tool for the imaging and analysis of retinal structures. The usability of conventional table-top devices is limited in children. We report on our experiences with a handheld Spectral Domain Optical Coherence Tomography (HH-SD-OCT, Biotigen™) in infants and young children in our daily practice.

**Methods:** Between October 2014 and April 2016, we investigated 259 patients. Indications and diagnoses were assessed. Individual examples are shown to demonstrate the advantages and disadvantages of the novel technique.

**Results:** It was possible to examine 259 children of at least 7 weeks of age (median: 1.59 years;  $\pm 1.32$  SD) with a mean investigation time of 18.3 minutes ( $\pm 8.3$  SD). The most frequent indication was retinal assessment in prematures (32.8%). Nystagmus, retinal dystrophies, reduced visual acuity and albinism amounted to additional 37.4% of all indications.

**Conclusions:** Handheld OCT is a beneficial complement for diagnosis of diseases in paediatric ophthalmology. As a complement to established methods like wide-field fundus photography, HH-SD-OCT allows the physician to assess and follow-up new objective structural information. As the Biotigen does not have an eye tracker, it is challenging to orient the scan in the posterior retinal pole, in particular in case of instable fixation. This complicates follow-up investigations, which can only be performed with additional high programming and analysis effort.



## Einleitung

Die optische Kohärenztomografie (OCT) ist nach mittlerweile über 20-jährigem Einsatz in der Augenheilkunde zu einem etablierten nicht-invasiven kontaktlosen Verfahren zur Untersuchung der Vorderabschnitts- und Netzhautultrastruktur geworden [1, 2]. Sie ist Standard bei Diagnostik und Management vitreoretinaler Erkrankungen, welche den hinteren Netzhautpol betreffen, insbesondere weil sie morphologische Informationen liefert, welche mit anderen konventionellen Verfahren verborgen bleiben [3, 4].

Das bei erwachsenen Patienten bewährte Verfahren konnte sich bei kleineren und jüngeren Patienten weniger durchsetzen, da die Geräte am Tisch montiert und mit einer Kinn- und Stirnstütze zur Kopffixation versehen sind. Zur erfolgreichen Untersuchung bedarf es eines aufrecht sitzenden und für eine zumindest kurze Zeit kooperativen Patienten, welcher Anweisungen zur Durchführung der Untersuchung verstehen und umsetzen kann. Vinekar et al. (2010) demonstrierten, dass mit einem ab- und umgebauten Tischgerät Aufnahmen bei Kindern möglich sind – die Methode blieb jedoch nicht allgemein anwendbar und zu komplex [5]. Nur bei älteren Kindern ab ca. dem 4. Lebensjahr ist eine erfolgreiche OCT-Untersuchung möglich (Abb. 1a). Hierbei zeigte sich, dass die OCT gegenüber klinischer Untersuchung bei der Entdeckung von Netzhautödemen, subretinaler Flüssigkeit und Netzhautverdünnung der rein klinischen Untersuchung überlegen ist [6].

Die Technologie der portablen OCTs entwickelte sich weiter, um Einschränkungen in der pädiatrischen Praxis zu überwinden. Eines der daraus entstandenen Geräte ist das Biotiptigen Envisu 2300 (Biotiptigen Inc., Research Triangle Park, NC, USA) mit einer handgehaltenen Messsonde, welche Aufnahmen in verschiedenen Körperpositionen (liegend, sitzend) erlaubt [7,8] und aufgrund der Messtechnik und der veränderten Messprotokolle eine höhere Aufnahmegeschwindigkeit erreicht. Mit einer zu Tischgeräten vergleichbaren Abbildungsqualität erlaubt es, bisher unbekannte morphologische Details von Netzhautläsionen bei Kindern zu visualisieren. Die sinnvolle Ergänzung zu bereits etablierten Bildgebungsverfahren wie der Weitwinkelfundusfotografie mit der RetCam (Clarity Medical Systems, Inc., Pleasanton, CA,

USA) trägt entscheidend zur weiteren Erkrankungsbeurteilung und zum Erkrangungsmanagement bei.

In diesem Artikel beschreiben wir unsere Erfahrungen mit dem handgehaltenen SD-OCT in Diagnostik und Management von Netzhauterkrankungen in der pädiatrischen Ophthalmologie und zeigen Beispiele von kleinen Patienten aus unserer täglichen Praxis.

## Methoden

Zur Untersuchung wurde ein handgehaltenes SD-OCT (HH-SD-OCT) des Herstellers Biotiptigen (Envisu C2300, Biotiptigen Inc., Research Triangle Park, NC, USA) verwendet. Es besteht aus einer Messsonde (Abb. 1b und c), welche über ein 1,3 m langes flexibles Glasfaserkabel mit einem portablen Systemturm verbunden ist. Neben dem Steuerungscomputer besitzt das System einen manuell einstellbaren Referenzarm, welcher nach Herstellerangaben an die jeweilige Achsenlänge des Patienten angepasst werden kann. Die handgehaltene Messsonde besitzt zudem eine manuelle Fokusanpassung mit einer Bandbreite zwischen -12 und +10 dpt. Das Envisu-C2300-System arbeitet mit einer Kamerazeilenrate von 36000 Zeilen/s und einer maximalen axialen Auflösung von 2,4 µm/Pixel im retinalen Gewebe [8,9] sowie einer Reflexionswellenlänge von 840 µm. Im Unterschied zu den gängigen Tischgeräten (Tabletop = TT-SD-OCT) wie z.B. der Spectralis (Heidelberg Eng., Heidelberg, DE), Cirrus (Carl Zeiss Meditec AG, Oberkochen, DE) oder RTVue (Optovue Inc., Fremont, CA, USA), besitzt das Envisu C2300 keinen infraroten Live-Eyetracker, mit dem die einzelnen B-Scans auf Parallelität und Positionierung hin ausgerichtet werden. Bei sicher fixierenden Patienten dient eine errechnete 2-dimensionale Retinadarstellung der Orientierung, ist jedoch nicht mit einer Infrarotaufnahme von Tischgeräten zu vergleichen.

Sämtliche Aufnahmen fanden immer im Anschluss an die klinische Routineuntersuchung statt. Die Untersuchung wurde am häufigsten in liegender Position durchgeführt (Abb. 1b und c). Seltener wurden die Kinder bei einem Elternteil auf dem Schoß sitzend oder im Kinderwagen positioniert. Zur Verbesserung der Compliance wurde die Untersuchung den Kindern ab ca. dem 1. Lebensjahr in Kürze erklärt und an einem Stofftier demon-



**Abb. 1** Vergleich verschiedener OCT-Untersuchungsmethoden an Kindern. **a** Kooperatives 4-jähriges Mädchen am TT-SD-OCT. **b** 4-jähriges Mädchen am HH-SD-OCT. **c** 3 Monate altes Baby am HH-SD-OCT.

**Tab. 1** Zusammenfassung der Indikationen zur Untersuchung mit dem HH-SD-OCT aller Patienten aus der Gießener pädiatrischen Ophthalmologie von Oktober 2014 bis April 2016.

Indikation zur Untersuchung	Patienten (n)	weiblich (n)	männlich (n)	Alter (Jahre) (Median $\pm$ SD)
Frühgeburt mit/ohne ROP	85	41	44	0,72 $\pm$ 0,56
Nystagmus	48	26	22	2,14 $\pm$ 2,01
fam. Netzhautdystrophie	23	13	10	4,04 $\pm$ 3,76
red. Visus/verzögerte visuelle Reifung	17	10	7	5,66 $\pm$ 2,01
path. Papillenveränderungen	17	11	6	4,66 $\pm$ 3,91
path. Veränderungen des Vorderabschnitts	15	8	7	0,81 $\pm$ 0,77
Makulaveränderungen	14	8	6	3,02 $\pm$ 1,80
Albinismus	9	5	4	2,97 $\pm$ 2,43
Amblyopie	3	1	2	2,83 $\pm$ 1,25
Netzhautablösung	2	0	2	1,34 $\pm$ 1,01
Netzhautblutung	2	1	1	0,57 $\pm$ 0,33
Sonstiges/Verschiedenes	24	13	11	0,35 $\pm$ 0,27
Gesamt	259	137	122	1,59 $\pm$ 1,32

ROP: Retinopathy of prematurity = Frühgeborenenretinopathie

triert. Bei der einzelnen Untersuchung der Kinder wurden rechteckige C-Scans (Volumescans) in der Größe von  $12 \times 12$  mm durchgeführt (100 B-Scans mit jeweils 1000 A-Scans). Hierzu wird die Messsonde dem kindlichen Auge auf ca. 3 cm genähert und sobald die gewünschte OCT-Reflexion im Live-Bildschirm zu sehen war mit einem Fußtaster die Aufnahme ausgelöst. Die Abtastung aller 100 B-Scans ohne Mittelungsmodus dauerte weniger als 3 Sekunden. Aufgrund des fehlenden Eyetrackings war eine Mittelung (Averaging) des B-Scans ebenso wenig möglich wie die Korrektur der Scan-Position bei Blickfolgebewegungen. Die Qualität der Untersuchung wurde anhand folgender Kriterien beurteilt (modifiziert von Maldonado et al., 2010 [8]): (a) Adjustierung der Messsonde und Erreichen eines OCT-Signals innerhalb einer Minute, (b) Möglichkeit zur Orientierung nach durchlaufenem OCT-Scan anhand der errechneten 2-dimensionalen Aufnahme und (c) Abbildung des Zielbereichs (z.B. Fovea oder Papille). Die Bildqualität wurde als gut befunden, wenn der Untersucher sicher den Netzhautschnitt vom Glaskörper und Chorioidea abgrenzen und einzelne Schichten innerer und äußerer Netzhaut differenzieren konnte. Die Bildqualitätsbeurteilung übernahm stets ein erfahrener Benutzer. Zur Weiterverarbeitung wurden die so aufgenommenen C-Scans exportiert und in das speziell angefertigte DiOCTA-Modul zur OCT-Einzelschichtsegmentierung importiert [10]. Die exakten Schichtdicken aller 100 B-Scans wurden zur Weiterverarbeitung an ein angepasstes Rekonstruktionsmodul zur 3-dimensionalen Darstellung exportiert (MatLab 12.1; MathWorks Inc. MA, USA). Die Untersuchungen wurden so lange fortgeführt (im Median 18,3 Minuten Untersuchungszeit  $\pm$  8,3 Minuten), bis mindestens eine Aufnahme zufriedenstellender Qualität die Fovea, den Sehnervenkopf und evtl. zusätzliche Befunde (Blutungsherde, Tumoren, Ödeme) darstellt. Die Fovea wurde anhand von Kriterien identifiziert, welche von Mohammad et al. (2011) definiert wurden [11]. Diese beinhalten eine foveale Einsenkung, Verdünnung der Schichten der inneren Retina, zunehmende Wölbung der äußeren nukleären Schicht und die Verlängerung der Photorezeptoraußensegmente. Fehlte eine foveale Einsenkung, wurde eine Aufnahme angestrebt, welche den Sehnervenkopf, den oberen und unteren Gefäßbogen gleichzeitig darstellt.

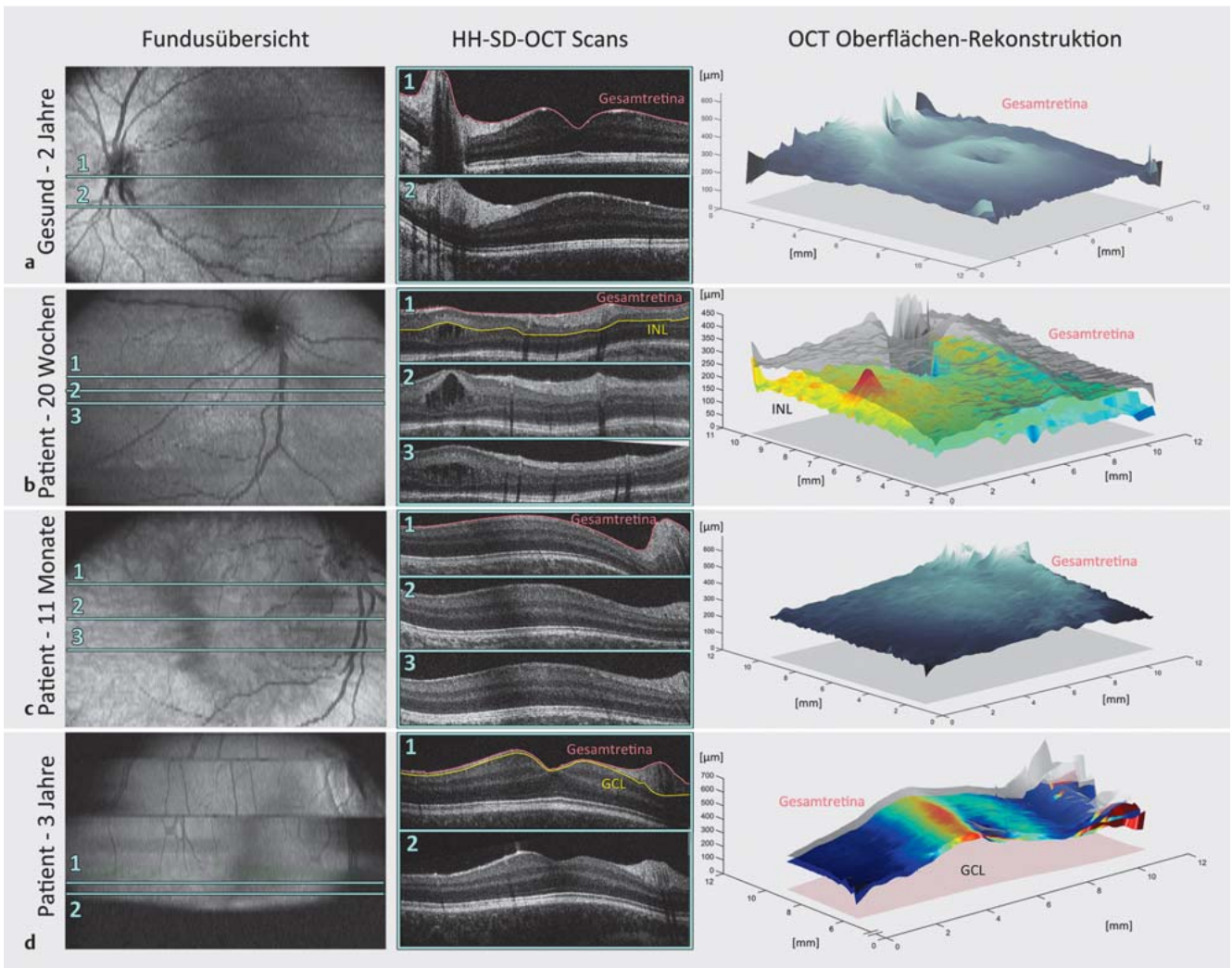
## Ergebnisse



Im Untersuchungszeitraum zwischen Oktober 2014 und April 2016 wurden 259 Kinder untersucht, welche sich in unserer Ambulanz vorgestellt haben. In **Tab. 1** sind alle Diagnosen bzw. Indikationen zur Untersuchung zusammengefasst, bei denen wir eine handgehaltene SD-OCT-Untersuchung durchgeführt haben. Von allen aufgenommenen Kindern waren 137 Mädchen (52,9%) und 122 Jungen (47,1%), in einem durchschnittlichen Alter von 1,59 Jahren ( $\pm$  1,32 SD; Altersspannweite: 7 Wochen bis 8 Jahre). Die durchschnittliche Aufnahmezeit pro Kind betrug im Median 18,3 Minuten ( $\pm$  6,3 SD; Mädchen: Median 17,9 Minuten; Jungen: Median 18,5 Minuten; statistisch kein signifikanter Unterschied). Grundsätzlich ist eine Abnahme der Untersuchungszeit mit zunehmendem Alter feststellbar. So dauert eine Aufnahmesitzung bei Kindern unter einem Alter von 1 Jahr im Schnitt 24,3 Minuten, während bei Kindern über 3 Jahren im Mittel nur 15,7 Minuten notwendig sind.

Frühgeburtlichkeit war die häufigste Indikation, mit der wir Kinder am HH-SD-OCT untersuchten (32,8%). Mit abnehmender Häufigkeit folgten frühkindlicher Nystagmus (in verschiedenen Ausprägungen) mit 18,5%, familiäre Netzhautdystrophien mit 8,9%, unklarer reduzierter Visus und verzögerte visuelle Reifung sowie pathologische Papillenveränderungen mit jeweils 6,6% und Makulaveränderungen mit 5,4%. Bei pathologischen Veränderungen im Vorderabschnitt (wie z.B. kongenitale Katarakt, kongenitales Glaukom, Glaskörpertrübungen) wurden explorative Aufnahmen angefertigt, um die Beurteilbarkeit des hinteren Pols der Netzhaut auch bei teilweise schlecht einsehbarem Fundus zu beschreiben. Hauptaufnahmezweck war die Darstellung der Fovea und des Sehnervs. Eine Beurteilung peripherer Veränderungen bei der Frühgeborenenretinopathie (ROP) verschiedener Stadien war am wachen Kind aufgrund der eingeschränkten Compliance und des eingeschränkten Blickwinkels der Kamera nicht möglich.

Die liegende Position (vergleiche **Abb. 1**) war die am häufigsten genutzte Aufnahmeposition (84% der Fälle). Selten wurde die Untersuchung im Kinderwagen direkt am schlafenden Kind (5% der Fälle) oder bei den Eltern in aufrechter Position auf dem Arm (4% der Fälle) vorgenommen. Alle weiteren Untersuchungen (insbesondere bei extrem frühgeborenen Kindern) wurden vor



**Abb. 2** Fundusübersicht: Errechnetes Fundusbild aus Bioptigen-OCT-B-Scans einer Untersuchung (keine Infrarotaufnahme!). HH-SD-OCT-Scans: Beispielhafte B-Scans aus einer Bioptigen-OCT-Untersuchung. OCT-Oberflächenrekonstruktion: Dreidimensionale Oberflächendarstellung segmentierter Daten mit DiOCTA aus den zur Verfügung stehenden aufeinanderfolgenden B-Scans ohne Fixationsverschiebung. **a** Gesundes 2-jähriges Mädchen. **b** Frühgeborener der 26.+1. Schwangerschaftswoche (SSW) mit 920 g Geburtsgewicht (GGW) mit residueller ROP nach ROP Stadium III+. In der 20. Lebenswoche war bei der Untersuchung mit dem HH-SD-OCT ein Makulaödem in der inneren Retina zwischen der Henle-Faserschicht und äußeren plexiformen Schicht aufgefallen, welches in der RetCam-Untersuchung nicht nachweisbar war. Dargestellt ist die Oberfläche der inneren nukleären Schicht

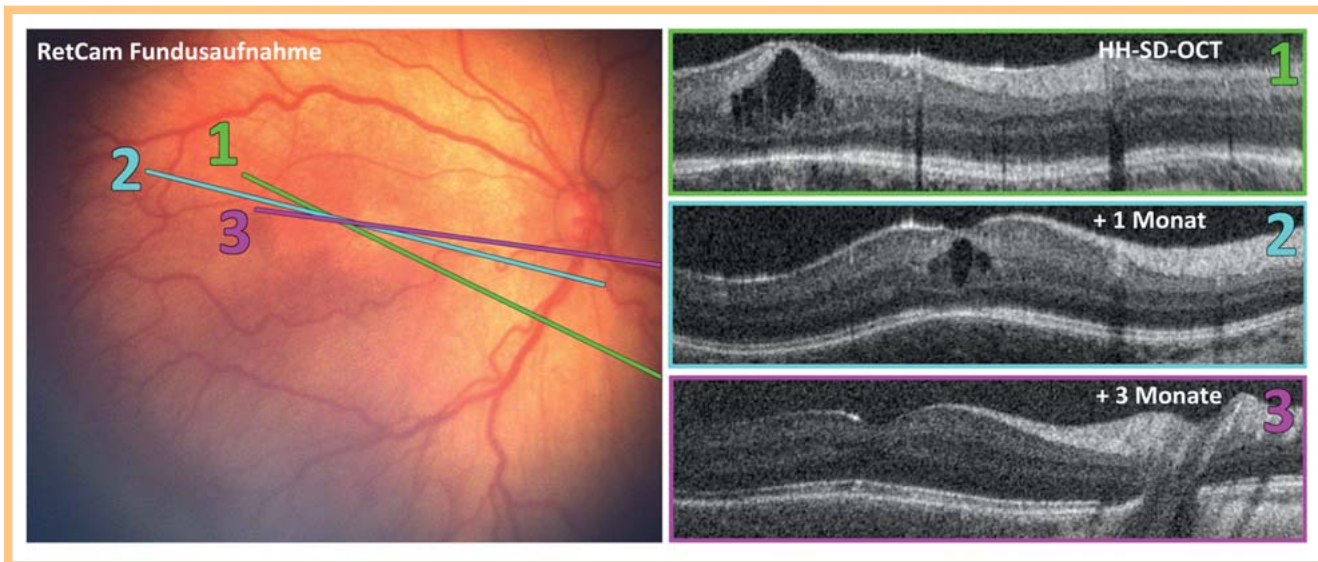
(INL). **c** 11 Monate altes Mädchen mit okulärem Albinismus und grobschlägigem Nystagmus mit niedriger Frequenz und pigmentarmem Fundus. Die foveolare Grube und die typische foveolare OCT-Schichtung konnten im HH-SD-OCT nicht nachgewiesen werden. Stattdessen war im gesamten zentralen Netzhautpol eine Netzhautschichtung nachweisbar, wie sie für die Netzhautperipherie typisch ist (Makulahypoplasie). **d** 3-jähriges Mädchen mit Z. n. Teilresektion eines pilozytischen Astrozytoms (WHO I) im chiasmalen Bereich. Durch Konfrontationsperimetrie und sakkadische Vektorperimetrie konnte eine temporale Hemianopsie des rechten Auges gezeigt werden. Durch Untersuchungen mit dem HH-SD-OCT konnte eine deutliche Verdünnung der Ganglienzellschicht (GCL) der Retina nasal der Foveola dargestellt werden, welche die funktionellen Befunde eindeutig stützten.

der Weitwinkeluntersuchung mit der Kontaktfunduskamera bei i. d. R. sedierten Kindern durchgeführt.  
 Fallbeispiele in **Abb. 2** bei 4 Kindern verdeutlichen die Vor- und Nachteile der angewendeten Technik. Beispiel 1 zeigt ein gesundes 2-jähriges Mädchen (**Abb. 2a**). Das gute Fixationsverhalten ermöglichte eine genaue Zentrierung (Fovea im Zentrum, Papille am Rand, oberer und unterer Gefäßbogen sichtbar) des aufzunehmenden Bereichs. Hierdurch waren die automatische OCT-Schichtsegmentierung aller 100 B-Scans mit DiOCTA und die anschließende 3-dimensionale Oberflächenrekonstruktion problemlos möglich, auf der die foveale Einsenkung deutlich zu erkennen ist (**Abb. 2a**).  
 Beispiel 2 zeigt einen 20 Wochen alten frühgeborenen Jungen (Gestationsalter 26 Wochen, postmenstruelles Alter 46 Wochen;

**Abb. 2b**). Die exakte Zentrierung gelang in diesem Fall nur bedingt – oberer und unterer Gefäßbogen konnten differenziert werden, Fovea und Papille lagen jedoch nicht exakt mittig. Die 3-dimensionale Rekonstruktion aller 100 B-Scans der DiOCTA-Schichtsegmentierungsdaten zeigte deutlich das vorhandene Foveaödem, was vor allem in der inneren nukleären Schicht lag (**Abb. 2b**).  
 Beispiel 3 zeigt ein 11 Monate altes Mädchen mit okulärem Albinismus (**Abb. 2c**). Trotz des vorhandenen grobschlägigen Nystagmus konnte während einer Schlaf- und Ruhephase des Kindes eine ausreichend zentrierte Untersuchung aufgenommen werden, sodass eine Schichtsegmentierung und Rekonstruktion aller 100 B-Scans erfolgreich vorgenommen werden konnte. Insbeson-

Heruntergeladen von: Universität Giessen. Urheberrechtlich geschützt.





**Abb. 3** Frühgeborener der 26.+1. Schwangerschaftswoche (SSW) mit 920 g Geburtsgewicht (GGW) mit residualer ROP nach ROP Stadium III+ (vergleiche [Abb. 2b](#)). In der 20. Lebenswoche war bei der Untersuchung mit dem HH-SD-OCT ein Makulaödem in der inneren Retina zwischen der Henle-Faserschicht und der äußeren plexiformen Schicht aufgefallen. Im Verlauf konnte das Zurückweichen des Ödems nach bereits 1 Monat dargestellt werden.

Nach weiteren 2 Monaten war das Makulaödem nicht mehr darstellbar. Auffällig waren jedoch weiterhin die zusätzlichen Schichten innerer Netzhaut, welche die foveolare äußere nukleäre Schicht überlagern. Beachte die unterschiedliche Positionierung und Drehung der dargestellten B-Scans (1, 2 und 3).

dere die 3-dimensionale Rekonstruktion zeigte deutlich das Fehlen einer fovealen Einsenkung auf ([Abb. 2c](#)).

Im Beispiel 4 sind die Befunde bei einem 3 Jahre alten Mädchen mit einem Sehbahntumor dargestellt ([Abb. 2d](#)). Aufgrund eines unruhigen Blickes und steten Fixationswechsels während der Untersuchung gelang nur in einem kleinen Ausschnitt der Aufnahme eine nachvollziehbare B-Scan-Abfolge (vergleiche Fundusübersicht [Abb. 2d](#)). Eine Segmentierung und anschließende Rekonstruktion gelang hier nur für die zentralen 23 B-Scans. Um die Fovea ist jedoch eine deutliche Minderung der nasalen gegenüber der temporalen Ganglienzellschicht (GCL) zu erkennen, was zu der klinisch erfassten temporalen Hemianopsie des Auges der Patientin passte.

Verlaufsuntersuchungen sind mithilfe des handgehaltenen OCT-Geräts nur bedingt möglich. Aufgrund des fehlenden Eyetrackers ist die exakte Repositionierung (Zentrierung und Ausrichtung) der Scans nicht möglich. Der Größenvergleich von z. B. Foveaödemem ([Abb. 3](#), Scan 1, 2 und 3) am Beispiel des frühgeborenen Jungen (Beispiel 2 in [Abb. 2b](#)) ist nur mittels der zusätzlichen von uns entwickelten Analysesoftware DiOCTA realisierbar, denn ein direkter Vergleich der B-Einzel-Scans und somit die exakte Vermessung der Ödemgröße wäre durch die Betrachtung der Einzelbilder am Gerät nicht korrekt.

## Diskussion

SD-OCT ist eine wichtige Untersuchungsmethode zur Diagnose und Charakterisierung morphologischer Netzhautveränderungen bei Kindern. Bis zum heutigen Zeitpunkt konnten verschiedene Studien die Anwendbarkeit bei TT-SD-OCT nur bei mindestens 4 Jahre alten Kindern belegt werden [12–14].

Alle von uns untersuchten Kinder durchliefen das Verfahren ohne unerwünschte Nebeneffekte oder Negativereignisse. Das von uns verwendete SD-OCT-System folgt den ANSI-Standard-Kriterien

für okulare Belichtungszeit und erlaubt eine dauerhafte Belichtungszeit von bis zu 8 Stunden [8, 15, 16].

In der vorliegenden Datenauswertung konnten wir Kinder ab einem Alter von 7 Wochen zuverlässig mit dem HH-SD-OCT untersuchen. Die Bilderfassung mit dem HH-SD-OCT konnte in den meisten Fällen erfolgreich und schnell durchgeführt werden. Entsprechend anderen Veröffentlichungen wird eine Zeit zwischen 2 und 5 Minuten bei kooperativen Kindern und bis zu 30 Minuten bei weniger kooperativen Kindern benötigt [17]. Aufnahmen sind bei wachen Kindern zwischen dem 1. und 2. Lebensjahr am schwierigsten zu tätigen, am einfachsten sind Aufnahmen bei schlafenden oder sedierten Kindern. Die Notwendigkeit von Mydriasis zur Untersuchung wird unterschiedlich beurteilt. Gerth et al. (2009) erweiterten die Pupillen in 90% der Kinder, während Lee et al. (2013) keine Mydriasis für qualitativ hochwertige Aufnahmen benötigten [17, 18]. Da unsere Untersuchungen mit dem HH-SD-OCT konsequent nach der klinischen Routineuntersuchung angeordnet waren, sodass die Pupillen der meisten Kinder in Mydriasis waren, empfanden wir die Bildausrichtung bei diesen Kindern als einfacher und schneller.

Klassische Tischgeräte können eine sehr hohe Wiederholbarkeit und exakte Positionierung der jeweiligen B-Scans vorweisen. Die Entwicklung des aktiven Eyetrackers und die feste Kopfstütze erhöhten signifikant die Wiederholbarkeit der Messung zwischen den Untersuchungen innerhalb einer Untersuchungssitzung [19, 20]. Diese Vorteile sind nicht nutzbar bei Babys und Kleinkindern sowie bei Kindern mit zusätzlichen Komorbiditäten und führen zu einer deutlichen Einschränkung der Vergleichbarkeit von Einzelschicht-Scans zwischen 2 Untersuchungen [20]. Nur bei sedierten Kindern ist eine ähnlich gute Wiederholbarkeit der Untersuchungen zu erreichen wie bei erwachsenen Glaukompatienten an Tischgeräten [19–21]. Eine hohe Vergleichbarkeit kann jedoch durch den Einsatz zusätzlicher Analysemethoden, wie in unserem Falle der automatisierten Schichtsegmentierung mit anschließender 3-dimensionaler Bildrekonstruktion

des gesamten aufgenommenen Bereichs, erreicht werden. Voraussetzung hierfür ist jedoch eine ruhige Fixation des Patienten. Die Retina neugeborener bzw. frühgeborener Kinder befindet sich teilweise noch im Entwicklungsstadium. In verschiedenen histologischen Studien an humanen und Affenpräparaten wurde gezeigt, dass sich die fovealen Strukturen bis über das 5. Lebensjahr hinaus entwickeln können [22–25]. Es ist daher denkbar, dass sich das Absorptions- und Reflexionsverhalten einzelner Zellschichten von der Netzhaut erwachsener Patienten unterscheidet und die eindeutige Differenzierung zwischen OCT-Einzelschichten erschweren [17,26]. Lee et al. (2013) berichteten über Schwierigkeiten bei der Differenzierung der externen limitierenden Membran, der Trennung der äußeren Segmente vom retinalen Pigmentepithel, der Ganglienzellschicht von der inneren plexiformen Schicht sowie der Differenzierung der ellipsoiden Zone in der äußeren nukleären Schicht bei Kindern jünger als 2 Jahre [17]. Dies deckt sich mit unseren Beobachtungen (vergleiche hierzu die OCT-Beispiele aus **Abb. 2**) und sollte in intensiveren Langzeituntersuchungen bei termingeborenen augengesunden Kleinkindern weiter untersucht werden.

Bei Kindern kann der Zugang zum Auge durch mangelnde Konzentrationsfähigkeit und aktive Bewegungen eingeschränkt sein. Für erfolgreiche und qualitativ zufriedenstellende Aufnahmen werden erfahrene und einfühlsame Anwender benötigt. Die teilweise manuell durchzuführende korrekte Anpassung des Geräts an die optischen Verhältnisse des kindlichen Auges ist hier von entscheidender Bedeutung [8].

Lee et al. (2013) konnten zeigen, dass HH-SD-OCT zuverlässig foveale Hypoplasie bei Kindern mit Nystagmus diagnostizieren kann (positiver Vorhersagewert von 90,2%) [17]. In Verbindung mit klinischer Routinediagnostik und weiteren Symptomkomplexen, wie z.B. einer Hypopigmentierung des Fundus und Irisdurchleuchtbarkeit kann die foveale Hypoplasie die Diagnostik des Albinismus in frühen Stadien erleichtern. Im Vergleich zu Blitz-VEP-Untersuchungen (Sensitivität zwischen 67 und 83% [27–29]) bei Kindern unter dem 6. Lebensjahr ist das HH-SD-OCT schneller, leichter tolerierbar und weniger aufwendig.

Bei 15% der termingerecht neugeborenen Kindern konnte in den ersten Tagen nach Geburt subfoveale Flüssigkeit im HH-SD-OCT beobachtet werden, welche sich nach wenigen Monaten postnatal auflöste [30]. Dieses Phänomen unterscheidet sich von den Makulaödem, die in manchen Fällen auch als zystoide Strukturen bezeichnet werden, welche bei Frühgeborenen mit und ohne ROP beobachtet wurden [31]. Diese konnten in 39% [31] bzw. in 43% (in unserer Studie) aller frühgeborenen Kinder beobachtet werden und befinden sich meist in der inneren Retina. Die Mechanismen sind jedoch bei beiden Gruppen von Säuglingen unbekannt [30]. Bei Frühgeborenen wird ein Zusammenhang mit einer erhöhten Konzentration von Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) und damit ansteigender Gefäßpermeabilität vermutet [31–33]. Bei termingeborenen Kindern könnte es einen Zusammenhang mit dem Geburtsvorgang geben [31,34]. Es bleibt jedoch unklar, welche Konsequenzen diese Befunde auf die Entwicklung des Visus und der foveolaren Netzhautempfindlichkeit haben. In einer kürzlich veröffentlichten Studie an ehemaligen Frühgeborenen im Grundschulalter konnte eine veränderte makuläre Morphologie und damit zusammenhängende Einschränkungen der foveolaren Lichtunterschiedsempfindlichkeit (LUE) nachgewiesen werden [35]. Langzeitnachverfolgungsstudien in diesen speziellen Patientengruppen mit Bildaufnahmen am HH-SD-OCT könnten die Kausalität zwischen unterschiedlichen Ödemformen und der weiteren Entwicklung des Vi-

sus, der LUE, von Refraktionsanomalien oder Strabismus aufdecken.

Hereditäre Retino- und Makulopathien sind in der kindlichen Routineuntersuchung schwer zu entdecken. Das HH-SD-OCT bietet hier die zusätzliche Möglichkeit, den foveolaren Bereich zu dokumentieren und zu analysieren. Diese generell genetisch bedingten Erkrankungen sind charakterisiert durch progressive Degenerationen des Photorezeptor- und/oder des retinalen Pigmentepithels (RPE), welche in frühen Stadien nur in hochauflösenden OCT-Aufnahmen zu entdecken sind [36]. Insbesondere im Hinblick auf sich entwickelnde genetische Therapien ist es von großer Wichtigkeit, den frühestmöglichen Zeitpunkt für die Therapie festzulegen, um die Degeneration von Photorezeptoren oder RPE rechtzeitig aufzuhalten [37].

## Fazit



Die Patientenfälle aus unserer Ambulanz der pädiatrischen Ophthalmologie spiegeln die häufigsten Indikationen für den Einsatz des HH-SD-OCT wider. Frühgeborene, Kinder mit Nystagmus und Verdacht auf Albinismus sowie Kinder mit unklaren Visusstörungen und Verdacht auf hereditäre Netzhautdystrophien bildeten 70,2% des gesamten Kollektivs. Das handgehaltene SD-OCT stellt als eine sichere, nicht invasive Methode eine wertvolle Ergänzung zu bereits etablierten klinischen Routineuntersuchungen bei Kindern dar. Das fehlende Eyetracking ermöglicht eine höhere Aufnahme- und Analysegeschwindigkeit, welche jedoch mit einer eingeschränkten Möglichkeit zur exakten Verlaufskontrolle erkauft wird. Zusätzliche OCT-Schichtsegmentierungs- und Analyseprogramme können diesen Nachteil zu einem gewissen Grad ausgleichen. Weitere Erfahrung und größere Datenbanken zu speziellen Erkrankungen sind notwendig, um das Verständnis für die Netzhautentwicklung zu erhöhen und die Befunde somit besser einzuordnen in normale kindliche Entwicklung oder klinische/subklinische Pathologie. Der zusätzliche Informationsgewinn wird für zukünftige Therapieentscheidungen von großer Bedeutung sein.

## Interessenkonflikt



Nein.

## Literatur

- 1 Huang D, Swanson EA, Lin CP et al. Optical coherence tomography. *Science* 1991; 254: 1178–1181
- 2 Puliafito CA, Hee MR, Lin CP et al. Imaging of macular diseases with optical coherence tomography. *Ophthalmology* 1995; 102: 217–229
- 3 Mirza RG, Johnson MW, Jampol LM. Optical coherence tomography use in evaluation of the vitreoretinal interface: a review. *Surv Ophthalmol* 2007; 52: 397–421
- 4 Stopa M, Bower BA, Davies E et al. Correlation of pathologic features in Spectral Domain Optical Coherence Tomography with conventional retinal studies. *Retina* 2008; 28: 298–308
- 5 Vinekar A, Sivakumar M, Shetty R et al. A novel technique using spectral-domain optical coherence tomography (Spectralis, SD-OCT+HRA) to image supine non-anaesthetized infants: utility demonstrated in aggressive posterior retinopathy of prematurity. *Eye (Lond)* 2010; 24: 379–382
- 6 Shields CL, Mashayekhi A, Luo CK et al. Optical coherence tomography in children: analysis of 44 eyes with intraocular tumors and simulating conditions. *J Pediatr Ophthalmol Strabismus* 2004; 41: 338–344

- 7 Scott AW, Farsiu S, Enyedi LB *et al.* Imaging the infant retina with a hand-held spectral-domain optical coherence tomography device. *Am J Ophthalmol* 2009; 147: 364–373
- 8 Maldonado RS, Izatt JA, Sarin N *et al.* Optimizing hand-held spectral domain optical coherence tomography imaging for neonates, infants, and children. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010; 51: 2678–2685
- 9 Izatt JA, Buckland EL, Bower EA, Hart RH. Bioptigen, Inc. Systems for comprehensive fourier domain optical coherence tomography (FDOCT) and related methods. United States patent US8625104 B2. 2010 Okt 22
- 10 Ehnes A, Wenner Y, Friedburg C *et al.* Optical Coherence Tomography (OCT) Device Independent Intraretinal Layer Segmentation. *Transl Vis Sci Technol* 2014; 3: 1. eCollection
- 11 Mohammad S, Gottlob I, Kumar A *et al.* The functional significance of foveal abnormalities in albinism measured using spectral-domain optical coherence tomography. *Ophthalmology* 2011; 118: 1645–1652
- 12 Yang H, Yu T, Sun C *et al.* Spectral-domain optical coherence tomography in patients with congenital nystagmus. *Int J Ophthalmol* 2011; 4: 627–630
- 13 Cronin TH, Hertle RW, Ishikawa H *et al.* Spectral domain optical coherence tomography for detection of foveal morphology in patients with nystagmus. *J AAPOS* 2009; 13: 563–566
- 14 Holmström G, Eriksson U, Hellgren K *et al.* Optical coherence tomography is helpful in the diagnosis of foveal hypoplasia. *Acta Ophthalmol* 2010; 88: 439–442
- 15 DeLori FC, Webb RH, Sliney DH. Maximum permissible exposures for ocular safety (ANSI 2000), with emphasis on ophthalmic devices. *J Opt Soc Am A Opt Image Sci Vis* 2007; 24: 1250–1265
- 16 Sliney D, Aron-Rosa D, DeLori FC *et al.* Adjustment of guidelines for exposure of the eye to optical radiation from ocular instruments: statement from a task group of the International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection (ICNIRP). *Appl Opt* 2005; 44: 2162–2176
- 17 Lee H, Proudlock F, Gottlob I. Is handheld optical coherence tomography reliable in infants and young children with and without nystagmus? *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2013; 54: 8152–8159
- 18 Gerth C, Zawadzki RJ, Heon E *et al.* High-resolution retinal imaging in young children using a handheld scanner and Fourier-domain optical coherence tomography. *J AAPOS* 2009; 13: 72–74
- 19 Altemir I, Pueyo V, Elia N *et al.* Reproducibility of optical coherence tomography measurements in children. *Am J Ophthalmol* 2013; 155: 171–176
- 20 Avery RA, Cnaan A, Schuman JS *et al.* Reproducibility of circumpapillary retinal nerve fiber layer measurements using handheld optical coherence tomography in sedated children. *Am J Ophthalmol* 2014; 158: 780–787
- 21 Langenegger SJ, Funk J, Toteberg-Harms M. Reproducibility of retinal nerve fiber layer thickness measurements using the eye tracker and the retest function of Spectralis SD-OCT in glaucomatous and healthy control eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011; 52: 3338–3344
- 22 Dorn EM, Hendrickson L, Hendrickson AE. The appearance of rod opsin during monkey retinal development. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1995; 36: 2634–2651
- 23 Hendrickson A, Kupfer C. The histogenesis of the fovea in the macaque monkey. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1976; 15: 746–756
- 24 Hendrickson AE, Youdelis C. The morphological development of the human fovea. *Ophthalmology* 1984; 91: 603–612
- 25 Youdelis C, Hendrickson A. A qualitative and quantitative analysis of the human fovea during development. *Vision Res* 1986; 26: 847–855
- 26 Maldonado RS, O'Connell RV, Sarin N *et al.* Dynamics of human foveal development after premature birth. *Ophthalmology* 2011; 118: 2315–2325
- 27 Kriss A, Russel-Eggitt I, Harris CM *et al.* Aspects of albinism. *Ophthalmic Paediatr Genet* 1992; 13: 89–100
- 28 Bouzas EA, Caruso RC, Drews-Bankiewicz MA *et al.* Evoked potential analysis of visual pathways in human albinism. *Ophthalmology* 1994; 101: 309–314
- 29 Soong F, Levin AV, Westall CA. Comparison of techniques for detecting visually evoked potential asymmetry in albinism. *J AAPOS* 2000; 4: 302–310
- 30 Cabrera MT, Maldonado RS, Toth CA *et al.* Subfoveal fluid in healthy full term newborns observed by handheld spectral domain optical coherence tomography. *Am J Ophthalmol* 2012; 153: 167–175
- 31 Lee AC, Maldonado RS, Sarin N *et al.* Macular features from spectral domain optical coherence tomography as an adjunct to indirect ophthalmoscopy in retinopathy of prematurity. *Retina* 2011; 31: 1470–1482
- 32 Miciili JA, Surkont M, Smith AF. A systematic analysis of the off-label use of bevacizumab for severe retinopathy of prematurity. *Am J Ophthalmol* 2009; 148: 536–543
- 33 Chen J, Smith LE. Retinopathy of prematurity. *Angiogenesis* 2007; 10: 133–140
- 34 Hughes LA, May K, Talbot JF *et al.* Incidence, distribution, and duration of birth-related hemorrhages: a prospective study. *J AAPOS* 2006; 10: 102–106
- 35 Bowl W, Lorenz B, Stieger K *et al.* 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* 2015 [Epub ahead of print]
- 36 Megaw RD, Soares DC, Wright AF. RPGR: Its role in photoreceptor physiology, human disease, and future therapies. *Exp Eye Res* 2015; 138: 32–41
- 37 Beltran WA, Cideciyan AV, Lewin AS *et al.* Gene therapy rescues photoreceptor blindness in dogs and paves the way for treating human X-linked retinitis pigmentosa. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2012; 109: 2132–2137