

Aus dem
Department für Augenheilkunde Tübingen
Forschungsinstitut für Augenheilkunde

**Summationseffekte auf die Pupillenlichtreaktion für zapfen-
und stäbchenspezifische Reize**

**Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin**

**der Medizinischen Fakultät
der Eberhard Karls Universität
zu Tübingen**

vorgelegt von

Sonntag, Max Anton

2023

Dekan: Professor Dr. B. Pichler
1. Berichterstatter: Professorin Dr. B. Wilhelm
2. Berichterstatter: Professorin Dr. D. Besch
3. Berichterstatter: Privatdozentin Dr. C. Beisse

Tag der Disputation: 12.04.2023

Meiner Familie

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis.....	8
Tabellenverzeichnis.....	10
Abkürzungsverzeichnis	11
1 Einleitung.....	13
1.1 Die Pupille	14
1.1.1 Funktion und Anatomie	14
1.1.2 Parasympathische Innervation: Pupillenkonstriktion	15
1.1.2.1 Pupillenlichtreaktion	15
1.1.2.1.1 Retinaler Signaleingang.....	15
1.1.2.1.2 Anatomie der Pupillenbahn	16
1.1.2.2 Retrogenikulärer Einfluss.....	18
1.1.2.3 Pupillennahreaktion	19
1.1.3 Sympathische Innervation: Pupillenerweiterung.....	19
1.1.3.1 Supraspinale Steuerung	19
1.1.3.2 Sympathische Innervation ab dem Centrum ciliospinale.....	21
1.2 Die Retina.....	22
1.2.1 Funktion und Anatomie	22
1.2.1.1 Signalverarbeitung, Schichtung und wichtigste Zelltypen	22
1.2.1.2 Zapfen, Stäbchen, Dunkeladaptation und pupillomotorisches Signal.....	23
1.2.2 Rezeptive Felder für die visuelle Perzeption	24
1.3 Methodik der Pupillenperimetrie und -kampimetrie.....	25
1.3.1 Allgemeines.....	25
1.3.1.1 Prinzipien der Perimetrie und Kampimetrie.....	25
1.3.1.2 Perimetrie und Kampimetrie der Pupille.....	26
1.3.2 Geschichte von Pupillenperimetrie und -kampimetrie und gewonnene Erkenntnisse 1949 – 2021	27
1.3.2.1 20. Jahrhundert.....	27
1.3.2.2 21. Jahrhundert.....	28
1.4 Summationseffekte auf die Pupillenlichtreaktion: bisheriger Wissensstand	30

1.4.1	Beeinflussung der PLR (Amplitude) durch Stimulusintensität, CFD und Wellenlänge	30
1.4.2	Beeinflussung der Latenz der PLR durch Stimulusintensität, CFD und Stimuluspezifität	31
1.4.3	Pupillomotorische Sensitivität und Exzentrizitätseffekt.....	31
1.4.4	Räumliche und zeitliche Summationseffekte auf die pupillomotorische Schwelle	32
1.4.5	Rezeptive Felder für die Pupillomotorik.....	33
1.5	Fragestellung und Ziel dieser Arbeit	34
2	Material und Methoden	36
2.1	Ethik.....	36
2.2	Probanden	36
2.2.1	Einschlusskriterien	36
2.2.2	Ophthalmologische Voruntersuchung	36
2.2.3	Rekrutierung.....	37
2.2.4	Altersverteilung	37
2.3	Versuchsaufbau.....	38
2.3.1	Zeitraum der Messungen	38
2.3.2	Versuchsraum	38
2.3.3	Aufbau der Chromatischen Pupillenkampimetrie	39
2.3.4	Stimulusdesign und -Spezifität.....	40
2.3.5	Stimuluseigenschaften	42
2.3.5.1	Zapfenspezifische Stimuli: photopische CPC (photCPC).....	42
2.3.5.2	Stäbchenspezifische Stimuli: skotopische CPC (scotCPC) ..	42
2.3.6	Stimuluseigenschaften.....	43
2.3.7	Stimulusprotokoll/Versuchsablauf	45
2.4	Statistische Datenanalyse	46
2.4.1	Analyse der Pupillogramme und Artefaktbereinigung	46
2.4.2	Analysierte Parameter.....	46
2.4.3	In der Auswertung berücksichtigte Daten.....	48
2.4.4	Statistische Tests	48
2.4.4.1	relMCA.....	49
2.4.4.2	Latenz.....	49

2.4.4.3	PAW.....	50
3	Ergebnisse.....	51
3.1	Relative Amplituden der Pupillenlichtreaktion	51
3.1.1	relMCAs in photCPC.....	51
3.1.2	relMCAs in scotCPC	53
3.1.3	Vergleich der relMCAs unter Zapfen- bzw. Stäbchenbedingungen	56
3.1.4	Beziehung von relMCA und Fläche	57
3.1.5	Beziehung von relMCA und CFD	58
3.1.6	Summation der relMCAs	60
3.2	Latenz der Pupillenlichtreaktion.....	62
3.2.1	Latenzen in photCPC	62
3.2.2	Latenzen in scotCPC.....	64
3.2.3	Vergleich der Latenzen unter Zapfen- bzw. Stäbchenbedingungen	66
3.2.4	Beziehung von Latenz und Fläche	67
3.2.5	Beziehung von Latenz und CFD	68
3.3	Pupillenausgangswerten	69
3.3.1	PAWs in photCPC.....	70
3.3.2	PAWs in scotCPC	71
3.3.3	Vergleich der PAWs unter Zapfen- bzw. Stäbchenbedingungen	73
3.3.4	Beziehung zwischen PAW und relMCA.....	73
3.4	Zusammenfassung der Ergebnisse	75
4	Diskussion	77
4.1	Methodik.....	77
4.1.1	Stimuluspezifität	77
4.1.2	Streulicht	78
4.1.3	PAW.....	79
4.1.3.1	Effekte des Lebensalters	79
4.1.3.2	Inter- und intraindividuelle Variabilität der PAW	80
4.1.3.3	Betrachtungen zur Beziehung zwischen PAW und relMCA ..	81
4.1.4	Weitere Einflussfaktoren auf die Pupillogramme	82

4.1.4.1	Variabilität der Pupillenantworten.....	82
4.1.4.2	Blinzelartefakte	83
4.1.4.3	Fixation	83
4.1.4.4	Refraktion	83
4.2	ReIMCA	84
4.2.1	Abhängigkeit der ReIMCA von Stimulusfläche und CFD	84
4.2.2	Dominanz des Zentrums für zapfenspezifische Stimulation	87
4.2.3	Dominanz der Peripherie für stäbchenspezifische Stimulation....	89
4.2.4	Bezug zu Exzentrizitätseffekt in anderen Studien	90
4.2.4.1	Exzentrizitätseffekt bei überschwelliger Stimulation.....	91
4.2.4.2	Exzentrizitätseffekt bei Schwellenbestimmung	92
4.2.5	Nicht-lineare räumliche Summation der Pupillomotorik	93
4.3	Latenz.....	96
4.3.1	Bezug zu anderen Studien	96
4.3.1.1	Latenzunterschied zwischen Stäbchen und Zapfen.....	96
4.3.1.2	Absolute Latenzwerte	96
4.3.2	Grund für Latenzunterschiede zwischen Zapfen und Stäbchen ..	97
4.3.3	Abhängigkeit der Latenz von Stimulusfläche und CFD	98
4.4	Limitationen	100
4.5	Schlussfolgerung: Klinische Relevanz des Ergebnisses im Hinblick auf die Anwendung der Pupillographie und Ausblick	101
5	Zusammenfassung	102
6	Literaturverzeichnis.....	105
7	Erklärung zum Eigenanteil.....	119
7.1	Allgemeine Erklärung zum Eigenanteil	119
7.2	Erklärung zum Eigenanteil an der Veröffentlichung „Effect of central and peripheral cone- and rod-specific stimulation on the pupillary light reflex“	120
8	Veröffentlichungen.....	122
9	Danksagung	123

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Schematische Anatomie des infragenikulären Verlaufs der Pupillenbahn.....	16
Abbildung 2: Schematischer Verlauf der Steuerung von Pupillenlichtreaktion und -dilatation.....	21
Abbildung 3: Altersverteilung der Probanden.	38
Abbildung 4: Versuchsaufbau.....	40
Abbildung 5: Energie und Spektrum der verwendeten Stimuli.....	43
Abbildung 6: Morphologie der verwendeten Stimuli.	44
Abbildung 7: Chronologische Abfolge des Versuchs.....	45
Abbildung 8: Beispieldiagramm mit den ermittelten Parametern.	47
Abbildung 9: Verlauf der mittleren relMCAs der 29 Probanden auf zapfenspezifische Kreis- und Ringstimuli (photCPC).	52
Abbildung 10: Aus 10 Wiederholungen gemittelte Pupillogramme des Probanden SCK01 auf zapfenspezifische Stimuli (photCPC).	53
Abbildung 11: Verlauf der mittleren relMCAs der 29 Probanden auf stäbchenspezifische Kreis- und Ringstimuli (scotCPC).....	55
Abbildung 12: Aus 10 Wiederholungen gemittelte Pupillogramme des Probanden SCK01 auf stäbchenspezifische Stimuli (scotCPC).....	55
Abbildung 13: Mittlere (aus 10 Antworten pro Probanden) relMCAs auf die verschiedenen Stimuli in der Übersicht.	56
Abbildung 14: Mittlere relMCAs auf zapfen- und stäbchenspezifische Kreis- und Ringstimuli, aufgetragen gegen den Logarithmus der Stimulusfläche.....	57
Abbildung 15: Mittlere relMCAs auf zapfen- und stäbchenspezifische Kreis- und Ringstimuli, aufgetragen gegen die CFD der Stimuli.....	59
Abbildung 16: Mittlere (aus 10 Antworten pro Probanden) relMCAs auf den c40°-Stimulus sowie die summierten Stimuluskombinationen, dargestellt durch die Box-Whisker Plots.	61

Abbildung 17: Verlauf der mittleren Latenzen der 29 Probanden auf Kreis- und Ringstimuli in der photCPC.	64
Abbildung 18: Verlauf der mittleren Latenzen der 29 Probanden auf Kreis- und Ringstimuli in der scotCPC.....	66
Abbildung 19: Mittlere (aus 10 Antworten pro Probanden) Latenzen auf die verschiedenen Stimuli in der Übersicht.	67
Abbildung 20: Mittlere Latenzen auf zapfen- und stäbchenspezifische Kreis- und Ringstimuli, aufgetragen gegen den Logarithmus der Stimulusfläche.....	68
Abbildung 21: Mittlere Latenzen auf zapfen- und stäbchenspezifische Kreis- und Ringstimuli, aufgetragen gegen die CFD der Stimuli.....	69
Abbildung 22: Häufigkeitsverteilung der PAW in der photCPC.....	71
Abbildung 23: Häufigkeitsverteilung der PAW in der scotCPC.....	72
Abbildung 24: Mittlere (aus 10 Antworten pro Probanden) PAWs bei Präsentation der verschiedenen Stimuli in der Übersicht.	73
Abbildung 25: Die mittlere relMCA, aufgetragen gegen die mittlere PAW für jede Stimulus-Kondition und alle 29 Probanden.	74

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Lage- und Streuungsmaße der Altersverteilung der Probanden in Jahren.	37
Tabelle 2: Fläche (deg^2) und CFD ($\text{cd}/\text{m}^2 \bullet \text{deg}^2$) der verwendeten Stimuli.	44
Tabelle 3: Lage- und Streuungsmaße der relMCAs auf zapfenspezifische Stimuli (photCPC).	51
Tabelle 4: Lage- und Streuungsmaße der relMCAs auf stäbchenspezifische Stimuli (scotCPC).	53
Tabelle 5: Lage- und Streuungsmaße der durch Summation erhaltenen relMCAs in photCPC (rot) und scotCPC (blau) im Vergleich mit der relMCA auf einen 40° -Kreisstimulus.	60
Tabelle 6: Ergebnisse der Post-hoc-T-Tests der Summationen, photCPC.	62
Tabelle 7: Ergebnisse der Post-hoc-T-Tests der Summationen, scotCPC.	62
Tabelle 8: Lage- und Streuungsmaße der Latenzen (ms) auf zapfenspezifische Stimuli (photCPC).	63
Tabelle 9: Lage- und Streuungsmaße der Latenzen (ms) auf stäbchenspezifische Stimuli (scotCPC).	65
Tabelle 10: Lage- und Streuungsmaße der PAWs (mm) bei Präsentation zapfenspezifischer Stimuli (photCPC).	70
Tabelle 11: Lage- und Streuungsmaße der PAWs (mm) bei Präsentation stäbchenspezifischer Stimuli (scotCPC).	71
Tabelle 12: P-Werte der Tests auf Korrelation zwischen relMCA und PAW sowie Determinationskoeffizienten R^2 für jede einzelne Stimulus-Kondition sowie insgesamt.	75

Abkürzungsverzeichnis

AMD	Altersbedingte Makuladegeneration
ANOVA	analysis of variance (Varianzanalyse)
bzw.	beziehungsweise
ca.	circa
cd	Candela
CFD	Corneal Flux Density
CPC	Chromatische Pupillenkampimetrie
deg, °	Grad
d. h.	das heißt
dpt	Dioptrien
ERG	Elektroretinogramm
EWpg	präganglionärer Edinger-Westphal-Kern
RGC	retinale Ganglienzelle
ipRGC	intrinsisch photosensitive retinale Ganglienzelle
ISCEV	International Society for Clinical Electrophysiology of Vision
LED	light emitting diode (Leuchtdiode)
M.	Musculus
m	Meter
mm	Millimeter
min	Minute
ms	Millisekunde
µm	Mikrometer
N.	Nervus
Nn.	Nervi
n	Anzahl
nm	Nanometer
OCT	optische Kohärenztomographie

OLED	organic light emitting diode (organische Leuchtdiode)
PAW	Pupillenausgangsweite
photCPC	photopische Chromatische Pupillenkampimetrie
PLR	Pupillenlichtreaktion
PON	praetectal olivary nucleus (Nucleus olivaris praetectalis)
relMCA	relative maximale Pupillenkonstriktion
SCK X	Proband Nummer X
s	Sekunde
scotCPC	skotopische Chromatische Pupillenkampimetrie
SD, Stabw.	Standardabweichung
u. a.	unter anderem
V.	Vena
vgl.	vergleiche
vs.	versus
z. B.	zum Beispiel
z. T.	zum Teil

1 Einleitung

Die Pupille ist die die Öffnung der Iris. Durch sie fällt Licht auf die Netzhaut. Sie fungiert gewissermaßen als Blende und ermöglicht die Regulation des einfallenden Lichts sowie die Tiefenschärfe bei Nahakkommodation (Wilhelm H 2011, Mathôt 2018). Der Augenarzt schaut bei der Funduskopie mit einer Lupe durch die Pupille, um die Netzhaut und den Sehnerv beurteilen zu können.

Aus dem Venedig der Renaissance existieren Berichte, wonach Atropin, das Gift des Nachtschattengewächses *Atropa belladonna*, auch als schwarze Tollkirsche bekannt, bei Frauen ein beliebtes Mittel zur Erweiterung der Pupille war (Lee 2007). Daher der Namenszusatz „belladonna“ (italienisch für „schöne Frau“) dieses Gewächses.

Doch die Pupille ist weitaus mehr als eine schlichte Öffnung oder gar ein ästhetisches Merkmal. Da ihre Weite sowie ihre Reaktion weitestgehend unwillkürlich geregelt werden und in diesen Prozess mehrere Komponenten des zentralen und peripheren Nervensystems involviert sind (Wilhelm H 2011, McDougal und Gamlin 2015, Szabadi 2018), bildet die Pupille eine spannende Schnittstelle zwischen Ophthalmologie und Neurologie. Sie wird herangezogen zur Beurteilung unterschiedlicher Sehstörungen, aber auch zur Diagnostik bei neurologischen Symptomen (Wilhelm H 2011, Wermund et al. 2019). Darüber hinaus wurde die Pupille als potentieller Marker bei zahlreichen neurologischen Erkrankungen erforscht (Wilhelm H 2011). Unter psychologischer Betrachtung ist die Pupille ebenfalls interessant. So weitet sie sich bei emotionaler Erregung, beispielsweise durch Angst, Ärger, Freude, Überraschung oder das Absolvieren einer Wette, ebenso bei mentaler oder körperlicher Anstrengung, erhöhter Wachheit und sensorischen Reizen, wie lauten Geräuschen oder Schmerzen, während sie sich bei Müdigkeit verengt (Alexandridis 1982, Wilhelm H 2011, Mathôt 2018, Szabadi 2018). Auch zur Evaluierung von Schläfrigkeit mittels des an der Universitäts-Augenklinik Tübingen entwickelten Pupillographischen Schläfrigkeitstests (PST) kann die Pupille herangezogen werden (Wilhelm B et al. 1998, Wilhelm H et al. 1998, Peters et al. 2014, Urschitz et al. 2014).

Da Sehbahn und Pupillenbahn über einen gewissen Bereich gleich verlaufen (Alexandridis 1982, Wilhelm H 2011), eignet sich die Pupillenlichtreaktion (PLR)

daneben als diagnostisches Mittel zur Evaluierung der Netzhautfunktion. Hierfür wurden in der Vergangenheit von mehreren Forschungsgruppen verschiedene technische Verfahren entwickelt, die vielfältig eingesetzt und deren Einsatzmöglichkeiten momentan weiter erforscht werden (Kelbsch et al. 2019b, Rukmini et al. 2019). Dennoch ist über Summationseffekte visueller Reize auf die PLR und darüber, welchen Anteil die Signale zentral und peripher lokalisierter Zapfen und Stäbchen an der Pupillenlichtreaktion haben, wenig bekannt. Die vorliegende Arbeit soll diesen Aspekt näher untersuchen, um die funktionellen Grundlagen besser kennenzulernen und pupillographische Funktionstests der Netzhaut zukünftig besser interpretieren zu können.

1.1 Die Pupille

1.1.1 Funktion und Anatomie

Die Pupille ist die zentrale Öffnung der Iris. Sie kann Durchmesser zwischen 2 und selten 10 mm annehmen und damit die einfallende Beleuchtung schnell um ca. das 20-fache anpassen, womit sie die langsamer ablaufende Adaptation der Photorezeptoren unterstützt (Wilhelm H 2011). Während eine weite Pupille bei Dunkelheit maximale Netzhautsensitivität gewährleistet, führt eine engere Pupille bei Helligkeit oder im Rahmen der Nahakkommodationstrias aus Miosis, Akkommodation und Konvergenz zur Verbesserung der Tiefenschärfe sowie zur Reduktion von sphärischer und chromatischer Aberration (Mathôt 2018). Konstriktion und Dilatation der Pupille werden mittels glatter Muskulatur gesteuert. Sphinkter und Dilatator sind beide mit parasymphatischen und sympathischen Fasern innerviert, jedoch dominiert beim Sphinkter die parasymphatische und beim Dilatator die sympathische Innervation (Alexandridis 1982), weshalb im Folgenden vereinfacht von sympathisch innerviertem Dilatator und parasymphatisch innervierten Sphinkter gesprochen wird. Der sympathisch innervierte M. dilatator pupillae besteht aus ca. 2 - 10 μm dünnem Myoepithel, das auf der gesamten vorderen Schicht des farbgebenden Irisepithels der Irishinterfläche lokalisiert ist (Alexandridis 1982, Wilhelm H 2011, Lüllmann-Rauch und Asan 2015). Auf ihm werden hauptsächlich α 1-Adrenozeptoren exprimiert (McDougal und Gamlin 2015). In der Irismitte, nahe des Pupillenrands,

ist der Sphinkter arkadenförmig mit dem parasympathisch innervierten, ringförmigen, 40 - 170 µm dicken und 0,5 - 1 mm breiten M. sphincter pupillae verbunden (Alexandridis 1982, Wilhelm H 2011, Lüllmann-Rauch und Asan 2015). Auf diesem werden hauptsächlich muscarinische Acetylcholinrezeptoren des Typs M₃ exprimiert (McDougal und Gamlin 2015). Da der M. sphincter pupillae deutlich kräftiger ausfällt als der M. dilatator pupillae, ist anzunehmen, dass für die Pupillendilatation die Hemmung der für die Konstriktion verantwortlichen Zellen eine dominierende Rolle spielt (siehe Kapitel 1.1.3).

1.1.2 Parasympathische Innervation: Pupillenkonstriktion

1.1.2.1 Pupillenlichtreaktion

1.1.2.1.1 Retinaler Signaleingang

Das afferente Signal der Pupillenlichtreaktion wird von retinalen Photorezeptoren, den Stäbchen und Zapfen, sowie von intrinsisch photosensitiven retinalen Ganglienzellen (ipRGCs) vermittelt (McDougal und Gamlin 2010, Wilhelm BJ 2010, Wilhelm H 2011). Erstere leiten ihr Signal über Bipolarzellen an retinale Ganglienzellen weiter. Letztere können neben der Verarbeitung von Stäbchen- und Zapfen-Signalen auch selbst (intrinsisch) aktiv werden und sind neben ihrer Wirkung auf die Pupillomotorik für die Steuerung des circadianen Rhythmus bekannt (Lucas et al. 2001, Hattar et al. 2002, Dacey et al. 2005, Gamlin et al. 2007, Kawasaki und Kardon 2007, Bailes und Lucas 2010, Wilhelm BJ 2010). Nach McDougal und Gamlin (2015) ist bisher ungeklärt, ob bei Primaten sämtliche afferenten Signale für die PLR von ipRGCs vermittelt werden. Es ist jedoch anzunehmen, dass diese zumindest den Großteil der PLR vermitteln. Das ist auch der Grund, weshalb bei eigentlich blinden Retinitis Pigmentosa Patienten unter ipRGC-spezifischen Bedingungen häufig noch eine PLR beobachtet werden kann (Wilhelm H 2008, Kelbsch C et al. 2017, Rukmini et al. 2019). IpRGCs machen einen Anteil von rund 1 % aller RGCs aus (Eysel 2019a). Verschiedene anatomische Studien haben ergeben, dass ca. 1 - 6 % aller RGCs zum Praetectum, der Zwischenschaltstelle für die PLR, projizieren (McDougal und Gamlin 2015). Der anatomische Typ der in diesen Arbeiten gefundenen RGCs entspricht dem gamma- oder W-Typ (Wilhelm H 2011,

McDougal und Gamlin 2015), also phylogenetisch alten RGCs mit kleinen Zellkörpern, großen dendritischen Verzweigungen und rezeptiven Feldern sowie langsamem Reaktionsverhalten (Loewenfeld 1993a). Es gelang jedoch nicht immer, ausschließlich Zellen aus dem Nucleus olivaris praetectalis (PON) darzustellen, weshalb die Zahl der dorthin projizierenden RGCs wahrscheinlich eher kleiner als 6 % ausfällt (McDougal und Gamlin 2015).

1.1.2.1.2 Anatomie der Pupillenbahn

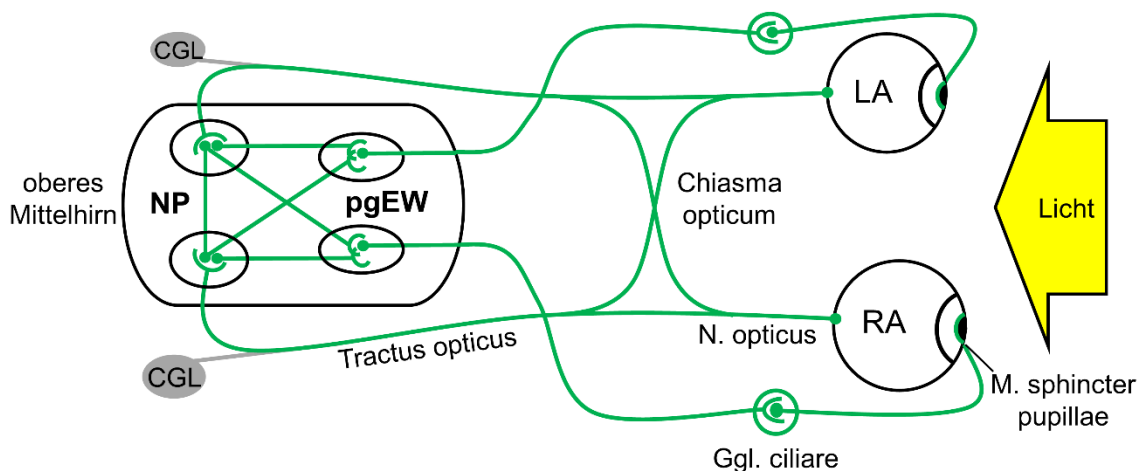


Abbildung 1: Schematische Anatomie des infragenikulären Verlaufs der Pupillenbahn.

(nach Bähr und Frotscher 2014) CGL = Corpus geniculatum laterale; LA = linkes Auge; NP = Nucleus preteactales; pgEW = präganglionärer Eddinger-Westphal-Kern; RA = rechtes Auge

Abbildung 1 zeigt die schematische Anatomie des infragenikulären Verlaufs der Pupillenbahn. Bis zum Corpus geniculatum laterale (CGL) teilen sich pupillomotorische Fasern den anatomischen Verlaufsweg mit Fasern für die visuelle Perzeption. Rund 1 Million RGCs bilden den N. opticus, der durch den Canalis opticus der Orbita bis zum in der mittleren Schädelgrube lokalisierten Chiasma opticum zieht. Im Bereich des Chiasma opticum kreuzen die Fasern der nasalen Netzhaut auf die Gegenseite. Nach Passage des Chiasmas laufen sie zusammen mit den ungekreuzten Fasern der temporalen Netzhaut des Auges der Gegenseite im beidseits anlegten Tractus opticus weiter. Der linke Tractus opticus enthält somit die gesamte retinale Afferenz der linken Netzhauthälften (temporale Hälfte der linken Netzhaut und nasale Hälfte der rechten Netzhaut)

und umgekehrt. Es wird angenommen, dass die pupillomotorischen Fasern im Bereich des CGL von den visuellen Fasern abzweigen. Sie verlaufen dann entlang des Brachium colliculi superioris zur Area praetectalis, die rostral der Colliculi superiores im oberen Mittelhirn liegt. (Alexandridis 1982, Wilhelm H 2011, Bähr und Frotscher 2014, Wermund et al. 2019) Der exakte Verlauf der Pupillenbahn ist jedoch immer noch ungeklärt und man geht mittlerweile davon aus, dass auch retrogenikuläre Einflüsse in die PLR mit eingehen (siehe hierzu Kapitel 1.1.2.2).

In der Area praetectalis befinden sich mehrere Kerne (Nuclei praetectales), unter anderem der beidseits angelegte Nucleus olivaris preaectalis (PON), der als maßgeblich für die Steuerung der PLR betrachtet wird (Wilhelm H 2011, McDougal und Gamlin 2015). Das Signal wird von den Nuclei praetectales beider Seiten, die auch untereinander verbunden sind, jeweils an beide Edinger-Westphal-Kerne weitergeleitet (Wilhelm H 2011, McDougal und Gamlin 2015, Wermund et al. 2019). Dies ist der Grund, warum beim Menschen die direkte PLR weitgehend der konsensuellen entspricht (Kelbsch 2012). Um genau zu sein, erfolgt die Signalweiterleitung an eine Gruppe von präganglionären Zellen dorsal des Edinger-Westphal-Kerns, anatomisch präganglionärer Edinger-Westphal-Kern (EWpg) genannt (Zeeh und Horn 2012). Der paarig angelegte EWpg bildet den Motor der Efferenz. Von ihm aus wird das Signal zur Pupillenkonstriktion über die Fasern des N. oculomotorius der entsprechenden Seite, der innerhalb der Fossa interpeduncularis aus dem Hirnstamm austritt, durch Sinus cavernosus und Fissura orbitalis superior hindurch in die Orbita zum ca. 1,5 - 3 mm großen Ganglion ciliare laterale des N. opticus geleitet. Hier erfolgt eine nochmalige synaptische Umschaltung, bevor die postganglionären Fasern des Ganglion ciliare über die Nn. ciliares breves den M. sphincter pupillae erreichen und die Pupille sich verengt. (Wilhelm H 2011, Bähr und Frotscher 2014, McDougal und Gamlin 2015) Latenz und Größe der PLR werden maßgeblich unter anderem von Lichtintensität, Stimulusfläche, Stimulusdauer und Stimuluswellenlänge beeinflusst und die Pupille unterliegt einer ständigen Regulation und Anpassung an diese Faktoren (Loewenfeld 1993a, Wilhelm H 2011, Kelbsch et al. 2019b), weshalb die Bezeichnung Pupillenlichtreflex formal

nicht ganz korrekt ist. Dies wird auch an der, verglichen mit klassischen Reflexen, eher langen minimalen Latenz der Reaktion von 200 ms deutlich (Wilhelm H 2006, Wilhelm H 2011).

Afferente Pupillenstörungen zeigen sich klinisch durch einen relativen afferenten Pupillendefekt (RAPD) am betroffenen Auge, efferente Störungen durch eine klinisch signifikante Anisokorie (Alexandridis 1982, Wilhelm H 2011, Wermund et al. 2019).

1.1.2.2 Retrogenikulärer Einfluss

Ein wie im vorherigen Kapitel beschriebener rein infragenikulärer Verlauf der Pupillenbahn wurde bereits von Wernicke (1883) angenommen, war in der Wissenschaft lange State of the Art und reicht im klinischen Alltag zur Beurteilung von Pupillenstörungen aus (Wilhelm H 1996, Wilhelm H 2011, Wermund et al. 2019). Allerdings existieren viele Studien, die mittels der Technik der Pupillenperi- oder kampimetrie auch bei Patienten mit retrogenikulär-bedingten Gesichtsfeldausfällen verminderte Pupillenreaktionen auf in diesem Bereich des Gesichtsfelds präsentierte lokale Lichtreize demonstrieren konnten (für eine genauere Besprechung dieser Arbeiten und der verwendeten Techniken siehe Kapitel 1.3.2). Dies spricht gegen einen rein infragenikulären Verlauf der Pupillenbahn und es herrscht mittlerweile wissenschaftlicher Konsens, dass auch retrogenikuläre Einflüsse auf die PLR bestehen (Wilhelm H 1996, Wilhelm H 2011). Genauer Verlauf und Inhalt der entsprechenden Bahnen sind allerdings noch unklar. So wird zum Beispiel ein Verlauf analog der Signale für die Pupillennahreaktion über den occipitalen Cortex diskutiert (Wilhelm H 2011). Barbur (2004) stellte unter anderem die Hypothese auf, die Einstellung der Pupillenweite unter konstanten Lichtbedingungen werde subcortical gesteuert, wohingegen die transiente PLR auf rasche Änderungen der Leuchtdichte cortical beeinflusst sei. Studien zum Parinaud-Syndrom (Schaden im dorsalen Mittelhirn) zeigten, dass bei Zerstörung der Nuclei praetectales die normale Pupillenlichtreaktion quasi nicht mehr existent war, wohingegen Pupillenantworten auf isoluminante Farb- oder Gitterreize sowie schläfrigkeitsbedingte Oszillationen von der praetectalen Schädigung kaum oder gar nicht beeinflusst waren (Wilhelm BJ et al. 2002). Ebenfalls existieren

Arbeiten, die zu der Hypothese geführt haben, die ipRGC-vermittelte Pupillenbahn verlaufe subcortikal, während der nicht durch ipRGCs vermittelte Weg der Pupillenbahn einen occipitalen Weg wähle (Kelbsch CB et al. 2017, Maeda et al. 2017). Auch für eine corticale Beeinflussung der PLR unter Umgehung der Area praetectalis durch den Fokus der Aufmerksamkeit existieren Belege (Binda et al. 2017, Mathôt 2018).

1.1.2.3 Pupillennahreaktion

Die Pupillennahreaktion ist Teil der Nahakkommodationstrias, bestehend aus Miosis, Akkommodation und Konvergenz. Sie wird mittels retinaler Afferenzen, die an die Sehrinde weitergegeben werden, durch kortikale Einflüsse sowie Klein- und Mittelhirn gesteuert (Bähr und Frotscher 2014, McDougal und Gamlin 2015, Mathôt 2018). Das Signal zur Pupillenkonstriktion wird zu den EWpgs geleitet, von denen aus es über das Ganglion ciliare den M. sphincter pupillae erreicht. Begleitet wird die Pupillennahreaktion von einer Akkommodation durch Kontraktion des M. ciliaris, welche ebenfalls über EWpg, N. oculomotorius und Ganglion ciliare vermittelt wird, sowie von einer Konvergenz, die über die Kerne der Mm. recti mediales und ebenfalls durch den N. oculomotorius vermittelt wird. Dass Pupillenlichtreaktion und Pupillennahreaktion zu Beginn unterschiedliche Bahnen benutzen, wird am klinischen Befund der sogenannten Argyll-Robertson-Pupille deutlich, die z. B. bei Mittelhirnläsionen durch Neurosyphilis oder als Teil des Parinaud-Syndroms auftreten kann. Hierbei ist die Lichtreaktion aufgehoben, Konvergenz und Akkommodation bleiben hingegen erhalten (= Licht-Nah-Dissoziation). (Wilhelm H 2011, Bähr und Frotscher 2014, Wermund et al. 2019)

1.1.3 Sympathische Innervation: Pupillenerweiterung

1.1.3.1 Supraspinale Steuerung

Klassischerweise wird der Verlauf des sympathischen Innervationswegs der Pupille in der Literatur ab dem Centrum ciliospinale, das im Nucleus intermediolateralis im Seitenhorn der Segmente C8-Th2 des Rückenmarks liegt, beschrieben. Das hier eintreffende Signal wird vom Hypothalamus gesteuert. Hier laufen mehrere komplexe Prozesse zur Regelung des sympathischen

Einflusses auf die Pupillenreaktion ab, welche im Folgenden in groben Zügen nach den Arbeiten von Szabadi et al. beschrieben werden:

Licht, das über das Praetectum den Hypothalamus erreicht, hemmt den sympathischen Einfluss und fördert so eine Pupillenkonstriktion. Afferente Lichtsignale, die den Nucleus raphe dorsalis und den Locus coeruleus erreichen, stimulieren den sympathischen Einfluss. Dies wird jedoch vom größeren sympatho-inhibitorischen Effekt des Lichteinfalls überdeckt. Dem Locus coeruleus kommt eine maßgebliche Rolle bei der Steuerung des sympathischen Einflusses auf die Pupille zu. Er enthält sowohl Neurone, die das Centrum ciliospinale noradrenerg über α 1-Adrenozeptoren stimulieren, als auch Neurone, die zum EWpg projizieren und dessen Aktivität noradrenerg über α 2-Adrenozeptoren Rezeptoren hemmen. (Szabadi 2018) Außerdem projiziert der Locus coeruleus zum Cortex, von dem aus der Hypothalamus stimuliert wird, der wiederum über diesen Weg nicht-noradrenerg den EWpg hemmt (Szabadi und Bredshaw 1996). Die Aktivität des Locus coeruleus wird ihrerseits von multiplen Faktoren beeinflusst, wie u. a. die Nozizeption über den Tractus spinothalamicus, Furcht/Emotion über die Amygdala und Schlaf/Erregung über Neurone des Schlaf-/Erregungsnetzwerks. Dies führt zu einer Abhängigkeit der Pupillenweite von einer Vielzahl an Parametern. (Szabadi 2018)

Eine weitere wichtige sympathische Rolle kommt den im unteren Hirnstamm gelegenen A1/A5-Neuronen zu, die zum einen über α 1-Adrenozeptoren ebenfalls das Zentrum ciliospinale stimulieren und zum anderen den Hypothalamus erregen, der nicht-noradrenerg den EWpg hemmt (Szabadi und Bredshaw 1996). Eine Abnahme der Neuronenzahl im Locus coeruleus und damit ein Absinken der Hemmung der Aktivität des EWpg ist die wahrscheinliche Ursache für eine Abnahme der Pupillenweite mit höherem Alter (Szabadi 2018).

Es wird angenommen, dass die (Re-)dilatation der Pupille primär über eine Reduktion des Parasympathikotonus mittels supranukleärer Hemmung gesteuert wird (Alexandridis 1982, Heller et al. 1990, Wilhelm H 2006).

Die Pupille steht also ständig unter einer wechselnden Balance von Parasympathikus und Sympathikus (Szabadi und Bredshaw 1996).

1.1.3.2 Sympathische Innervation ab dem Centrum ciliospinale

Vom Centrum ciliospinale aus laufen die sympathischen Fasern zum 2 cm großen, zwischen V. jugularis und A. carotis gelegenen Ganglion cervicale superius. Dort erfolgt durch Acetylcholin die Umschaltung auf das 2. Neuron, dessen Axon kurz entlang des N. abducens verläuft, um schließlich mit dem N. nasociliaris, einem Ast des N. ophthalmicus des N. trigeminus, ohne Umschaltung durch das Ganglion ciliare zu ziehen und dann mit den Nn. ciliares longi den adrenerg innervierten M. dilatator pupillae zu erreichen. Außerdem werden vom Ganglion cervicale superius aus der M. tarsalis superior und inferior sowie der M. orbitalis sympathisch angesteuert. (Alexandridis 1982, Wilhelm H 2011, Bähr und Frotscher 2014)

Abbildung 2 verdeutlicht schematisch den Verlauf der Signalübertragung für die Pupillenlichtreaktion sowie den Verlauf der sympathisch vermittelten Pupillendilatation.

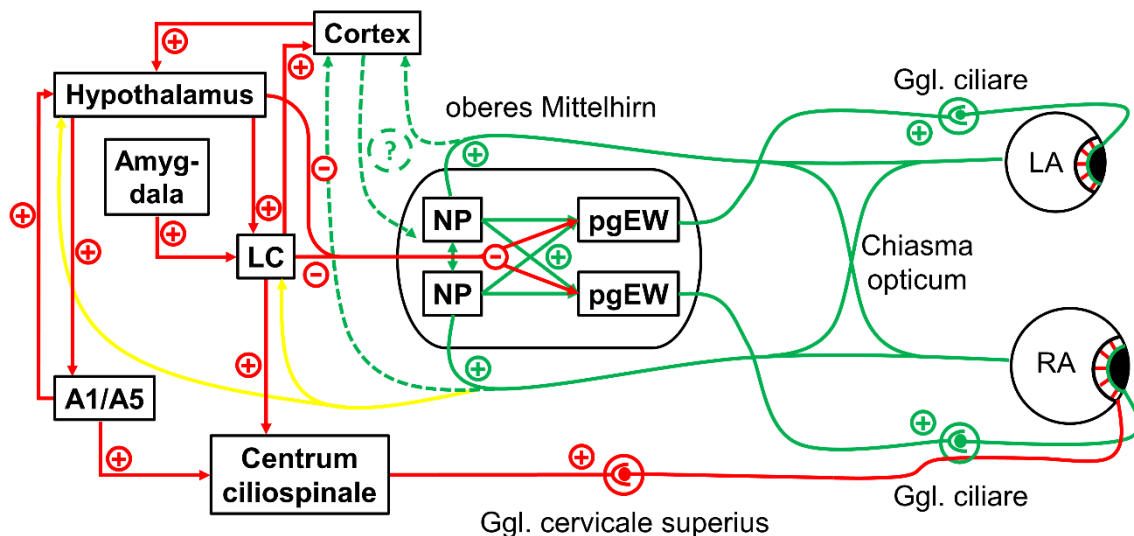


Abbildung 2: Schematischer Verlauf der Steuerung von Pupillenlichtreaktion und -dilatation.

(nach Kapitel 1.1.2 und 1.1.3) A1/A5 = A1/A5-Neurone; LA = linkes Auge; LC = Locus coeruleus; NP = Nucleus preectalis; pgEW = präganglionärer Edinger-Westphal-Kern; RA = rechtes Auge; + = Stimulation, - = Hemmung. Die Rechtecke verdeutlichen schematisch die beteiligten Regionen des zentralen Nervensystems. Parasympathische, konstriktionsfördernde Wege sind grün markiert, sympathische, dilatationsfördernde Wege rot. Im sympathischen

Netzwerk sind stimulierende Einflüsse durch ein Pluszeichen, hemmende Einflüsse durch ein Minuszeichen markiert. Die sympathische Efferenz ist zur besseren Übersichtlichkeit nur rechtsseitig dargestellt. Die gelben Linien symbolisieren Lichtwege, die sowohl Sympathikus-hemmend, als auch -stimulierend wirken können, wobei erstere Wirkung überwiegt (nach Szabadi 2018).

1.2 Die Retina

1.2.1 Funktion und Anatomie

1.2.1.1 Signalverarbeitung, Schichtung und wichtigste Zelltypen

Die rund 200 µm dicke Retina (Netzhaut) ist die innerste Schicht des Auges und embryologisch betrachtet eine Ausstülpung des Gehirns, was erklärt warum bereits auf Augenebene eine komplexe parallele Verarbeitung der Lichtsignale erfolgt. Ihre Photorezeptoren, die Stäbchen und Zapfen, liegen von innen der äußersten Schicht der Netzhaut, dem retinalen Pigmentepithel, das unter anderem deren Versorgung dient, auf. Die Photorezeptoren stellen die ersten Neurone der Sehbahn dar. Ihr Signal wird nach innen an Bipolarzellen, die zweiten Neurone der Sehbahn, weitergeleitet. Zwischen Photorezeptoren und Bipolarzellen befinden sich die Horizontalzellen, welche mittels lateraler Hemmung zur Entstehung der konzentrischen und antagonistischen rezeptiven Felder retinaler Ganglienzellen beitragen (siehe Kapitel 1.2.2). Von den Bipolarzellen wird das Lichtsignal an retinale Ganglienzellen (RGCs) weitergeleitet, die dritten Neurone der Sehbahn. Zwischen Bipolarzellen und RGCs befinden sich Amakrinzellen, die Stäbchensignale integrieren, zur Umstellung von Hell- auf Dunkelsehen (Adaptation) beitragen und die visuelle Information vielfältig modulieren. RGCs bilden die innerste Zellschicht der Retina. Das Licht fällt also in die entgegengesetzte Richtung in die Retina ein als die, in der es verarbeitet wird. Die Gesamtzahl der Axone retinaler Ganglienzellen, rund eine Million pro Auge, bilden den N. opticus, der an der Papilla nervi optici, durch die der blinde Fleck entsteht, austritt. Über N. opticus und Tractus opticus wird das Lichtsignal hauptsächlich zum Corpus geniculatum laterale im Diencephalon geleitet, wo eine nochmalige Umschaltung erfolgt. Im Folgenden verläuft es unter anderem zum visuellen Cortex im Okzipitallappen, wo die weitere Signalverarbeitung geschieht. (Eysel 2007, Bähr und Frotscher 2014, Franke und

Baden 2017, Eysel 2019b, Eysel 2019a) Wie in Kapitel 1.1 erläutert, gelangt ein Teil des Lichtsignals auch zur Area praetectalis sowie zum Hypothalamus und wird zu weiteren Bereichen des Cortex weitergeleitet.

1.2.1.2 Zapfen, Stäbchen, Dunkeladaptation und pupillomotorisches Signal

Unter photopischen (hellen) Bedingungen sind primär Zapfen zur Signalübertragung aktiv. Ihre Zahl beträgt ca. 6 Millionen und sie erreichen ihre maximale Dichte in der Fovea centralis in der Mitte der Retina. Nach peripher hin nimmt ihre Dichte im Wesentlichen ab (Curcio et al. 1990, Eysel 2019a).

Es existieren S-, M-, und L-Zapfen, die jeweils nach der Wellenlänge der höchsten Empfindlichkeit ihres Opsins (Sehpigments) benannt sind. S-Zapfen haben die höchste Empfindlichkeit im Bereich von ca. 420 nm, M-Zapfen im Bereich von ca. 535 nm und L-Zapfen im Bereich von ca. 565 nm. Die Mischung ihrer Empfindlichkeiten bedingt die spektrale Empfindlichkeit der Retina unter photopischen Bedingungen (Bowmaker und Dartnall 1980, Eysel 2007, Eysel 2019b, Eysel 2019a, Kelbsch et al. 2019b).

Unter skotopischen (dunklen) Bedingungen sind hauptsächlich Stäbchen für die Signalübertragung zuständig. Die zentralen 1,25° der Netzhaut sind stäbchenfrei, von dort ausgehend steigt die Dichte an, sodass das Maximum der Stäbchendichte im Bereich von 15-20° auf Höhe der Papilla n. optici erreicht wird, um ab diesem Punkt wieder leicht abzusinken (Curcio et al. 1990). Ihre maximale Empfindlichkeit liegt bei ca. 500 nm und bedingt die spektrale Empfindlichkeit der Retina unter skotopischen Bedingungen. Stäbchen sind sensitiver als Zapfen, reagieren aber etwas langsamer. (Bowmaker und Dartnall 1980, Eysel 2007, Ingram et al. 2016, Eysel 2019b, Eysel 2019a, Kelbsch et al. 2019b)

Retinale Dunkeladaptation erfolgt zum einen chemisch, durch eine Gleichgewichtsverschiebung vom bei Licht dominierenden All-trans-Retinal hin zum 11-cis-Retinal. Außerdem wird die Dunkeladaptation durch Amakrinzellen unterstützt, welche im Dunkeln die Hemmung der Stäbchen aufheben sowie ihre Signale in den Signalübertragungsweg einschleusen. Retinale Adaptation gewährleistet eine Anpassung der Sensitivität an Helligkeitsunterschiede von 10 logarithmischen Einheiten oder mehr (Eysel 2007, Eysel 2019a). Ihr Einfluss ist

damit deutlich größer als der der Pupillenweite, die dafür schneller angepasst werden kann und unterstützend wirkt (Wilhelm H 2011).

Während Zapfen ihre ON-Signale (Licht) über Zapfen-ON-Bipolarzellen direkt an retinale ON-Ganglienzellen weiterleiten (Kolb und Famiglietti 1974, Kaneda 2013, Eysel 2019b), leiten Stäbchen ihre ON-Signale entweder über Stäbchen-ON-Bipolarzellen und A-II-Amakrinzellen erst an Zapfen-ON-Bipolarzellen weiter oder über Gap-Junctions direkt an Zapfen, um dann die gleiche Endstrecke (über Zapfen-ON-Bipolarzellen und retinale ON-Ganglienzellen) zu wählen (Famiglietti und Kolb 1975, Smith et al. 1986, Raviola und Dacheux 1987, DeVries und Baylor 1995, Demb und Pugh 2002). Der längere Verlauf des Signalübertragungswegs für Stäbchen macht diese zusammen mit dem langsameren Verlauf ihres Rezeptorpotentials (Eysel 2007) langsamer als Zapfen.

Pupillomotorische Signale können sowohl durch Lichtaktivierung von Stäbchen und Zapfen als auch der von ipRGCs (siehe Kapitel 1.1.2.1.1) vermittelt werden, wobei ipRGCs erst ab einer gewissen Helligkeit intrinsisch aktiv werden (McDougal und Gamlin 2010, Wilhelm BJ 2010).

Die pupillomotorische Dunkeladaptationskurve ähnelt somit der visuellen, wobei zu beachten ist, dass die pupillomotorische Schwelle höher als die visuelle liegt (Alpern et al. 1959). Ebenso ähnelt die spektrale Sensitivität der Pupillomotorik unter photopischen und skotopischen Bedingungen weitgehend der jeweiligen spektralen Sensitivität für die visuelle Perzeption (Alexandridis und Koeppel 1969, Alexandridis 1971). McDougal und Gamlin (2010) konnten allerdings zeigen, dass ab einer gewissen Schwelle an Helligkeit und längerer Stimulusdauer die ipRGC-Antwort die Pupillomotorik dominiert und deshalb auch die spektrale Sensitivität der ipRGCs, welche bei rund 480 nm liegt, die Pupillenantwort dominiert.

1.2.2 Rezeptive Felder für die visuelle Perzeption

Als rezeptives Feld wird in der Netzhaut die Fläche, genauer: die Zahl/Ausdehnung an Photorezeptoren, bezeichnet, welche bei Stimulation zur Aktivitätsänderung einer einzelnen RGC führt (Eysel 2007, Eysel 2019a, Eysel 2019b). Rezeptive Felder in der Netzhaut sind konzentrisch angeordnet. Ihre Funktion ist komplex und besteht aus einem konstanten Zusammenspiel von

Zentrum und Peripherie. So gibt es Zentrum-ON-RGCs, welche von ON-Bipolarzellen angesteuert werden und bei Belichtung des Zentrums aktiv sind. Wird hingegen die Peripherie stimuliert, so werden die ON-Zentrum Bipolarzellen und in Folge die ON-Zentrum RGCs durch eine von der peripher gelegenen RGC aktivierte Horizontalzelle lateral gehemmt. ON-Zentrum-RGCs sind bei Belichtung der Peripherie also inaktiv. OFF-Zentrum-Zellen verhalten sich umgekehrt. Sie sind bei peripherer Beleuchtung aktiv und bei zentraler Beleuchtung inaktiv. Diese Organisation der rezeptiven Felder ermöglicht uns das Auflösen unterschiedlich großer Strukturen. Sie bildet die retinale Grundlage für die maximale Sehschärfe. So sind im Bereich der Fovea Zapfen und RGCs 1:1 miteinander verknüpft und das rezeptive Feld einer RGC bei einem Zapfenreihenabstand von 2,5 μm entsprechend klein. (Eysel 2007, Eysel 2019a, Eysel 2019b) Die Größe der rezeptiven Felder für die visuelle Perzeption nimmt mit abnehmender Photorezeptordichte (Curcio et al. 1990) und abnehmender Ganglienzelldichte (Curcio und Allen 1990) von zentral nach peripher zu (Loewenfeld 1993a).

Außerdem herrschen bei Dunkeladaptation aufgrund einer geringeren lateralen Hemmung durch Amakrinzellen größere rezeptive Felder. Dies bedingt, dass unsere Auflösung bei Dunkelheit kleiner ist (Eysel 2007, Eysel 2019a, Eysel 2019b).

Es wird angenommen, dass die rezeptiven Felder einer für die Pupillomotorik zuständigen RGC größer ausfallen als für die Sehfunktion (siehe Kapitel 1.4.5).

1.3 Methodik der Pupillenperimetrie und -kampimetrie

1.3.1 Allgemeines

1.3.1.1 Prinzipien der Perimetrie und Kampimetrie

Die Begriffe Perimetrie und Kampimetrie bezeichnen klassischerweise Verfahren zur Prüfung des Gesichtsfelds, also dem Ausschnitt der Umwelt, den das Auge bei Fixation auf einen bestimmten Punkt wahrnimmt. Der Begriff Perimetrie definiert hierbei die Präsentation von Lichtreizen in einer Halbkugel. Mit dem Begriff der Kampimetrie werden Verfahren mittels eines flachen (Bild-) Schirms bezeichnet. In der Gesichtsfeldprüfung werden außerdem statische und

kinetische Verfahren unterschieden. Bei statischen Verfahren werden Prüfpunkte an festen Orten des Gesichtsfelds präsentiert und gemessen, ab welcher Helligkeit der Untersuchte, diese wahrnimmt. Bei kinetischen Verfahren werden Prüfpunkte von peripher in das Gesichtsfeld hineinbewegt und gemessen, ab welcher Lokalisation der Patient diese wahrnimmt. Beide Verfahren erfassen die Netzhautsensitivität auf visuelle Stimuli und sind abhängig von der Mitarbeit des Untersuchten, z. T. auch der Erfahrung des Untersuchers. Der Patient muss über Knopfdruck signalisieren, ob er einen Stimulus wahrnimmt. Das erfordert das Verstehen der Aufgabe, Wachheit und Konzentration. Fehlerhafte Messergebnisse können auch durch Simulation des Patienten entstehen. (Grehn 2019)

1.3.1.2 Perimetrie und Kampimetrie der Pupille

Im Gegensatz zur klassischen visuellen Perimetrie und Kampimetrie stehen Pupillenperimetrie und -kampimetrie. Auch sie eignen sich aufgrund des bis zum Praetectum gleichen Verlaufs der Seh- und Pupillenbahn (Alexandridis 1982, Wilhelm H 2011) grundsätzlich zur Beurteilung der Sehfunktion und des Gesichtsfelds (Harms 1949, Alexandridis 1971, Kardon RH et al. 1991, Schmid et al. 2000, Hong et al. 2001, Schmid et al. 2005, Stingl K et al. 2018). Der Vorteil dieser Verfahren liegt darin, dass sie weitestgehend unabhängig von einer subjektiven Beeinflussung durch den Untersuchten (Stingl K et al. 2018) und weniger anstrengend sind (Kardon RH et al. 1991, Hong et al. 2001). Eine Simulation ist kaum möglich, da die Pupillenreaktion im Wesentlichen nicht willentlich beeinflusst werden kann (Wilhelm H 2011, McDougal und Gamlin 2015, Mathôt 2018).

Es werden Verfahren zur Bestimmung der pupillomotorischen Schwelle (= Stimulusintensität, bei der > 50 % aller Stimuli eine PLR hervorrufen) an unterschiedlichen Orten des Gesichtsfelds mittels Stimuli ansteigender Intensität sowie Verfahren zur Bestimmung der absoluten oder relativen Pupillenreaktion auf Stimuli einer festgelegten überschwelligen Intensität ebenfalls an unterschiedlichen Orten des Gesichtsfelds unterschieden. Da beim Menschen die direkte und konsensuelle Pupillenreaktion gleich groß sind (Wilhelm H 2011,

McDougal und Gamlin 2015, Wermund et al. 2019), ist es möglich, ein Auge zu stimulieren und das andere zu messen.

1.3.2 Geschichte von Pupillenperimetrie und -kampimetrie und gewonnene Erkenntnisse 1949 – 2021

1.3.2.1 20. Jahrhundert

Pupillenperimetrie und -kampimetrie können an der Universitäts-Augenklinik Tübingen auf eine lange Geschichte zurückblicken und haben die wissenschaftliche Sicht auf den Verlauf der Pupillenbahn in der zweiten Hälfte des 20. Jahrhunderts maßgeblich verändert. Es war Heinrich Harms, von 1952 bis 1976 Direktor der Tübinger Augenklinik (Hunder et al. 2010), der 1949, damals noch an der Universitäts-Augenklinik Berlin beschäftigt, mit seiner Arbeit „Grundlagen, Methodik und Bedeutung der Pupillenperimetrie für die Physiologie und Pathologie des Sehorgans“ (Harms 1949) basierend auf Vorarbeiten von Carl von Hess den Grundstein zur klinischen Pupillenperimetrie legte. Harms entwickelte ein Pupillenperimeter, mit dem sich unter Verwendung fokaler Stimuli und Beobachtung der Pupille durch den Versuchsdurchführenden die pupillomotorische Schwelle unter konstanten Adaptationsbedingungen entlang des Netzhautmeridians im Bereich von 70° temporal und 50° nasal ermitteln ließ. Er beschrieb ein Maximum pupillomotorischer Sensitivität in der Netzhautmitte mit einer Abnahme zur Peripherie hin. Außerdem stellte Harms erstmals den klassischen, ausschließlich subkortikalen Weg der Pupillenbahn, wie er von Wernicke (1883) beschrieben worden war, in Frage. Bei Kriegsverletzten mit retrogenikulären Läsionen beobachtete Harms mittels seines Verfahrens abgeschwächte Pupillenreaktionen im Bereich des ausgefallenen Gesichtsfeldareals. Dies war ein Befund, der bei einem rein subkortikalen Verlauf der Pupillenbahn nicht zu erwarten wäre und der im Verlauf vielfach angezweifelt und kritisiert, aber später auch mehrfach reproduziert werden konnte (Wilhelm H 1996). Harms schlussfolgerte aus seinen Ergebnissen, dass die Pupillenperimetrie ein nützliches Untersuchungsverfahren zur objektiven Untersuchung des Gesichtsfelds sowie zur tiefergehenden Erforschung der Pupillenbahn sei (Harms 1949).

Bresky und Charles (1969) koppelten später ein Tübinger Perimeter (= beleuchtete Halbkugel zur Präsentation verschieden großer Lichtreize (Hunder et al. 2010)) mit einem elektronischen Pupillographen, ähnlich dem von Otto Löwenstein und Irene Löwenfeld, den Begründern der klinischen Pupillographie, entwickelten Gerät (Löwenstein und Loewenfeld 1958). Mittels dieser Technik der Pupillenperimetrie konnten sie ebenfalls abgeschwächte Pupillenreaktionen bei Patienten mit retrogenikulären Läsionen finden.

Alexandridis (1971) entwickelte im Folgenden einen weiteren Pupillographen, der die konsensuelle Pupillenreaktion - basierend auf einer Idee von Matthes (1941) - mittels Infrarot-Reflexphotometrie aufzeichnete. Lokalisierte Stimuli wurden über ein Tübinger Perimeter präsentiert. Weitere Untersuchungen verschiedener Gruppen mittels dieser Technik bestätigten die beschriebenen Ergebnisse bei Patienten mit retrogenikulären Läsionen (Cibis et al. 1975, Alexandridis et al. 1979, Reuther et al. 1981, Alexandridis et al. 1983). Dies gilt auch für die Untersuchungen von Hellner et al. (1978), die ein Tübinger Perimeter mit einer Fernsehbildanalyse kombinierten. Ein weiteres Pupillenperimeter wurde von Kardou RH et al. (1991) entwickelt. Sie kombinierten ein Humphrey-Perimeter mit einem Infrarot-Video-Pupillometer und fanden Korrelationen zwischen Gesichtsfeld und pupillenperimetrischer Untersuchung bei Patienten, die an verschiedenen Pathologien litten, die Gesichtsfelddefekte verursachten.

1.3.2.2 21. Jahrhundert

Teile dieses Kapitels wurden bereits veröffentlicht in:

Sonntag A, Kelbsch C, Jung R, Wilhelm H, Strasser T, Peters T, Stingl K, Wilhelm B (2021) Effect of central and peripheral cone- and rod-specific stimulation on the pupillary light reflex. *Int Ophthalmol*. doi:10.1007/s10792-021-02132-1 Epub ahead of print.

In Tübingen wurde die Idee der pupillomotorischen Perimetrie im Jahr 2000 von Schmid et. al wieder aufgegriffen. Eine computergebundene Methode mit einer Infrarotkamera und einem flachen Monitor zur Stimuluspräsentation (folglich formal Kampimetrie genannt) konnte bis zu einer Exzentrizität von 20° die retinale pupillomotorische Sensitivität ermitteln (Schmid et al. 2000). Es fand sich eine gute Übereinstimmung zwischen Messergebnis der Pupillenkampimetrie und

Gesichtsfeld der Patienten. Wieder einmal zeigten Untersuchungen von Patienten mit retrogenikulär bedingtem halbseitigem Gesichtsfeldverlust beeinträchtigte Pupillenantworten (Schmid et al. 2005). In derselben Forschungsgruppe detektierten Skorkovská et al. (2009) sogar eine bessere Übereinstimmung zwischen Pupillenkampimetrie und Gesichtsfeld für retrogenikuläre Hemifeld-Läsionen als für prägenikuläre Läsionen. Aktuell laufen in Tübingen weitere Studien zur Pupillenkampimetrie bei Patienten mit verschiedenen Sehbahnläsionen, die dieses Thema näher untersuchen.

Die Verwendung verschiedener Wellenlängen, Stimulusleuchtdichten, Stimuluszeiten, Stimuluslokalisationen und Adaptationszustände ermöglicht das spezifische Hervorrufen zapfen-, stäbchen- und ipRGC-vermittelter Pupillenantworten mittels Pupillenkampimetrie (Kardon R et al. 2009, Kelbsch et al. 2019b, Rukmini et al. 2019).

Stingl et al. stellten 2018 in Tübingen ein modernisiertes Pupillenkampimeter mit implementierter Gaze-Tracking-Funktion als objektive Methode zur Messung des Gesichtsfelds im Bereich der zentralen 20° vor (Stingl K et al. 2018). Basierend darauf, sowie auf mehreren Studien zur chromatischen Pupillographie, bei denen abgeschwächte Pupillenantworten auf zellspezifische Stimuli unter anderem bei Retinitis Pigmentosa (Kelbsch C et al. 2017), Glaukom (Kelbsch et al. 2016) und CNGA3-assoziiertes Achromatopsie (Lisowska et al. 2017) gefunden worden waren, entwickelte die Tübinger AG-Pupillenforschung die Chromatische Pupillenkampimetrie (CPC) (Kelbsch et al. 2019a). Hierbei handelt es sich um ein pupillenkampimetrisches Set-Up mit OLED-Monitor, Gaze-Tracking Funktion und Infrarotkamera-basierter Pupillographie zur objektiven und lokalen Messung der Zapfen- und Stäbchenfunktion mittels zellspezifischer Stimulation bis zu einer Exzentrizität von 30°. In der beschriebenen Arbeit fand sich ein Exzentrizitätseffekt mit zentral stärker ausfallenden Pupillenantworten für Zapfen und Stäbchen, der für Zapfen jedoch steiler ausfiel. Patienten mit gestörter Zapfen-/Stäbchenfunktion zeigten stark reduzierte, beziehungsweise nicht mehr vorhandene Pupillenreaktionen auf die entsprechenden Stimuli.

Heute werden Pupillenkampimetrie, Ganzfeld-Pupillographie und multifokale Pupillographie von mehreren Forschungsgruppen weiter erforscht und zum Teil

als klinische Verfahren eingesetzt, um opticusbedingte und retinale Erkrankungen wie unter anderem Glaukom (Skorkovská et al. 2012, Carle et al. 2015, Najjar et al. 2018), Altersbedingte Makuladegeneration (AMD) (Sabeti et al. 2014, Kelbsch et al. 2020), Retinitis Pigmentosa (Chibel et al. 2016, Stingl KT et al. 2019) und Diabetische Retinopathie bei Typ 2 Diabetes (Sabeti et al. 2015) zu untersuchen.

An der Tübinger Universitäts-Augenklinik wird außerdem die Rolle der Pupillenkampimetrie als Marker zur Verlaufsbeurteilung bei Gentherapiestudien zu erblichen Netzhauterkrankungen erforscht (Lisowska et al. 2017, Stingl K et al. 2020, Stingl K et al. 2021).

Im klinischen Alltag kommt die CPC in Tübingen vor allem bei unklaren Sehstörungen, dem Verdacht auf funktionellen Sehverlust und im Rahmen der Sprechstunde für erbliche Netzhauterkrankungen zum Einsatz.

1.4 Summationseffekte auf die Pupillenlichtreaktion: bisheriger Wissensstand

Teile dieses Kapitels wurden bereits veröffentlicht in:

Sonntag A, Kelbsch C, Jung R, Wilhelm H, Strasser T, Peters T, Stingl K, Wilhelm B (2021) Effect of central and peripheral cone- and rod-specific stimulation on the pupillary light reflex. *Int Ophthalmol*. doi:10.1007/s10792-021-02132-1 Epub ahead of print.

Trotz der zunehmenden Etablierung pupillographischer Verfahren ist immer noch wenig über Summationseffekte auf die PLR und rezeptive Felder für die Pupillomotorik insbesondere bei photorezeptorspezifischer Stimulation bekannt.

1.4.1 Beeinflussung der PLR (Amplitude) durch Stimulusintensität, CFD und Wellenlänge

Es wurde vielfach gezeigt, dass in einem gewissen Bereich ein positiv linearer Zusammenhang zwischen Amplitude der PLR und Logarithmus der Stimulusintensität besteht (Ellis 1981, Kardon RH et al. 1991, Kardon RH 1992, Loewenfeld 1993a, Hong et al. 2001). Außerdem ist bekannt, dass die helladaptierte Pupillengröße in einer logarithmischen Beziehung zum Produkt

aus Stimulusleuchtdichte und -fläche, der sogenannten Corneal Flux Density (CFD), steht (Stanley und Davies 1995, Watson und Yellott 2012).

Verschiedene Studien haben auch für die PLR eine CFD-Abhängigkeit ergeben (Atchison et al. 2011, Joyce et al. 2016, Hu et al. 2020). Diese scheint allerdings nicht ohne räumliche Gewichtung zu gelten, da neben der CFD auch der Ort der Stimuluspräsentation die PLR bestimmt (Zhang et al. 2019, Hu et al. 2020). Im Gegensatz dazu, konnten Park und McAnany (2015), die ebenfalls die Beziehung zwischen CFD und PLR mittels zentraler Stimuli untersuchten, nur für Stäbchen- und Melanopsin-vermittelte Pupillenantworten eine CFD-Abhängigkeit finden. Zapfen-vermittelte Antworten waren in ihrer Arbeit nicht CFD-abhängig.

Erwähnenswert ist außerdem, dass für blaues Licht im Bereich von 1 bis 100 cd/m^2 und darüber hinaus stärkere Pupillenantworten auf blaues Licht als auf rotes Licht gleicher Intensität gezeigt werden konnten (Kardon R et al. 2009, Haj Yahia et al. 2018).

1.4.2 Beeinflussung der Latenz der PLR durch Stimulusintensität, CFD und Stimuluspezifität

Hu et al. (2020) ermittelten eine Abhängigkeit der Latenz der PLR von der CFD. Cibis et al. (1977) demonstrierten ebenfalls eine Abnahme der pupillomotorischen Latenz bei Steigerung der Stimulusfläche und -leuchtdichte und konnten einen negativ linearen Zusammenhang zwischen Latenz und Logarithmus der Stimulusleuchtdichte demonstrieren. Letzterer Zusammenhang ist vielfach in der Literatur beschrieben (Ellis 1981, Gavriisky 1991, Loewenfeld 1993a, Myers und Stark 1993, Bitsios et al. 1996, Bergamin und Kardon 2003). Die pupillomotorische Latenz auf stäbchenspezifische Reize ist länger als die auf zapfenspezifische (Kelbsch et al. 2019a).

Die minimale Latenz liegt im Bereich von 200 - 250 ms (Ellis 1981, Myers und Stark 1993, Bitsios et al. 1996).

1.4.3 Pupillomotorische Sensitivität und Exzentritätseffekt

Die pupillomotorische Schwellensensitivität auf weißes Licht ist unter helladaptierten Bedingungen im Zentrum der Netzhaut am höchsten und nimmt nach peripher hin ab (Harms 1949, Bresky und Charles 1969, Alexandridis 1971,

Jensen 1976, Hellner und Sautter 1978, Loewenfeld 1993a). Bei Verwendung kleinerer Stimulusflächen erhält man ein steileres Sensitivitätsgefälle vom Zentrum zur Peripherie hin als bei Verwendung größerer Stimulusflächen (Hong et al. 2001). Außerdem konnte gezeigt werden, dass der inferior-nasale Quadrant der Netzhaut (und damit der superior-temporale Quadrant des Gesichtsfelds) die höchste pupillomotorische Sensitivität auf weißes Licht aufweist, wohingegen der superior-temporale Netzhautquadrant (und damit der inferior-nasale Gesichtsfeldquadrant) die niedrigste pupillomotorische Sensitivität aufweist (Kardon RH et al. 1991, Schmid et al. 2000, Schmid et al. 2004).

Mehrere Studien haben für lokal präsentierte, überschwellige weiße Stimuli einen Exzentrizitätseffekt auf die PLR mit einem zentralen Maximum und einer Abnahme zur Peripherie hin gezeigt (Kardon RH et al. 1991, Kardon RH 1992, Schmid et al. 2000, Schmid et al. 2004, Ceurremans 2006, Skorkovská et al. 2014, Stingl K et al. 2018, Hu et al. 2020). Auch für schwaches blaues und rotes Licht konnte dieser Effekt unter stäbchen- beziehungsweise zapfenspezifischen Bedingungen gezeigt werden (Haj Yahia et al. 2018, Kelbsch et al. 2019a), wobei der Exzentrizitätseffekt hierbei für Zapfen größer ausfiel als für Stäbchen. Im Gegensatz dazu konnten Joyce et al. (2016) für lang- und kurzwellige photopische Stimuli gleicher CFD, die bei 0° und 20° präsentiert wurden, keinen Exzentrizitätseffekt auf die PLR finden.

1.4.4 Räumliche und zeitliche Summationseffekte auf die pupillomotorische Schwelle

Alexandridis (1970) untersuchte räumliche und zeitliche Summationseffekte auf die pupillomotorische und sensorische Schwelle unter Dunkel- und Helladaptation mittels der Verwendung zentraler und peripherer Kreisstimuli ansteigender Fläche und verglich diese. Die pupillomotorische Schwelle lag je nach Bedingung 1 - 2 Zehnerpotenzen über der sensorischen Schwelle. Analog zur sensorischen Schwelle lag die pupillomotorische unter Dunkeladaptation zentral höher als peripher und unter Helladaptation peripher höher als zentral. Die pupillomotorische Schwelle sank mit steigender Stimulusfläche. Unter dunkeladaptierten Bedingungen folgte der Kurvenverlauf der pupillomotorischen Schwelle in Abhängigkeit von der Stimulusfläche bis zu einem

Stimulusdurchmesser von 30° annähernd dem Riccoschen Gesetz, nach dem das Produkt aus Schwellenleuchtdichte und Reizfeldfläche konstant ist. Bei höheren Reizfeldflächen flachte der Kurvenverlauf ab und folgte eher dem Piperschen Gesetz, nach dem das Produkt aus Schwellenleuchtdichte und Wurzel der Reizfeldfläche konstant ist. Es ergab sich folglich eine nichtlineare Summation. Auf die Kurve der sensorischen Schwelle ließ sich Riccos Gesetz nur für kleinere Stimuli anwenden. Unter Helladaptation war der Kurvenverlauf beider Schwellen für zentral präsentierte Stimuli insgesamt etwas flacher. Kleinere Stimuli führten generell zu einem stärkeren Anstieg der pupillomotorischen Schwelle als der sensorischen Schwelle, ein Indiz dafür, dass pupillomotorische rezeptive Felder größer sind als jene für die visuelle Wahrnehmung. Bei Untersuchung der zeitlichen Summation ergab sich sowohl für die sensorische als auch für die pupillomotorische Schwelle unter Dunkeladaptation eine Konstanz des Produkts von Schwellenleuchtdichte und Reizdauer bis zu einer Reizdauer von 100 ms (totale Summationszeit). Darüber war die Schwelle allein von der Leuchtdichte abhängig. Außerdem war die Summationszeit von der Reizfeldfläche abhängig. Kleinere Flächen führten zu höheren Summationszeiten. Helladaptation änderte die totale Summationszeit für die pupillomotorische Schwelle nicht, verkürzte sie jedoch für die sensorische Schwelle.

1.4.5 Rezeptive Felder für die Pupillomotorik

Skorkovská et al. (2014) untersuchten erstmals explizit Summationseffekte auf die PLR im Hinblick auf rezeptive Felder mittels überschwelliger Stimulation durch weißes Licht in einem pupillenkinematrischen Set-Up. Sie präsentierten unterschiedlich helle und große Stimuli an verschiedenen Orten des Gesichtsfelds und ermittelten einen bi-linearen Verlauf der Kurve des Logarithmus der absoluten Pupillenreaktion aufgetragen gegen den Logarithmus der Stimulusfläche. Den Umschlagspunkt der Kurve betrachteten Skorkovská et al. als Hinweis auf die Größenordnung der pupillomotorischen rezeptiven Felder. Sie erhielten so Durchmesser der rezeptiven Felder von durchschnittlich rund 2° zentral und rund 5° peripher. Außerdem beobachteten sie einen Exzentrizitätseffekt auf die PLR mit peripherer Abnahme. Skorkovská et al.

schlossen aus ihren Ergebnissen, dass rezeptive Felder retinaler Ganglienzellen für die PLR größer als für die visuelle Perzeption sind, in der Größe zur Peripherie hin zunehmen und mit steigender Leuchtdichte kleiner werden. Allerdings handelte es sich bei den Untersuchungen von Skorkovská et al. nicht um photorezeptorspezifische Experimente.

Berechnet man mittels der von Skorkovská et al. erhaltenen Durchmesser die Fläche der rezeptiven Felder pupillomotorischer Ganglienzellen, so erhält man Werte von rund $3^{\circ 2}$ zentral und rund $20^{\circ 2}$ peripher. Dies liegt im Bereich der in einer Arbeit von Gamlin et al. erhaltenen Werte von $7^{\circ 2}$ zentral und $20^{\circ 2}$ peripher (Gamlin et al. 2001, zitiert nach Clarke et al. 2003).

Clarke et al. (2003) untersuchten bei Primaten rezeptive Felder für die PLR auf der Ebene des Praetectums. Sie untersuchten die rezeptiven Felder der praetectalen Luminance-Neurone (PON-Luminance-Neurone), indem sie deren Feuerrate in Abhängigkeit von Stimulusfläche, -leuchtdichte und -position ableiteten. Clarke et al. zeigten, dass die Feuerrate der PON-Luminance-Neurone bei steigender Stimulusfläche und -leuchtdichte anstieg. Es ergab sich eine logarithmische Beziehung zwischen Feuerrate und Logarithmus der Stimulusfläche sowie Feuerrate und Logarithmus der Leuchtdichte.

Sie beschrieben außerdem 3 Klassen von PON-Luminance-Neuronen: PON-Neurone der bilateralen Klasse, der kontralateralen Klasse und der Makula-Klasse. Als Größe der rezeptiven Felder ermittelten sie für die bilaterale Klasse über $4800^{\circ 2}$, für die kontralaterale Klasse über $2500^{\circ 2}$ und für die Makula-Klasse ca. $100^{\circ 2}$ - $900^{\circ 2}$.

1.5 Fragestellung und Ziel dieser Arbeit

Angesichts des limitierten Wissenstandes über rezeptive Felder und Summationseffekte auf die Pupillenlichtreaktion, vor allem unter photorezeptorspezifischen Bedingungen, und der gleichzeitig steigenden Verwendung von Pupillenkampimetrie, multifokaler Pupillographie und Ganzfeld-Pupillographie im klinischen und Forschungs-Alltag, war es Ziel dieser Arbeit, diese Thematik genauer zu untersuchen.

Nachdem sich in mehreren Studien zur Pupillenperi- und kampimetrie ein Exzentrizitätseffekt auf durch fokale Stimuli ausgelöste Pupillenantworten

ergeben hatte und dieser auch explizit unter zapfen- und stäbchenspezifischen Bedingungen nachgewiesen werden konnte (siehe Kapitel 1.4.3), sollte der Einfluss der zentralen und peripheren Netzhaut auf die PLR sowie eventuelle Wechselwirkungen zwischen Zentrum und Peripherie weiter erforscht werden. Es sollte durch Verwendung von Kreis- und Ringstimuli unter zapfen- und stäbchenspezifischen Bedingungen mittels CPC näher eruiert werden, wie groß der Einfluss der zentralen und der peripheren Zapfen und Stäbchen auf die Größe der Pupillenantwort sowie deren Latenz ist, welche Beziehung zwischen Stimulusfläche und PLR besteht, ob eine lineare oder eine nichtlineare räumliche Summation der Lichtsignale mit eventuellen Inhibitions- oder Sättigungseffekten besteht und welche Unterschiede sich hierbei für Stäbchen und Zapfen ergeben. Der Versuchsansatz an einem konkreten Beispiel: Wie hoch ist die Pupillenreaktion auf einen zapfen- oder stäbchenspezifischen Kreis mit einem Radius von 10° , wie hoch ist sie für einen Ring mit einem Außenradius von 40° , in dem genau dieser zentrale Bereich fehlt (= Innenradius 10°) und wie hoch ist sie auf einen Kreis mit einem Radius von 40° ?

Die Ergebnisse der Studie sollten dazu dienen, Messergebnisse der Pupillenkampimetrie und der Ganzfeld-Pupillographie mit dem gewonnenen Wissen zukünftig besser deuten zu können.

2 Material und Methoden

Teile dieses Kapitels wurden bereits veröffentlicht in:

Sonntag A, Kelbsch C, Jung R, Wilhelm H, Strasser T, Peters T, Stingl K, Wilhelm B (2021) Effect of central and peripheral cone- and rod-specific stimulation on the pupillary light reflex. Int Ophthalmol. doi:10.1007/s10792-021-02132-1 Epub ahead of print.

2.1 Ethik

Die Studie wurde gemäß den Grundsätzen der Deklaration von Helsinki konzipiert und von der Ethik-Kommission der medizinischen Fakultät der Eberhard-Karls-Universität Tübingen als Amendment unter der Projektnummer 775/2016BO2 zustimmend bewertet. Alle Probanden wurden vor ihrer Teilnahme ausführlich über die Freiwilligkeit der Teilnahme, Inhalte, Ziele, Ablauf, Nutzen und Risiken der Studie aufgeklärt und erteilten hierauf ihre schriftliche informierte Einverständniserklärung zur Teilnahme.

2.2 Probanden

Die Studie wurde an 30 jungen und gesunden Probanden durchgeführt (14 Männer, 16 Frauen).

2.2.1 Einschlusskriterien

Einschlusskriterien waren die folgenden:

- ein Alter von 18 - 50 Jahren
- keine Augenerkrankungen
- keine Medikation oder Erkrankung mit Auswirkungen auf die Pupillenweite und den Pupillenlichtreflex
- Refraktionsfehler nicht größer als ± 3 dpt sphärisches Äquivalent am linken (gemessenen) Auge
- Bester korrigierter Visus 1,0 oder besser am linken (gemessenen) Auge

2.2.2 Ophthalmologische Voruntersuchung

Zur Verifizierung der Augengesundheit der Studienteilnehmer wurden vor Absolvieren des Versuchs die folgenden Untersuchungen durchgeführt:

- Anamnese

- Medikamentenanamnese
- Sehschärfenuntersuchung
- Swinging-Flashlight-Test
- Spaltlampenuntersuchung und Funduskopie
- Optische Kohärenztomographie (OCT) (Spectralis-OCT; Heidelberg Engineering GmbH, Deutschland)
- 30° - Gesichtsfelduntersuchung (statisch, automatisch; Octopus 101 oder 900; Haag-Streit International, Wedel, Deutschland)

2.2.3 Rekrutierung

Die Probanden waren Mitarbeiter der Augenklinik oder Studenten der Universität Tübingen. Die Rekrutierung erfolgte mündlich durch mich.

2.2.4 Altersverteilung

Das mittlere Alter der Probanden betrug 24 ± 5 Jahre (Mittelwert \pm Standardabweichung). Tabelle 1 zeigt Lage- und Streuungsmaße der Altersverteilung der Probanden. Abbildung 3 stellt die Altersverteilung der Probanden graphisch dar.

Tabelle 1: Lage- und Streuungsmaße der Altersverteilung der Probanden in Jahren.

Minimum	20
Maximum	43
Median	22
Mittelwert	24
Standardabweichung	5

Altersverteilung der Probanden (n = 30)

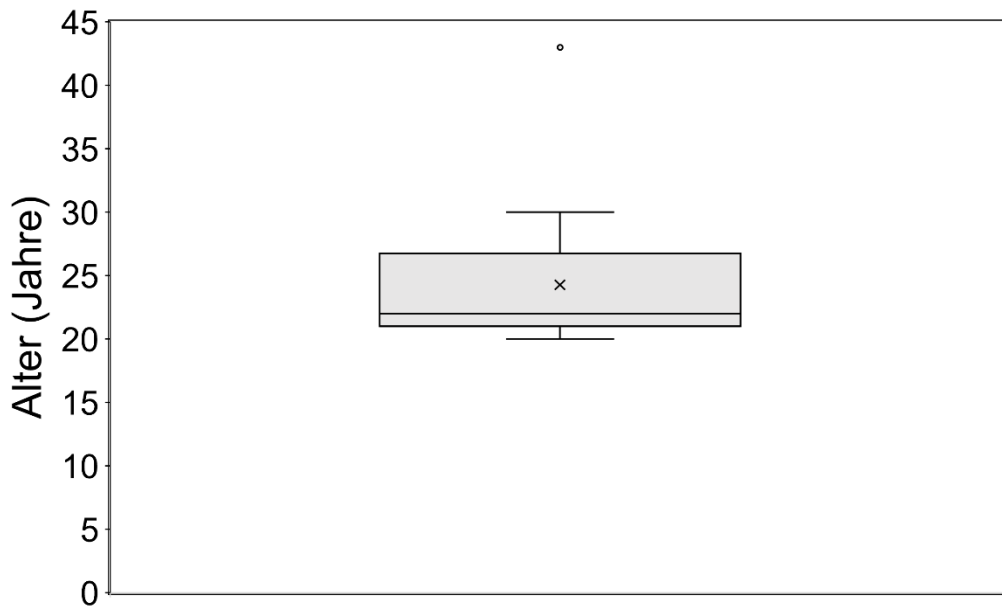


Abbildung 3: Altersverteilung der Probanden.

2.3 Versuchsaufbau

2.3.1 Zeitraum der Messungen

Die Messungen wurden im Zeitraum vom 4.12.2018 – 29.05.2019 durchgeführt. In der Regel erfolgten ophthalmologische Voruntersuchung und Versuchsdurchführung am gleichen Tag. Die Versuchsdauer betrug ca. eine Stunde (hiervon insgesamt ca. 20 min Messdauer und 30 min Adaptationszeit). Um tageszeitbedingte Schwankungen des Pupillendurchmessers möglichst zu reduzieren, wurden 90% (n = 27) der Messungen zwischen 8:30 Uhr und 14:30 Uhr durchgeführt. Zwei Messungen erfolgten früher (Beginn 7:00 Uhr bzw. 7:30 Uhr), eine Messung erfolgte später (Beginn 16:00 Uhr). Zusätzlich wurden die Probanden gebeten, in der Nacht vorher auf ausreichend Schlaf zu achten, um schläfrigkeitsbedingte Pupillenoszillationen (Loewenfeld 1993a, Wilhelm H et al. 1998, Wilhelm B et al. 2001) zu minimieren.

2.3.2 Versuchsraum

Die Versuche wurden in einem ca. 10 m² großen, komplett dunklen, fensterlosen und leisen Laborraum auf Ebene 1 der Augenklinik durchgeführt.

2.3.3 Aufbau der Chromatischen Pupillenkampimetrie

Es wurde eine modifizierte Version der chromatischen Pupillenkampimetrie nach Kelbsch et. al. (2019a) verwendet mittels der eine der zapfen- und stäbchenspezifischen Stimulation möglich ist. Die Stimuli wurden durch einen OLED-Monitor (LG OLED 55C7V), der 40 cm vor den Augen der Probanden lokalisiert war, präsentiert. Zur Fixation diente ein Punkt in der Mitte des Monitors mit einer Leuchtdichte von $0,01 \text{ cd/m}^2$ und einem Radius von 1° . Unterhalb des OLED-Monitors war eine Infrarotkamera (DMK23UV024, The Imaging Source GmbH) mit einer 50-mm TV-Lens 1:1.4 und einer zeitlichen Auflösung von 10ms angebracht, die das Auge der Probanden kontinuierlich filmte, um die Pupillengröße in Echtzeit zu messen (Stingl K et al. 2018). Die Probanden saßen gegenüber dem Monitor auf einem bequemen Stuhl (siehe Abbildung 4). Zur Gewährleistung einer stabilen Kopfhaltung sowie einer komfortablen Position wurde der Kopf der Probanden in einer Kinn- und Kopfstütze positioniert, die auch bei der ophthalmologischen Untersuchung mittels Spaltlampe zum Einsatz kommt. Die Arme konnten die Probanden auf dem Tisch auflegen. Gemessen wurde nur das linke Auge. Das rechte Auge war während der gesamten Versuchszeit mit einer Augenklappe bedeckt. Die Messung erfolgte ohne Brille. Der Untersucher saß hinter einer Trennwand an einem Computer, der mit einer dunkelroten Folie (Infrarotfilter) bedeckt und dessen Bildschirmhelligkeit auf ein Minimum reduziert war, um Dunkelheit im Raum zu gewährleisten. Über den Computer steuerte der Untersucher gemäß Stingl K et al. (2018) mittels einer Inhouse-Software die Präsentation der Stimuli. Die Pupillengröße wurde über diese Software mittels eines Inhouse-Algorithmus kontinuierlich berechnet und aufgezeichnet. Die Java-basierte Inhouse-Software verwendete einen modifizierten Starburst-Algorithmus (Li et al. 2005) zur Ermittlung des Rands der Pupille auf dem Kamerabild, der zur Berechnung des Pupillendurchmessers herangezogen wurde (Stingl K et al. 2018). Durch die ermittelten Punkte des Pupillenrands wurde mittels eines Random Sample Consensus (RANSAC) Approaches (Fischler und Bolles 1981) eine Ellipse gefittet, sodass Pupillenzentrum und -durchmesser in Echtzeit bestimmt werden konnten (Stingl K et al. 2018). Der Algorithmus weist einen geschätzten Fehler von ca. 1 - 2 Pixel

auf, was 0,1 mm pro Bild entspricht und ähnlich zu anderen vergleichbaren Programmen ist (Krunoslav Stingl, persönliche Mitteilung, 18. November 2020). Neben der graphischen Live-Aufzeichnung der Pupillengröße konnte der Untersucher über den Computer-Monitor das Echtzeit-Video des untersuchten Auges einsehen, die Fixation kontrollieren und gegebenenfalls eine Anpassung der Empfindlichkeit des Algorithmus zur Berechnung der Ellipse um die Pupille vornehmen.



Abbildung 4: Versuchsaufbau.

Die Probanden saßen gegenüber dem großen Monitor, der die Stimuli präsentierte, im Abstand von 40 cm auf einem Stuhl. Der Untersucher befand sich hinter einer Trennwand und konnte die Untersuchung über einen abgedunkelten Computerbildschirm steuern und verfolgen. (Bildquelle: Sonntag et al. 2021)

2.3.4 Stimulusdesign und -Spezifität

Ziel war es, Zapfen und Stäbchen bei gleichzeitiger Gewährleistung klinischer Praktikabilität so spezifisch wie möglich zu stimulieren. Als Basis dienten stäbchen- und zapfenspezifische Stimuli aus einer Studie von Kelbsch et al. (2019a). In dieser Arbeit hatten Patienten mit Zapfen- oder Stäbchendysfunktion

stark reduzierte Pupillenantworten auf fokale zapfen- beziehungsweise stäbchenspezifische Stimuli gezeigt. Da in der vorliegenden Arbeit jedoch anstelle von kleinen fokalen Stimuli größere Reizflächen verwendet werden sollten, war es notwendig, die Leuchtdichte des zapfenspezifischen Stimulus im Vergleich zu der von Kelbsch et al. verwendeten Leuchtdichte zu reduzieren, um nicht das mechanische Limit des M. sphincter pupillae zu erreichen. Die entsprechende Leuchtdichte wurde in einem Vorversuch eruiert, bei dem ein Mitarbeiter des Instituts als Proband diente. Der 40°-Ganzfeld-Stimulus wurde in verschiedenen Leuchtdichten präsentiert, um zu ermitteln, ab welcher Leuchtdichte die maximale Pupillenkonstriktion sicher nicht mehr erreicht wird.

Wellenlänge, Helligkeit und Dauer der Stimuli wurden außerdem unter Berücksichtigung des seit langer Zeit etablierten ISCEV Standards für klinische Ganzfeld-Elektroretinographie (ERG) (McCulloch et al. 2015) sowie den Standards in der Pupillographie (Kelbsch et al. 2019b) entwickelt. Beide Standards empfehlen ein Stimulusspektrum, das die unterschiedliche spektrale Empfindlichkeit von Zapfen und Stäbchen berücksichtigt. Der ISCEV-Standard empfiehlt des Weiteren ein dunkel-adaptiertes $0,01 \text{ cd}\cdot\text{s}\cdot\text{m}^{-2}$ – $0,025 \text{ cd}\cdot\text{s}\cdot\text{m}^{-2}$ ERG für eine durch Stäbchen ausgelöste Antwort und ein hell-adaptiertes $3 \text{ cd}\cdot\text{s}\cdot\text{m}^{-2}$ - $7.5 \text{ cd}\cdot\text{s}\cdot\text{m}^{-2}$ ERG für eine durch Zapfen ausgelöste Antwort (McCulloch et al. 2015). Die Standards in der Pupillographie empfehlen einen schwachen, kurzwelligen und kurzen Stimulus (z. B. 4ms, 0,01 lux corneale Beleuchtung) nach längerer Dunkeladaption zur bevorzugten Adressierung von Stäbchen sowie einen helleren, langwelligen und längeren Stimulus (z. B. 1000ms, 28 lux corneale Beleuchtung) nach 10-minütiger Helladaption, ggf. auf einem Stäbchen-desensitivierenden Hintergrund zur bevorzugten Adressierung von Zapfen (Kelbsch et al. 2019b). Das Verwenden zweier verschiedener Adaptionzustände für zapfen-/stäbchenspezifische Stimuli beeinflusst ebenfalls die spezifische Adressierung der Photorezeptoren.

2.3.5 Stimuluseigenschaften

2.3.5.1 Zapfenspezifische Stimuli: photopische CPC (photCPC)

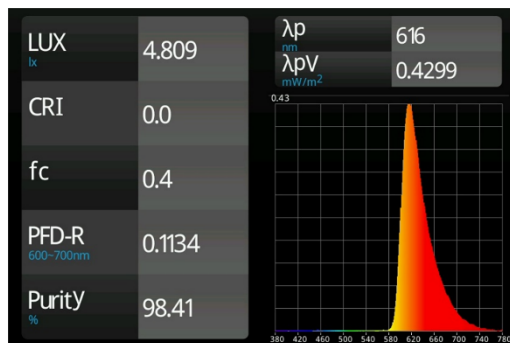
Als L-zapfenspezifische Stimuli kamen Lichtreize mit einer Leuchtdichte von 4cd/m^2 und einer Wellenlänge von $620 \pm 30\text{ nm}$ Halbwertsbreite zum Einsatz. Sie hatten eine Dauer von jeweils 1000 ms und wurden auf einem schwach-blauen Hintergrund mit einer Leuchtdichte von $0,01\text{ cd/m}^2$ und einer Wellenlänge von $460 \pm 30\text{ nm}$ Halbwertsbreite präsentiert. Um eine partielle Sättigung der Stäbchen zu erreichen, erfolgte vor der Stimuluspräsentation eine 10-minütige Lichtadaptation der Probanden an diesen Hintergrund.

2.3.5.2 Stäbchenspezifische Stimuli: skotopische CPC (scotCPC)

Als stäbchenspezifische Stimuli kamen Lichtreize mit einer Leuchtdichte von $0,001\text{ cd/m}^2$ und einer Wellenlänge von $460 \pm 30\text{ nm}$ Halbwertsbreite zum Einsatz. Sie hatten eine Dauer von jeweils 100 ms und wurden auf einem komplett dunklen Hintergrund (0 cd/m^2) gemäß den ISCEV-Standards für Elektroretinographie (McCulloch et al. 2015) sowie den Standards für Pupillographie (Kelbsch et al. 2019b) nach 20-minütiger Dunkeladaptation präsentiert.

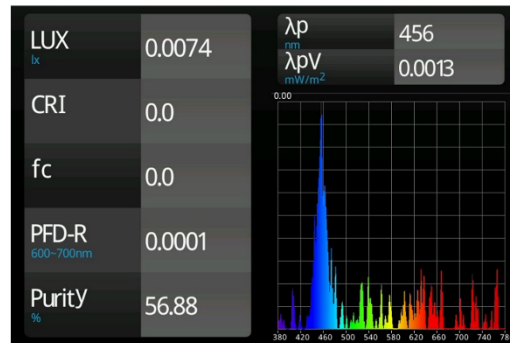
Energie und Wellenlänge der Stimuli wurden einmalig mittels eines LED-Spektrometers (MK-350S-Premium, UPRTek, Taiwan), das an die Position des linken Auges der Probanden gehalten wurde, gemessen. Abbildung 5 zeigt die entsprechenden Ergebnisse.

photCPC

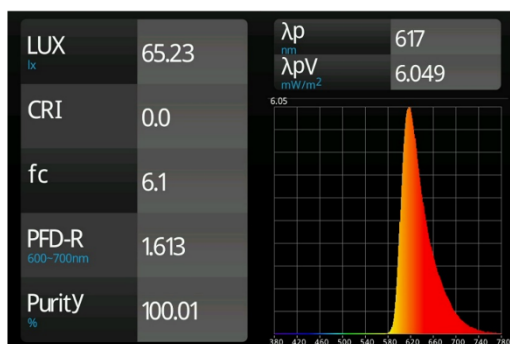


Verwendete Intensität (4 cd/m²)

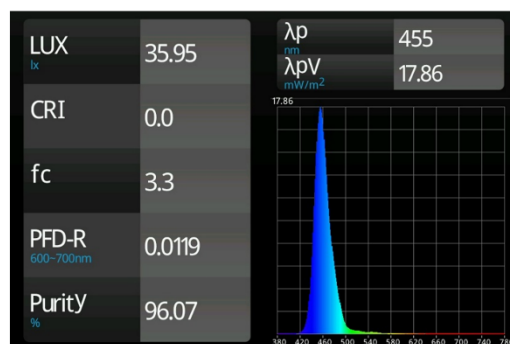
scotCPC



Verwendete Intensität (0,001 cd/m²)



Volle Intensität



Volle Intensität

Abbildung 5: Energie und Spektrum der verwendeten Stimuli.

Gezeigt ist das jeweilige Messergebnis bei voller und der im Versuch verwendeten Intensität.

Die Graphik verdeutlicht, dass Schmalbandstimuli verwendet wurden. Die vereinzelt Balken im Bereich höherer Wellenlängen bei 0,001 cd/m² in der scotCPC können als Rauschen interpretiert werden. (Bildquelle: Sonntag et al. 2021)

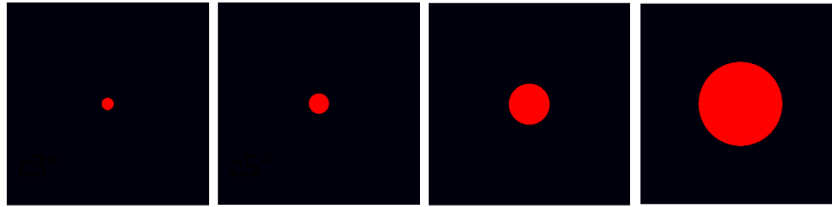
2.3.6 Stimulismorphologie

Es wurden verschiedene Kreis- und Ringstimuli präsentiert, deren Mittelpunkt sich stets im Zentrum des Monitors befand. Zur Verwendung kamen fünf gefüllte Kreise mit Radien von 3°, 5°, 10°, 20° und 40°, sowie vier Ringe mit einem konstanten Außenradius von 40° und Innenradien von 3°, 5°, 10°, 20°. Das theoretische Übereinanderlegen eines Kreisstimulus (z. B. Radius 3°) mit einem passenden Ringstimulus (z. B. Innenradius 3°) ergab jeweils einen 40° Ganzfeld-Stimulus. Abbildung 6 verdeutlicht die Morphologie der verwendeten Stimuli sowie die im Folgenden verwendeten Abkürzungen.

Stimulismorphologie

9 verschiedene Stimuli für Zapfen und Stäbchen,
10 Wiederholungen

Kreise:



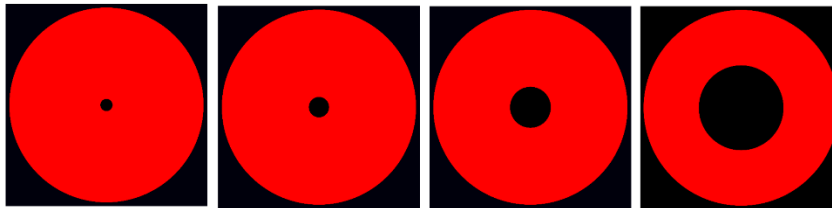
c3°

c5°

c10°

c20°

Ringe:

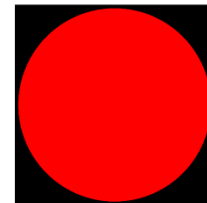


r3°/40°

r5°/40°

r10°/40°

r20°/40°



c40°

Abbildung 6: Morphologie der verwendeten Stimuli.

Gezeigt sind außerdem die entsprechenden Abkürzungen, welche im Folgenden verwendet werden. Es sind die stäbchenspezifischen Stimuli (photCPC) (rot) abgebildet. (Bildquelle: Sonntag et al. 2021)

Die Fläche der verwendeten Stimuli in Grad im Quadrat (deg^2), berechnet mittels $A = \pi r^2$ (A = Fläche, r = Stimulusradius) ist in Tabelle 2 dargestellt. Zusätzlich ist die Corneal Flux Density (CFD), also das Produkt aus Stimulusleuchtdichte und -fläche, vermerkt.

Tabelle 2: Fläche (deg^2) und CFD ($\text{cd}/\text{m}^2 \bullet \text{deg}^2$) der verwendeten Stimuli.

Die Fläche wurde auf ganze Zahlen gerundet, die CFD auf ganze Zahlen für photCPC und zwei Dezimalstellen für scotCPC. (Tabelle modifiziert nach Sonntag et al. 2021)

Stimulus	Fläche (deg^2)	CFD photCPC ($\text{cd}/\text{m}^2 \bullet \text{deg}^2$)	CFD scotCPC ($\text{cd}/\text{m}^2 \bullet \text{deg}^2$)
c3°	28	113	0,03
c5°	79	314	0,08
c10°	314	1257	0,31
c20°	1257	5027	1,26
c40°	5027	20106	5,03

r20°/40°	3770	15080	3,77
r10°/40°	4712	18850	4,71
r5°/40°	4948	19792	4,95
r3°/40°	4998	19993	5,00

2.3.7 Stimulusprotokoll/Versuchsablauf

Nach 10-minütiger Helladaptation erfolgte zunächst die Präsentation der zapfenspezifischen Stimuli (photCPC), gefolgt von einer 20-minütigen Dunkeladaptation und der Präsentation der stäbchenspezifischen Stimuli (scotCPC). Es wurden 9 verschiedene Stimuli jeweils für Zapfen und Stäbchen präsentiert (siehe Kapitel 2.3.6). Jeder Stimulustyp wurde 10-mal wiederholt, bevor der nächste präsentiert wurde. Zuerst wurden in jedem Protokoll die Kreise präsentiert, sortiert nach ansteigender Fläche. Es folgte die Präsentation der Ringe, ebenfalls nach ansteigender Fläche sortiert. Einen graphischen Überblick über den Versuchsablauf bietet Abbildung 7.

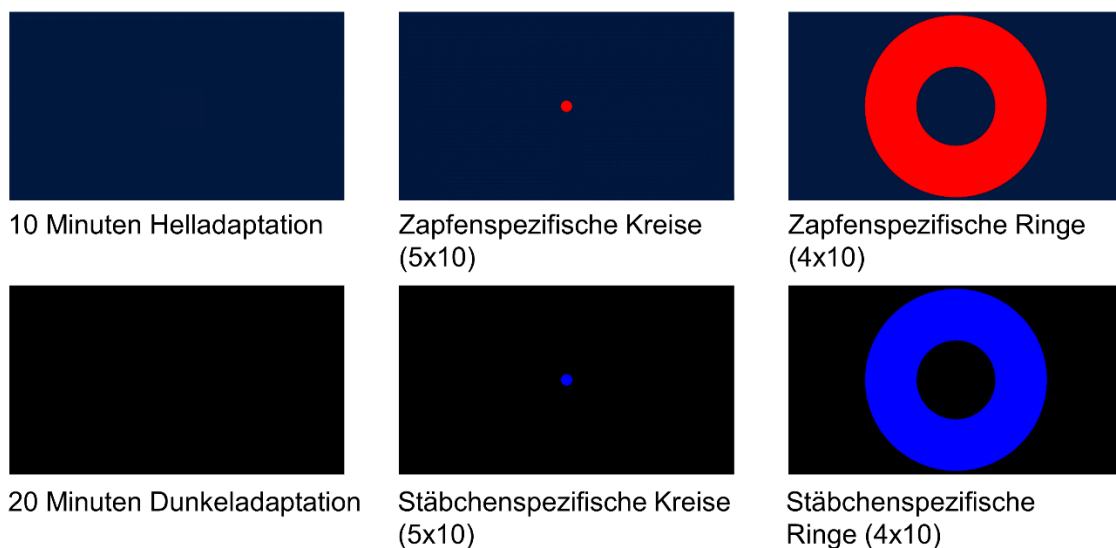


Abbildung 7: Chronologische Abfolge des Versuchs.

Der Zeitraum für die Berechnung der Pupillenausgangsweite (PAW) betrug vor jeder Stimuluspräsentation 500 ms, das Interstimulus-Intervall (d. h. die Zeit zwischen Stimulusende und Beginn des nächsten Stimulus) betrug 4500 ms. Die Pupillenausgangsweite vor jedem Stimulus wurde für jedes Pupillogramm separat in Echtzeit berechnet. Wenn mindestens 90 % des initialen

Pupillendurchmessers vor der Präsentation des nächsten Stimulus nicht erreicht wurden oder während der Präsentation ein Blinzelvorgang erfasst wurde, erfolgte eine automatische Wiederholung der Stimuluspräsentation durch das Programm.

2.4 Statistische Datenanalyse

2.4.1 Analyse der Pupillogramme und Artefaktbereinigung

Die Pupillogramme wurden mittels einer Inhouse-Software und eines Algorithmus nach Stingl K et al. (2018) via The MathWorks, Inc Matlab, Version R2018b offline analysiert. Durch Blinzeln verursachte Artefakte wurden basierend auf der hierdurch bedingten Veränderung der Standardabweichung der Kurve ermittelt und mittels linearer Interpolation eliminiert (Kelbsch et al. 2019a). Einzelne Pupillogramme, bei denen ein Blinzeln zwischen 500 und 900 ms zu erkennen war oder bei denen die maximale Pupillenkonstriktion aufgrund von Blinzelarartefakten nicht zuverlässig zu ermitteln war, wurden manuell aus der weiteren Analyse ausgeschlossen. Sofern kein Pupillogramm wegen Artefakten ausgeschlossen werden musste, wurde für jeden Probanden eine mittlere Kurve aus 10 individuellen Pupillogrammen pro Stimulus-Kondition gebildet und für die weitere Analyse verwendet.

2.4.2 Analytierte Parameter

Es wurden mittels The MathWorks, Inc Matlab, Version R2018b die folgenden Parameter ermittelt:

- **Relative maximale Pupillenkonstriktion (relMCA) (%)**: Maximum der relativen Pupillenkonstriktion nach Stimuluspräsentation. Es wurde mittels folgender Formel berechnet; t = Zeit:

$$\text{amplitude}_{\text{rel}}(t) = \frac{\text{baseline} - \text{amplitude}_{\text{absolute}}(t)}{\text{baseline}} * 100 \text{ (Kelbsch et al. 2019a)}$$

- **Latenzzeit bis zum Beginn der Konstriktion (Latenz) (ms)**: Als Maß hierfür wurde der zeitliche Abstand zwischen Stimuluspräsentation und Schnittpunkt der Grundlinie (Pupillenausgangsweite) mit einer gefitteten Geraden durch den absteigenden Bereich des Pupillogramms nach Stimuluspräsentation herangezogen. Dieser wurde mittels eines Inhouse-Algorithmus berechnet. Zur Berechnung der Grundlinie wurden 50 Punkte zwischen 0 und 500 ms

verwendet. Zur Berechnung des Geradenfits durch den absteigenden Bereich des Pupillogramms wurden 20 auf dem Pupillogramm befindliche Punkte herangezogen, die unmittelbar vor und nach dem ersten Wendepunkt der Kurve lokalisiert waren und dem Intervall mit der stärksten Steigung um den Wendepunkt entsprachen.

- **Pupillenausgangsweite (PAW) (mm):** Durchschnitt der Pupillenweite zwischen 0 und 500 ms.

Abbildung 8 verdeutlicht die obigen Parameter exemplarisch anhand eines Beispieldupillogramms.

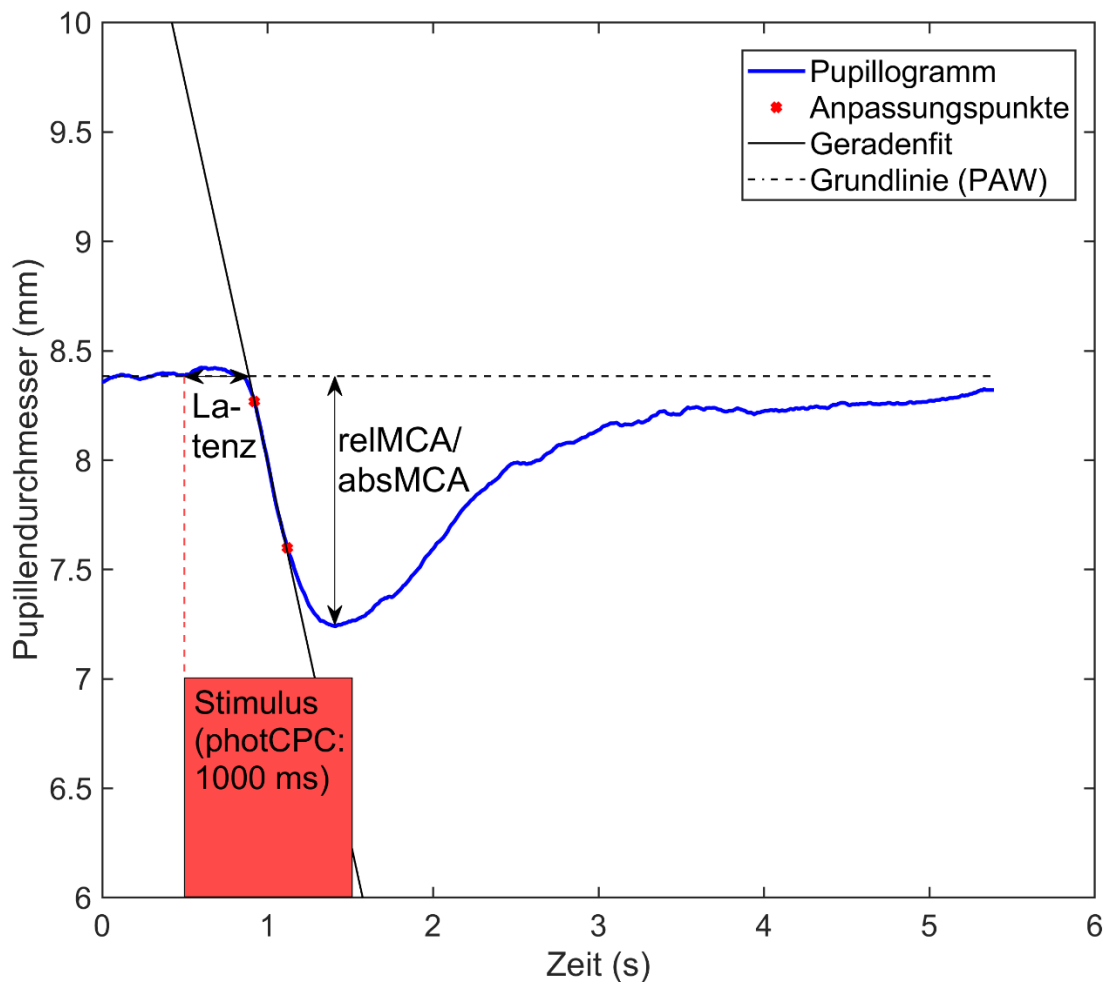


Abbildung 8: Beispieldupillogramm mit den ermittelten Parametern. (SCK 10, c10°, photCPC). Die blaue Linie stellt das gemittelte Pupillogramm aus 10 Wiederholungen dar. Die gestrichelte schwarze Linie (Grundlinie) verdeutlicht die mittlere Pupillenausgangsweite (PAW, mittlere Pupillenweite zwischen 0 und 500 ms). Die durchgezogene schwarze Linie stellt den Geradenfit durch den absteigenden Bereich des Pupillogramms dar. Mittels zweier roter Kreuze sind 2

der 20 um den Wendepunkt der Kurve herum lokalisierten Punkte dargestellt, die zur Berechnung des Geradenfits herangezogen wurden. Die zeitliche Lokalisation des Stimulus wird durch das rote Rechteck sowie die rote gestrichelte Linie visualisiert. (Graphik modifiziert nach Sonntag et al. 2021)

2.4.3 In der Auswertung berücksichtigte Daten

Bevor die gemittelten Pupillogramme aller 30 Probanden gesichtet wurden, musste ein Proband (SCK19, 21 Jahre alt) erneut einbestellt werden, da sich während seiner Messung bereits abgezeichnet hatte, dass die gewonnenen Daten aufgrund starker schläfrigkeitsbedingter Pupillenoszillationen nicht verwertbar waren. In die Datenanalyse wurde daher nur das Ergebnis der zweiten Messung dieses Probanden miteinbezogen.

Nach Artefaktbereinigung der Pupillogramme (siehe Kapitel 2.4.1) wurden vor Durchführung der deskriptiven Statistik und statistischen Testung die relMCAs aller Probanden gesichtet. Da die relMCAs eines Probanden (SCK2, 20 Jahre alt) in der scotCPC zwei Standardabweichungen vom Rest der Teilnehmer abwichen, wurde dieser aus der weiteren statistischen Analyse ausgeschlossen. Es wurden folglich Messungen von 29 der 30 Probanden (= 97 %) in die statistische Auswertung eingeschlossen.

2.4.4 Statistische Tests

Die deskriptive statistische Auswertung erfolgte mit Microsoft Excel 2019, die Durchführung der statistischen Testungen und Erstellung von Histogrammen mit IBM SPSS Statistics Version 25.0.0.1.

Es wurden die relMCAs, Latenzen und Pupillenausgangswerten von 29 Probanden (97%) statistisch analysiert.

Unter fast allen Bedingungen war gemäß Kolmogorov-Smirnov-Test und Shapiro-Wilk-Test sowie gemäß graphischer Beurteilung eine Normalverteilung der Daten gegeben und die Voraussetzungen zum parametrischen Testen waren somit erfüllt. Nur unter wenigen Testbedingungen zeigten sich geringe Abweichungen von der Normalverteilung. T-Test (Rasch und Guiard 2004, Pagano 2009b, Bortz und Schuster 2010c, Herzog et al. 2019), ANOVA mit Messwiederholung (Pagano 2009a, Bortz und Schuster 2010a, Blanca et al. 2017) und Signifikanztest für Korrelationskoeffizienten nach Pearson (Havlicek und Peterson 1977, Bortz und Schuster 2010b) sind bei gleich großen

Stichproben relativ robust gegenüber Abweichungen von der Normalverteilung. Daher wurden die geringen Abweichungen bei nur wenigen Testbedingungen als vernachlässigbar gewertet und die genannten parametrischen Verfahren dennoch für alle Daten angewandt, um durch Testkonsistenz eine bessere Vergleichbarkeit der Testergebnisse zu gewährleisten und auf Nachteile nicht-parametrischer Tests zu verzichten.

Ein p-Wert unter 0,05 wurde als statistisch signifikant gewertet. Die Ergebnisse werden im Folgenden in der Form von $X \pm$ Standardabweichung (SD) präsentiert. relMCAs und Pupillenausgangswerten wurden auf eine Dezimale, Latenzen auf ganze Zahlen gerundet.

2.4.4.1 relMCA

Zwischen den verschiedenen relMCAs auf Kreis- beziehungsweise Ringstimuli wurde jeweils für photCPC und scotCPC eine ANOVA mit Messwiederholung mit Bonferroni-korrigierten Post-hoc-T-Tests (zweiseitig, verbundene Stichproben) durchgeführt. Außerdem wurde ein zweiseitiger T-Test für verbundene Stichproben zwischen den relMCAs in photCPC und scotCPC durchgeführt. Ferner wurden die Differenzen der relMCAs zwischen dem 20°/40°- und dem 3°/40°-Ringstimulus jeweils für photCPC und scotCPC berechnet und ein zweiseitiger T-Test für verbundene Stichproben zwischen diesen durchgeführt. Überdies wurde die Beziehung von relMCA und Logarithmus der Stimulusfläche sowie relMCA und CFD ermittelt. Schließlich wurden zur Untersuchung von Summationseffekten die relMCAs der korrespondierenden Kreis- und Ringstimuli, die zusammen virtuell übereinandergelegt einen 40°-Ganzfeld-Stimulus ergeben, aufsummiert. Zwischen den so erhaltenen summierten relMCAs und dem 40°-Ganzfeld-Stimulus wurde ebenfalls jeweils für photCPC und scotCPC eine ANOVA mit Messwiederholung mit Bonferroni-korrigierten Post-hoc-T-Tests (zweiseitig, verbundene Stichproben) durchgeführt.

2.4.4.2 Latenz

Zwischen den verschiedenen Latenzen auf Kreis- beziehungsweise Ringstimuli wurde jeweils für photCPC und scotCPC eine ANOVA mit Messwiederholung mit Bonferroni-korrigierten Post-hoc-T-Tests (zweiseitig, verbundene Stichproben)

durchgeführt. Außerdem wurde ein zweiseitiger T-Test für verbundene Stichproben zwischen den Latenzen in CPCphot und CPCscot durchgeführt. Ferner wurde die Beziehung von Latenz und Logarithmus der Stimulusfläche sowie Latenz und CFD ermittelt.

2.4.4.3 PAW

Zwischen den verschiedenen PAWs bei Präsentation von Kreisbeziehungsweise Ringstimuli wurde jeweils für photCPC und scotCPC eine ANOVA mit Messwiederholung durchgeführt. Ferner wurden PAW und relMCA für phot- und scotCPC nach Pearson auf statistisch signifikante Korrelation geprüft.

3 Ergebnisse

Teile dieses Kapitels wurden bereits veröffentlicht in:

Sonntag A, Kelbsch C, Jung R, Wilhelm H, Strasser T, Peters T, Stingl K, Wilhelm B (2021) Effect of central and peripheral cone- and rod-specific stimulation on the pupillary light reflex. *Int Ophthalmol.* doi:10.1007/s10792-021-02132-1 Epub ahead of print.

3.1 Relative Amplituden der Pupillenlichtreaktion

3.1.1 *relMCAs in photCPC*

Tabelle 3 und Abbildung 13 zeigen Lage- und Streuungsmaße der relMCAs auf zapfenspezifische Stimuli in der photCPC.

Tabelle 3: Lage- und Streuungsmaße der relMCAs auf zapfenspezifische Stimuli (photCPC).

Stimulus	c3°	c5°	c10°	c20°	c40°	r20°/ 40°	r10°/ 40°	r5°/ 40°	r3°/ 40°
Minimum	6,2	8,5	13,6	16,7	24,7	13,8	18,4	22,3	21,6
Maximum	29,1	34,6	35,6	37,1	42,4	38,7	38,9	39,6	41,4
Median	15,6	18,6	23,2	27,7	33,6	22,9	27,1	30,1	30,9
Mittelwert	16,2	18,7	22,9	27,7	33,0	22,4	26,4	29,4	30,8
Standardabweichung	6,3	6,8	5,8	4,6	4,1	5,9	5,2	4,3	4,6

Zapfenspezifische Kreise

Mit zunehmender Fläche eines Kreisstimulus stiegen auch die relMCAs. Eine ANOVA mit Messwiederholung mit Greenhouse-Geisser-Korrektur ergab einen signifikanten Einfluss der Stimulusfläche auf die relMCA ($p < 0,001$). Die mittlere relMCA auf einen 3°-Kreisstimulus betrug $16,2 \pm 6,3$ %, die mittlere relMCA auf einen 40°-Kreisstimulus betrug $33,0 \pm 4,1$ %. Dieser Unterschied war statistisch signifikant ($p < 0,001$). Ebenso statistisch signifikant waren die Unterschiede zwischen den mittleren relMCAs auf die verschiedenen anderen Kreisstimuli ($p = 0,007$ zwischen den relMCAs auf c3° und c5°; $p < 0,001$ zwischen den anderen relMCAs).

Zapfenspezifische Ringe

Auch mit zunehmender Fläche eines Ringstimulus stiegen die relMCAs an. Eine ANOVA mit Messwiederholung mit Greenhouse-Geisser-Korrektur ergab für Ringe ebenfalls einen signifikanten Einfluss der Stimulusfläche auf die relMCA ($p < 0,001$). Die mittlere relMCA auf einen $20^\circ/40^\circ$ -Ringstimulus betrug $22,4 \pm 5,9$ %, die mittlere relMCA auf einen $3^\circ/40^\circ$ -Ringstimulus betrug $30,8 \pm 4,6$ %. Auch dieser Unterschied war statistisch signifikant ($p < 0,001$). Ebenso die Unterschiede zwischen den mittleren relMCAs auf die verschiedenen anderen Ringstimuli ($p < 0,001$).

Abbildung 9 zeigt den Verlauf der mittleren relMCAs auf zapfenspezifische Kreise und Ringe aller 29 Probanden. Es zeigt sich insgesamt eine deutlich ansteigende Tendenz sowohl bei Kreis- als auch bei Ringstimuli.

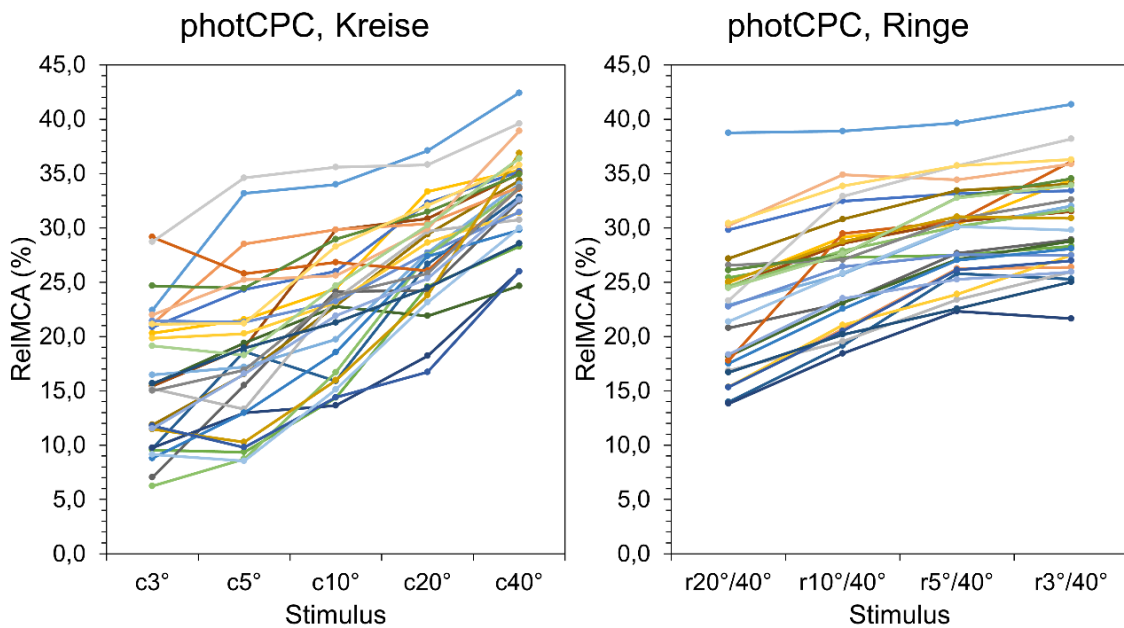


Abbildung 9: Verlauf der mittleren relMCAs der 29 Probanden auf zapfenspezifische Kreis- und Ringstimuli (photCPC).

Abbildung 10 zeigt exemplarisch die aus 10 Pupillogrammen gemittelten Kurven des Probanden SCK01 auf die 9 verschiedenen zapfenspezifischen Stimuli.

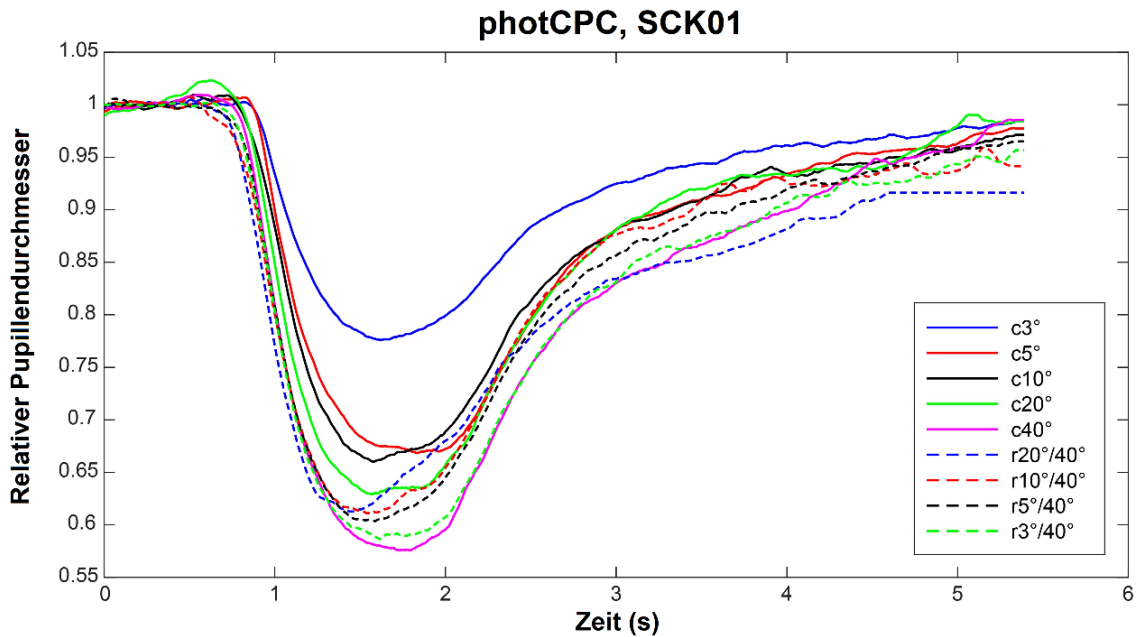


Abbildung 10: Aus 10 Wiederholungen gemittelte Pupillogramme des Probanden SCK01 auf zapfenspezifische Stimuli (photCPC). (Graphik und Beschriftung: Sonntag et al. 2021)

3.1.2 *relMCAs in scotCPC*

Tabelle 4 und Abbildung 13 zeigen Lage- und Streuungsmaße der relMCAs auf stäbchenspezifische Stimuli in der scotCPC.

Tabelle 4: Lage- und Streuungsmaße der relMCAs auf stäbchenspezifische Stimuli (scotCPC).

Stimulus	c3°	c5°	c10°	c20°	c40°	r20°/ 40°	r10°/ 40°	r5°/ 40°	r3°/ 40°
Minimum	1,9	4,0	7,1	10,7	14,2	9,9	9,5	10,7	10,0
Maximum	17,5	20,1	21,1	25,1	28,9	25,9	27,4	27,8	29,4
Median	6,8	10,0	13,2	16,9	19,2	15,5	17,4	18,6	18,6
Mittelwert	7,4	10,1	13,1	17,0	20,1	16,7	17,9	18,5	18,9
Standardabweichung	3,3	3,6	3,4	4,2	4,6	5,0	5,0	4,8	5,1

Stäbchenspezifische Kreise

Analog zu den Ergebnissen der photCPC stiegen auch in der scotCPC die relMCAs mit zunehmender Fläche eines Kreisstimulus an. Eine ANOVA mit Messwiederholung mit Greenhouse-Geisser-Korrektur ergab ebenfalls einen

signifikanten Einfluss der Stimulusfläche auf die relMCA ($p < 0,001$). Die mittlere relMCA auf einen 3° -Kreisstimulus betrug $7,4 \pm 3,3$ %, die mittlere relMCA auf einen 40° -Kreisstimulus betrug $20,1 \pm 4,6$ %. Dieser Unterschied war statistisch signifikant ($p < 0,001$). Ebenso die Unterschiede zwischen den mittleren relMCAs auf die verschiedenen anderen Kreisstimuli ($p < 0,001$).

Stäbchenspezifische Ringe

Auch mit zunehmender Fläche eines Ringstimulus stiegen die relMCAs an, wenngleich nur sehr gering. Eine ANOVA mit Messwiederholung ergab für Ringe dennoch ebenfalls einen signifikanten Einfluss der Stimulusfläche auf die relMCA ($p < 0,001$). Die mittlere relMCA auf einen $20^\circ/40^\circ$ -Ringstimulus betrug $16,7 \pm 5,0$ %, die mittlere relMCA auf einen $3^\circ/40^\circ$ -Ringstimulus betrug $18,9 \pm 5,1$ %. Auch dieser Unterschied war statistisch signifikant ($p < 0,001$). Ebenso die Unterschiede zwischen den mittleren relMCAs auf die verschiedenen anderen Kreisstimuli ($p \leq 0,001$) mit Ausnahme der Unterschiede der relMCAs zwischen $r10^\circ/40^\circ$ und $r5^\circ/40^\circ$ sowie $r5^\circ/40^\circ$ und $r3^\circ/40^\circ$. Diese Unterschiede waren so klein, dass sie nicht statistisch signifikant waren.

Abbildung 11 zeigt den Verlauf der mittleren relMCAs auf stäbchenspezifische Ringe und Kreise aller 29 Probanden. Es zeigt sich insgesamt eine deutlich ansteigende Tendenz bei Kreisstimuli und eine nur minimal ansteigende Tendenz bei Ringstimuli.

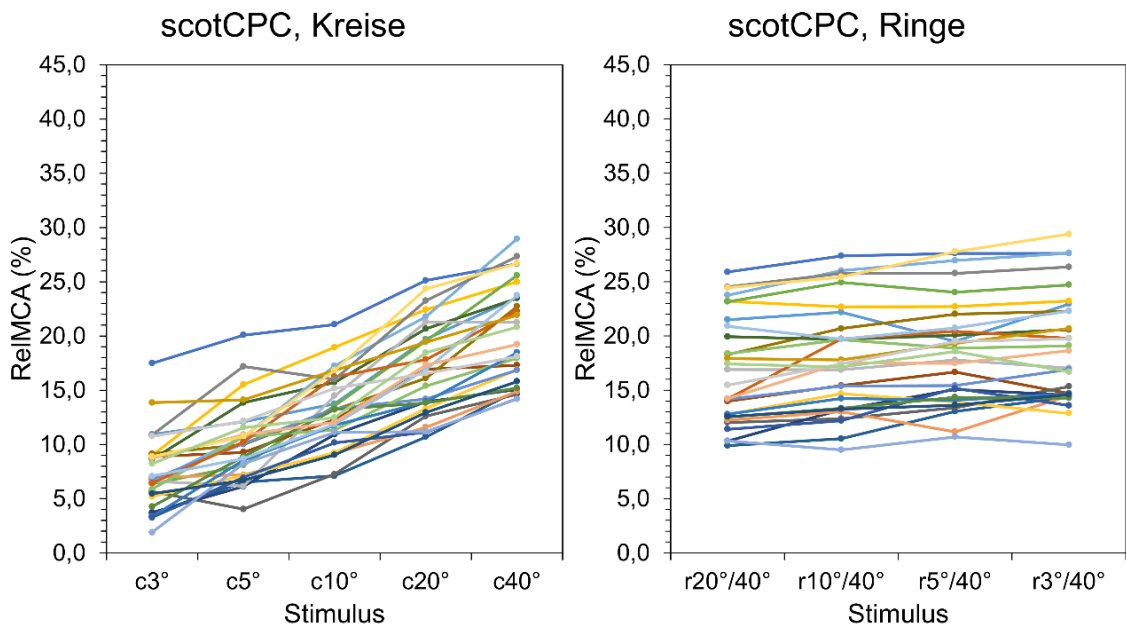


Abbildung 11: Verlauf der mittleren relMCAs der 29 Probanden auf stäbchenspezifische Kreis- und Ringstimuli (scotCPC).

Abbildung 12 zeigt exemplarisch die gemittelten Kurven des Probanden SCK01 auf die 9 verschiedenen stäbchenspezifischen Stimuli.

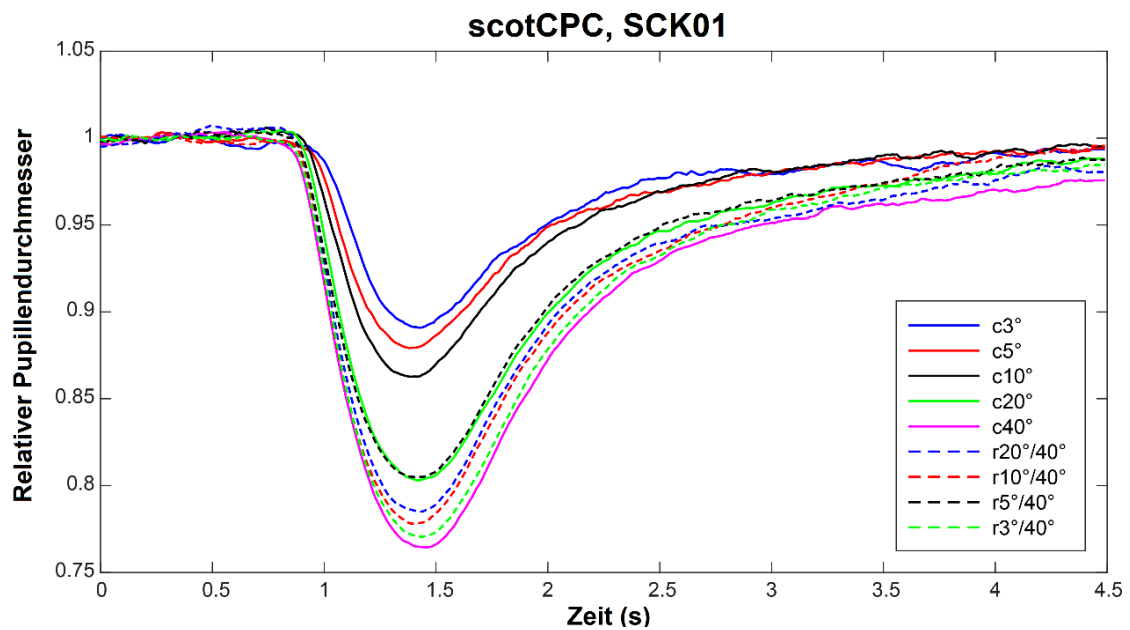


Abbildung 12: Aus 10 Wiederholungen gemittelte Pupillogramme des Probanden SCK01 auf stäbchenspezifische Stimuli (scotCPC). (Graphik und Beschriftung: Sonntag et al. 2021)

3.1.3 Vergleich der reIMCAs unter Zapfen- bzw. Stäbchenbedingungen

Abbildung 13 zeigt eine Übersicht der zapfenspezifischen (photCPC) und stäbchenspezifischen reIMCAs (scotCPC) auf die verschiedenen Stimuli.

Insgesamt zeigen sich im stäbchenspezifischen Protokoll mit durchschnittlich $15,5 \pm 6,0$ % signifikant kleinere reIMCAs als im zapfenspezifischen Protokoll mit durchschnittlich $25,3 \pm 7,5$ % ($p < 0,001$). Ebenso ist ersichtlich, dass der Anstieg der reIMCAs auf Ringstimuli ansteigender Fläche für stäbchenspezifische Stimuli deutlich kleiner ausfällt als für Zapfen. Für zapfenspezifische Stimuli ergab sich eine absolute Differenz $8,4 \pm 3,4$ % zwischen dem $20^\circ/40^\circ$ and dem $3^\circ/40^\circ$ -Ring. Für stäbchenspezifische Stimuli war die entsprechende Differenz signifikant kleiner mit $2,2 \pm 1,7$ % ($p < 0,001$).

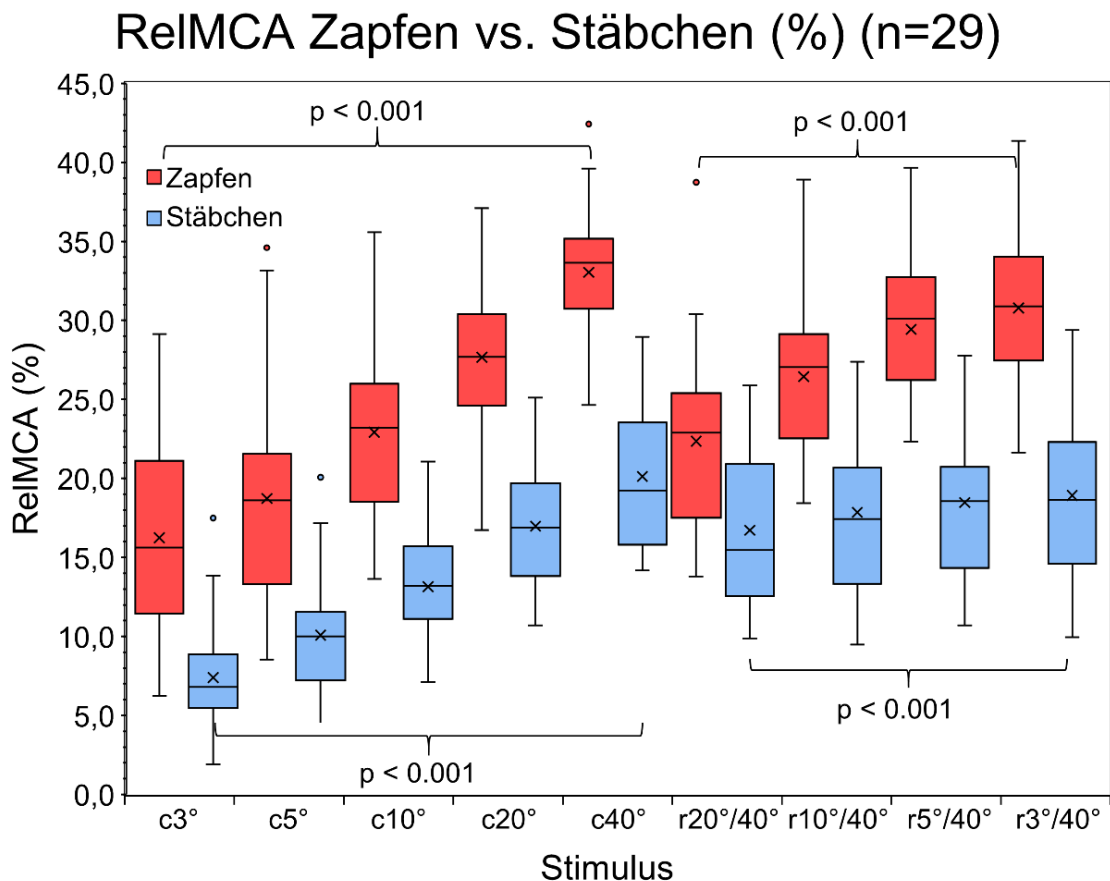


Abbildung 13: Mittlere (aus 10 Antworten pro Probanden) reIMCAs auf die verschiedenen Stimuli in der Übersicht.

Die reIMCAs der verschiedenen Probanden sind durch die Box-Whisker Plots dargestellt. Die Kreuze zeigen die Mittelwerte an. Antworten auf zapfenspezifische Stimuli sind rot gefärbt, Antworten auf stäbchenspezifische Stimuli blau. Die wichtigsten im Text erwähnten signifikanten Unterschiede sind

durch die Klammern visualisiert. Die Stimulusformen werden in Abbildung 6 erklärt. (Graphik und Beschriftung: Sonntag et al. 2021)

3.1.4 Beziehung von relMCA und Fläche

Kreisstimuli:

Werden relMCA und Logarithmus der Stimulusfläche der Kreise gegeneinander aufgetragen, wie in Abbildung 14 links dargestellt, zeigt sich ein positiv linearer Zusammenhang zwischen beiden Parametern sowohl für zapfen- als auch für stäbchenspezifische Stimuli. Für Zapfen beträgt der Determinationskoeffizient R^2 einer linearen Anpassungskurve 0,9939, für Stäbchen beträgt er 0,999.

Ringstimuli:

Werden relMCA und Logarithmus der Stimulusfläche der Ringe gegeneinander aufgetragen, wie in Abbildung 14 rechts dargestellt, zeigt sich hingegen ein exponentieller Zusammenhang zwischen beiden Parametern sowohl für zapfen- als auch für stäbchenspezifische Stimuli. Für stäbchenspezifische Stimuli ist der Anstieg der Kurve jedoch deutlich schwächer. Für Zapfen beträgt der Determinationskoeffizient R^2 einer exponentiellen Anpassungskurve 0,9278, für Stäbchen beträgt er 0,9234.

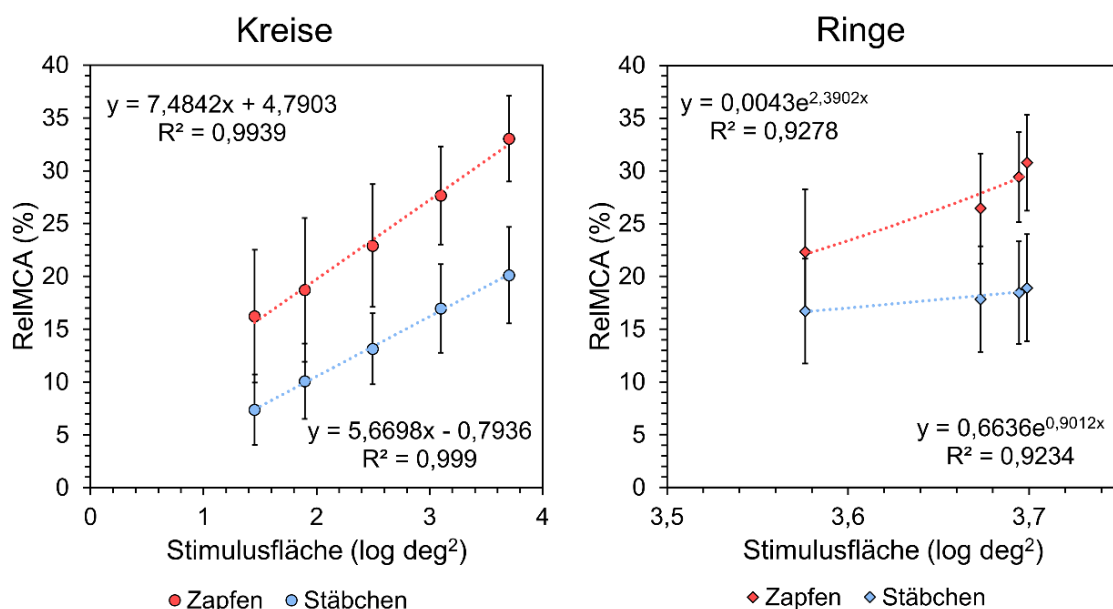


Abbildung 14: Mittlere relMCAs auf zapfen- und stäbchenspezifische Kreis- und Ringstimuli, aufgetragen gegen den Logarithmus der Stimulusfläche. Zapfenspezifische relMCAs sind rot gefärbt, stäbchenspezifische relMCAs blau. Der vertikale Fehlerbalken zeigt die Standardabweichung an. RelMCAs auf

Kreisstimuli sind links abgebildet, relMCAs auf Ringstimuli rechts. Für Kreisstimuli ist die Anpassungskurve linear, für Ringstimuli exponentiell. Die Determinationskoeffizienten und Kurvengleichungen sind neben den entsprechenden Kurven abgebildet. Zur besseren Übersichtlichkeit hat das rechte Diagramm eine andere X-Achsenkalierung als das linke.

3.1.5 Beziehung von relMCA und CFD

Kreisstimuli:

Werden relMCA und CFD für Kreisstimuli gegeneinander aufgetragen, wie in Abbildung 15 dargestellt, zeigt sich ein positiv logarithmischer Zusammenhang zwischen beiden Parametern sowohl für zapfen- als auch für stäbchenspezifische Stimuli. Für Zapfen beträgt der Determinationskoeffizient R^2 einer logarithmischen Anpassungskurve 0,9939, für Stäbchen beträgt er 0,999.

Ringstimuli:

Werden relMCA und CFD für Ringstimuli gegeneinander aufgetragen, wie in Abbildung 15 dargestellt, zeigt sich hingegen ein exponentieller Zusammenhang zwischen beiden Parametern sowohl für zapfen- als auch für stäbchenspezifische Stimuli. Für stäbchenspezifische Stimuli ist der Anstieg der Kurve jedoch deutlich schwächer. Für Zapfen beträgt der Determinationskoeffizient R^2 einer exponentiellen Anpassungskurve 0,9394, für Stäbchen beträgt er 0,9344.

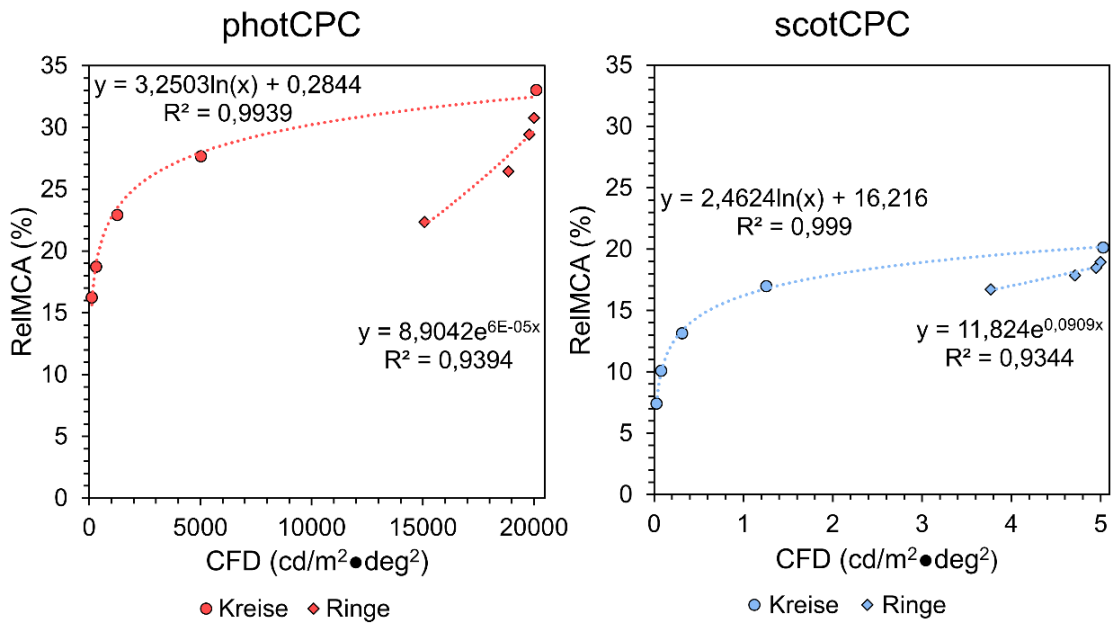


Abbildung 15: Mittlere relMCAs auf zapfen- und stäbchenspezifische Kreis- und Ringstimuli, aufgetragen gegen die CFD der Stimuli.

Zapfenspezifische relMCAs sind rot gefärbt und links abgebildet, stäbchenspezifische relMCAs blau und auf der rechten Seite. RelMCAs auf Kreisstimuli sind als Kreise abgebildet, relMCAs auf Ringstimuli als Rauten. Für Kreisstimuli ist die Anpassungskurve logarithmisch, für Ringstimuli exponentiell. Die Determinationskoeffizienten und Kurvengleichungen sind neben den entsprechenden Kurven abgebildet. Zur besseren Übersichtlichkeit hat das rechte Diagramm eine andere X-Achsenkalibrierung als das linke.

Aus den Diagrammen zur CFD wird außerdem folgender Zusammenhang deutlich: Ein r20°/40°-Ringstimulus (in Abbildung 15 jeweils die erste Raute von links) hat unter zapfen- und stäbchenspezifischen Bedingungen trotz höherer CFD eine geringere relMCA zur Folge als ein c20°-Kreisstimulus (in Abbildung 15 jeweils der vierte Kreis von links). Dies ist besonders ausgeprägt in der photCPC. Ringstimuli benötigen folglich eine höhere CFD, um die gleiche Reaktion auszulösen, die ein zentraler Kreisstimulus bereits bei geringerer CFD hervorruft.

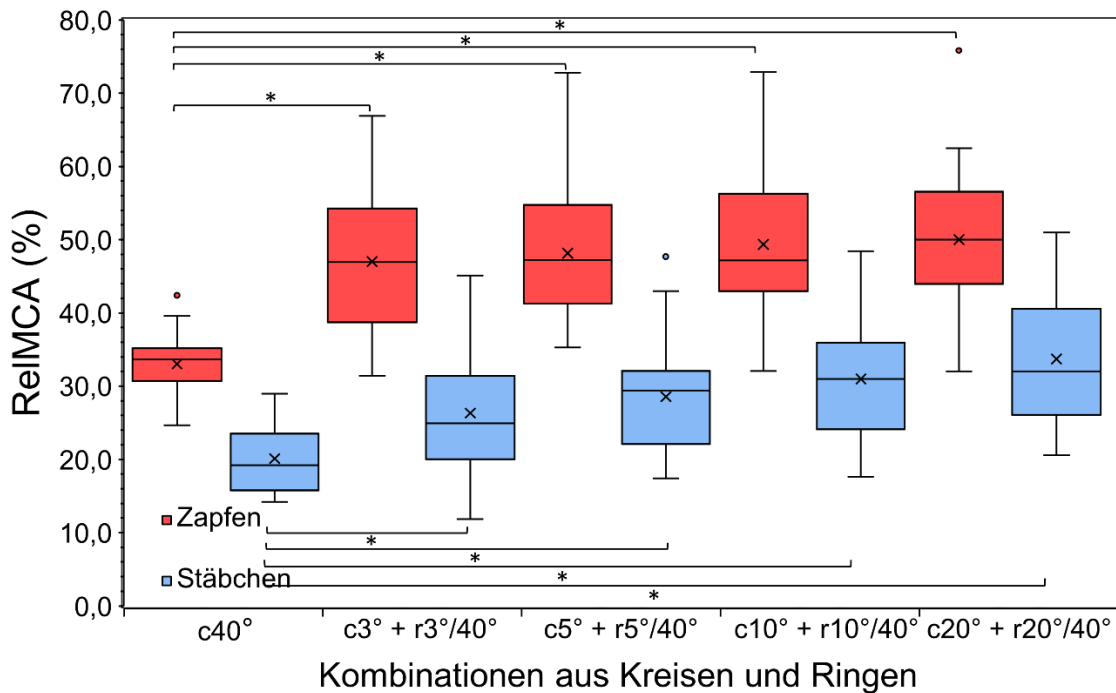
3.1.6 Summation der relMCAs

Für jeden Probanden wurde die Summe der relMCAs aus den korrespondierenden Kreis- und Ringstimuli gebildet, die übereinandergelegt einen 40°-Kreisstimulus ergeben ($c3^\circ + r3^\circ/40^\circ$; $c5^\circ + r5^\circ/40^\circ$; $c10^\circ + r10^\circ/40^\circ$; $c20^\circ + r20^\circ/40^\circ$). Das Ergebnis wurde mit der relMCA auf den 40°-Kreisstimulus verglichen. Tabelle 5 und Abbildung 16 zeigen Lage- und Streuungsmaße der erhaltenen Werte.

Tabelle 5: Lage- und Streuungsmaße der durch Summation erhaltenen relMCAs in photCPC (rot) und scotCPC (blau) im Vergleich mit der relMCA auf einen 40°-Kreisstimulus.

Summation	c40°	c40°	c3° + r3°/4 0°	c3° + r3°/4 0°	c5° + r5°/4 0°	c5° + r5°/4 0°	c10° + r10°/ 40°	c10° + r10°/ 40°	c20° + r20°/ 40°	c20° + r20°/ 40°
Minimum	24,7	14,2	31,4	11,9	35,3	17,4	32,1	17,6	32,0	20,6
Maximum	42,4	28,9	66,9	45,1	72,8	47,7	72,9	48,4	75,8	51,0
Median	33,6	19,2	46,9	25,0	47,2	29,4	47,2	31,0	50,0	32,0
Mittelwert	33,0	20,1	47,0	26,3	48,2	28,6	49,4	31,0	50,0	33,7
Standardab- weichung	4,1	4,6	9,7	7,7	9,7	7,7	9,7	7,9	9,5	8,9

Summation Zapfen vs. Stäbchen (%) (n = 29)



Delta zu c40° (abs. % ± SD)	14.0 ± 7.4	15.1 ± 6.9	16.3 ± 6.8	17.0 ± 6.4
	6.2 ± 4.3	8.4 ± 4.2	10.9 ± 4.0	13.6 ± 4.8

Abbildung 16: Mittlere (aus 10 Antworten pro Probanden) reIMCAs auf den c40°-Stimulus sowie die summierten Stimuluskombinationen, dargestellt durch die Box-Whisker Plots.

Die Kreuze zeigen die Mittelwerte an. Antworten auf zapfenspezifische Stimuli sind rot gefärbt, Antworten auf stäbchenspezifische Stimuli blau. Die wichtigsten im Text erwähnten signifikanten Unterschiede sind durch die Klammern visualisiert. Ein Stern zeigt einen statistisch signifikanten ($p < 0,001$) Unterschied an. Die Tabelle gibt die Differenz (Delta) der Summationen zum 40°-Kreisstimulus an. (Graphik und Beschriftung: Sonntag et al. 2021)

Es zeigt sich, dass die aus der Summation der reIMCAs der korrespondierenden Kreis- und Ringstimuli erhaltene reIMCA im Mittel stets deutlich höher ist als die reIMCA, die durch einen 40°-Kreisstimulus hervorgerufen wurde. Dies gilt sowohl für zapfen- als auch für stäbchenspezifische Stimuli.

Eine zwischen den 4 Summationen und c40° durchgeführte ANOVA mit Messwiederholung mit Greenhouse-Geisser-Korrektur ergab einen signifikanten Einfluss der verschiedenen Summationen auf die reIMCA für zapfen- und stäbchenspezifische Stimulation (Zapfen: $p < 0,001$; Stäbchen: $p < 0,001$).

Statistisch signifikant war sowohl für Zapfen als auch für Stäbchen außerdem der Unterschied der relMCAs zwischen $c40^\circ$ und den einzelnen Summationen ($p < 0,001$). Bei den stäbchenspezifischen Stimuli zeigte sich zudem ein signifikanter Unterschied zwischen den relMCAs der einzelnen Summationen selbst. Bei zapfenspezifischen relMCAs war das nicht der Fall.

Tabelle 6 und 7 zeigen die ausführlichen Ergebnisse der Post-hoc-T-Tests für zapfen- und stäbchenspezifische Stimuli (photCPC und scotCPC).

Tabelle 6: Ergebnisse der Post-hoc-T-Tests der Summationen, photCPC.

Post-hoc-T-Test, p-Wert	$c40^\circ$	$c3^\circ + r3^\circ/40^\circ$	$c5^\circ + r5^\circ/40^\circ$	$c10^\circ + r10^\circ/40^\circ$	$c20^\circ + r20^\circ/40^\circ$
$c40^\circ$	x	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001
$c3^\circ + r3^\circ/40^\circ$		x	1,000	0,103	0,347
$c5^\circ + r5^\circ/40^\circ$			x	0,793	1,000
$c10^\circ + r10^\circ/40^\circ$				x	1,000
$c20^\circ + r20^\circ/40^\circ$					x

Tabelle 7: Ergebnisse der Post-hoc-T-Tests der Summationen, scotCPC.

Post-hoc-T-Tests, p-Wert	$c40^\circ$	$c3^\circ + r3^\circ/40^\circ$	$c5^\circ + r5^\circ/40^\circ$	$c10^\circ + r10^\circ/40^\circ$	$c20^\circ + r20^\circ/40^\circ$
$c40^\circ$	x	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001
$c3^\circ + r3^\circ/40^\circ$		x	0,002	< 0,001	< 0,001
$c5^\circ + r5^\circ/40^\circ$			x	< 0,001	< 0,001
$c10^\circ + r10^\circ/40^\circ$				x	< 0,001
$c20^\circ + r20^\circ/40^\circ$					x

3.2 Latenz der Pupillenlichtreaktion

3.2.1 Latenzen in photCPC

Tabelle 8 und Abbildung 19 zeigen Lage- und Streuungsmaße der Latenzen auf zapfenspezifische Stimuli in der photCPC.

Tabelle 8: Lage- und Streuungsmaße der Latenzen (ms) auf zapfenspezifische Stimuli (photCPC).

Stimulus	c3°	c5°	c10°	c20°	c40°	r20°/ 40°	r10°/ 40°	r5°/ 40°	r3°/ 40°
Minimum	240	256	240	212	198	153	158	182	158
Maximum	409	377	341	334	300	329	289	313	298
Median	327	317	296	273	257	255	246	245	245
Mittelwert	329	317	292	274	254	254	244	244	239
Stabw.	34	31	27	27	28	35	34	35	31

Zapfenspezifische Kreise

Mit zunehmender Fläche eines Kreisstimulus verkürzten sich die Antwortlatenzen, d.h. die Pupille reagierte schneller. Eine ANOVA mit Messwiederholung mit Greenhouse-Geisser-Korrektur ergab einen signifikanten Einfluss der Stimulusfläche auf die Latenz ($p < 0,001$). Die mittlere Latenz auf einen 3°-Kreisstimulus betrug 329 ± 34 ms, die mittlere Latenz auf einen 40°-Kreisstimulus betrug 254 ± 28 ms. Dieser Unterschied war statistisch signifikant ($p < 0,001$). Ebenso statistisch signifikant waren die Unterschiede zwischen den mittleren Latenzen auf die verschiedenen anderen Kreisstimuli ($p = 0,045$ zwischen den Latenzen auf c3° und c5°; $p \leq 0,001$ zwischen den Latenzen auf die anderen Kreisstimuli).

Zapfenspezifische Ringe

Im Gegensatz zu den Kreisstimuli verkürzten sich die Antwortlatenzen mit zunehmender Fläche eines Ringstimulus nur minimal. Dennoch ergab eine ANOVA mit Messwiederholung für Ringe ebenfalls einen signifikanten Einfluss der Stimulusfläche auf die relMCA ($p = 0,004$). Die mittlere Latenz auf einen 20°/40°-Ringstimulus betrug 254 ± 35 ms und liegt damit im Bereich der Latenz auf einen 40°-Kreisstimulus. Die mittlere Latenz auf einen 3°/40°-Ringstimulus betrug 239 ± 31 ms und war somit sogar kürzer als die Latenz auf den 40°-Kreisstimulus. Ein statistisch signifikanter Unterschied ergab sich nur zwischen den mittleren Latenzen auf r3°/40° und r20°/40° ($p = 0,029$) sowie r10°/40° und r20°/40° ($p = 0,037$).

Fügte man die mittleren Latenzen auf den 40°-Kreisstimulus zur ANOVA hinzu, so blieb der Einfluss der Stimulusfläche signifikant ($p = 0,001$) und es ergaben sich nur zwischen den Latenzen auf $r20^\circ/40^\circ$ und $r37^\circ/40^\circ$ ($p = 0,049$) sowie $r37^\circ/40^\circ$ und $c40^\circ$ ($p = 0,015$) signifikante Unterschiede.

Abbildung 17 zeigt den Verlauf der mittleren Latenzen auf zapfenspezifische Kreise und Ringe aller 29 Probanden. Es zeigt sich insgesamt eine deutlich abfallende Tendenz bei Kreisen und eine nahezu gleichbleibende Tendenz bei Ringen.

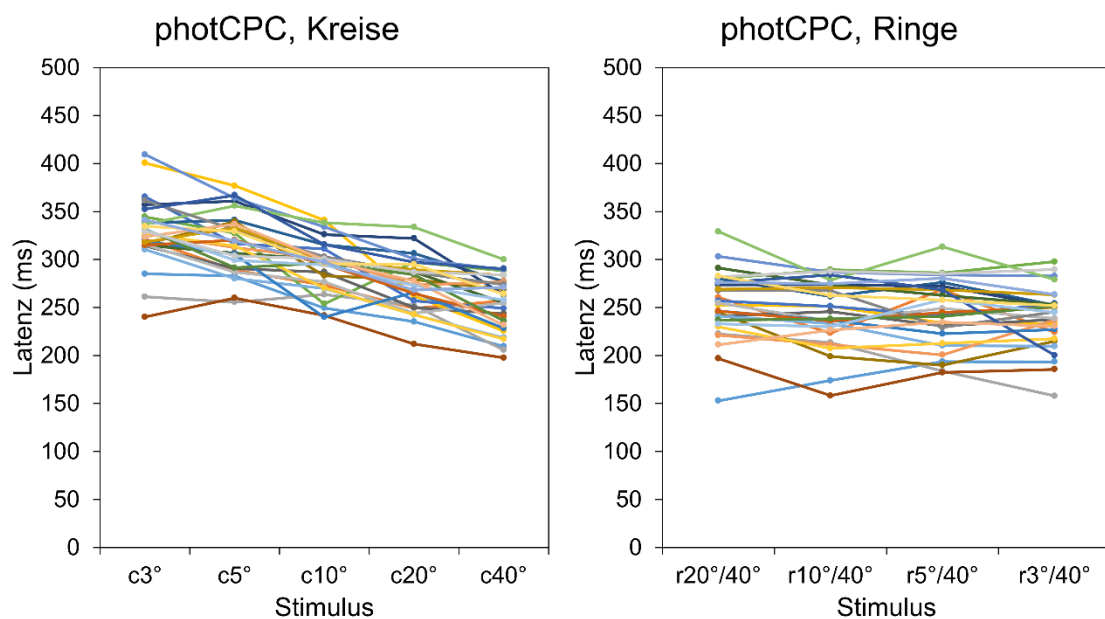


Abbildung 17: Verlauf der mittleren Latenzen der 29 Probanden auf Kreis- und Ringstimuli in der photCPC.

3.2.2 Latenzen in scotCPC

Tabelle 9 und Abbildung 19 zeigen Lage- und Streuungsmaße der Latenzen auf stäbchenspezifische Stimuli in der scotCPC.

Tabelle 9: Lage- und Streuungsmaße der Latenzen (ms) auf stäbchenspezifische Stimuli (scotCPC).

Stimulus	c3°	c5°	c10°	c20°	c40°	r20°/ 40°	r10°/ 40°	r5°/ 40°	r3°/ 40°
Minimum	323	203	285	234	227	239	243	213	245
Maximum	482	453	404	375	340	373	373	366	352
Median	390	367	353	329	301	301	299	309	299
Mittelwert	394	372	349	326	297	306	303	306	305
Stabw.	40	46	31	34	26	33	34	32	31

Stäbchenspezifische Kreise

Analog zu den Ergebnissen der photCPC verkürzten sich auch in der scotCPC die Antwortlatenzen mit zunehmender Fläche eines Kreisstimulus. Eine ANOVA mit Messwiederholung mit Greenhouse-Geisser-Korrektur ergab einen signifikanten Einfluss der Stimulusfläche auf die Latenz ($p < 0,001$). Die mittlere Latenz auf einen 3°-Kreisstimulus betrug 394 ± 40 ms, die mittlere Latenz auf einen 40°-Kreisstimulus betrug 297 ± 26 ms. Dieser Unterschied war statistisch signifikant ($p < 0,001$). Ebenso die Unterschiede zwischen den mittleren Latenzen auf die verschiedenen anderen Kreisstimuli ($p < 0,001$) mit Ausnahme der Unterschiede der Latenzen zwischen c3° und c5° sowie c5° und c10°. Diese Unterschiede waren so klein, dass sie nicht statistisch signifikant waren.

Stäbchenspezifische Ringe

Analog zu den Ergebnissen der photCPC sanken die auch in der scotCPC die Latenzen mit zunehmender Fläche eines Ringstimulus nur minimal. Eine ANOVA mit Messwiederholung ergab für Ringe keinen signifikanten Einfluss der Stimulusfläche auf die Latenz. Die mittlere Latenz auf einen 20°/40°-Ringstimulus betrug 306 ± 33 ms und die mittlere Latenz auf einen 3°/40°-Ringstimulus betrug 305 ± 31 ms. Zwischen den einzelnen Latenzen auf zapfenspezifische Ringe ergab sich kein signifikanter Unterschied.

Fügte man die mittleren Latenzen auf den 40°-Kreisstimulus zur ANOVA hinzu, ergab sich hingegen ein signifikanter Einfluss der Stimulusfläche ($p = 0,030$), dennoch zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen den einzelnen

Latenzen auf zapfenspezifische Ringe selbst sowie zwischen ihnen und dem 40°-Kreisstimulus.

Abbildung 18 zeigt den Verlauf der mittleren Latenzen auf stäbchenspezifische Kreise und Ringe aller 29 Probanden. Es zeigt sich insgesamt eine deutlich abfallende Tendenz bei Kreisen und eine gleichbleibende Tendenz bei Ringen.

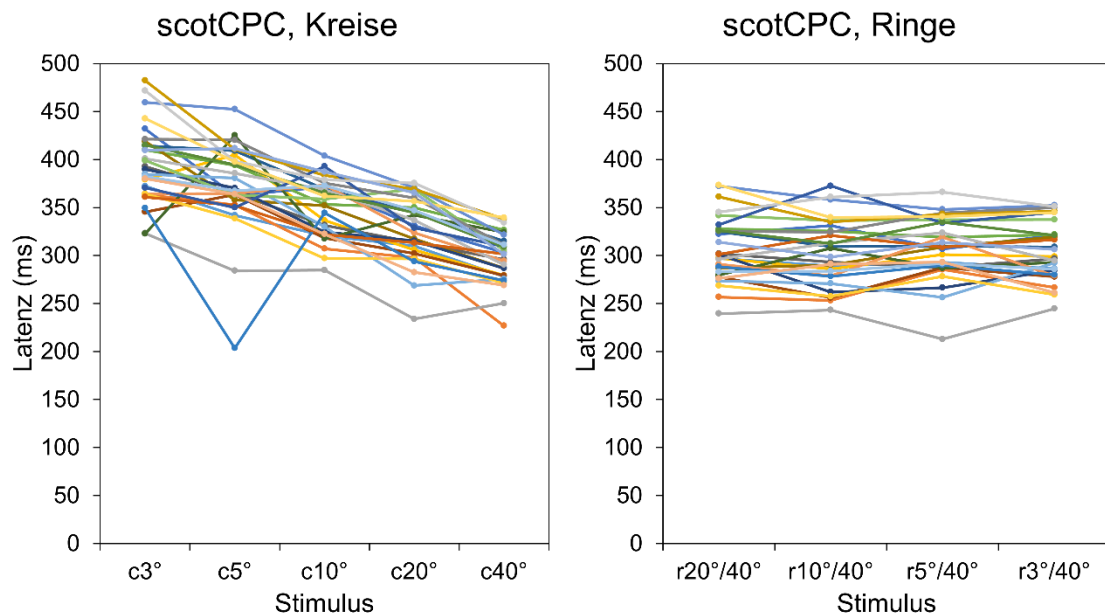


Abbildung 18: Verlauf der mittleren Latenzen der 29 Probanden auf Kreis- und Ringstimuli in der scotCPC.

3.2.3 Vergleich der Latenzen unter Zapfen- bzw. Stäbchenbedingungen

Abbildung 19 zeigt eine Übersicht der zapfenspezifischen (photCPC) und stäbchenspezifischen Latenzen (scotCPC) auf die verschiedenen Stimuli. Insgesamt zeigen sich im stäbchenspezifischen Protokoll mit durchschnittlich 329 ± 47 ms signifikant längere Latenzen als im zapfenspezifischen Protokoll mit durchschnittlich 272 ± 44 ms ($p < 0,001$). Der Latenzunterschied betrug im Mittel 57 ± 32 ms.

Latenz Zapfen vs. Stäbchen (ms) (n = 29)

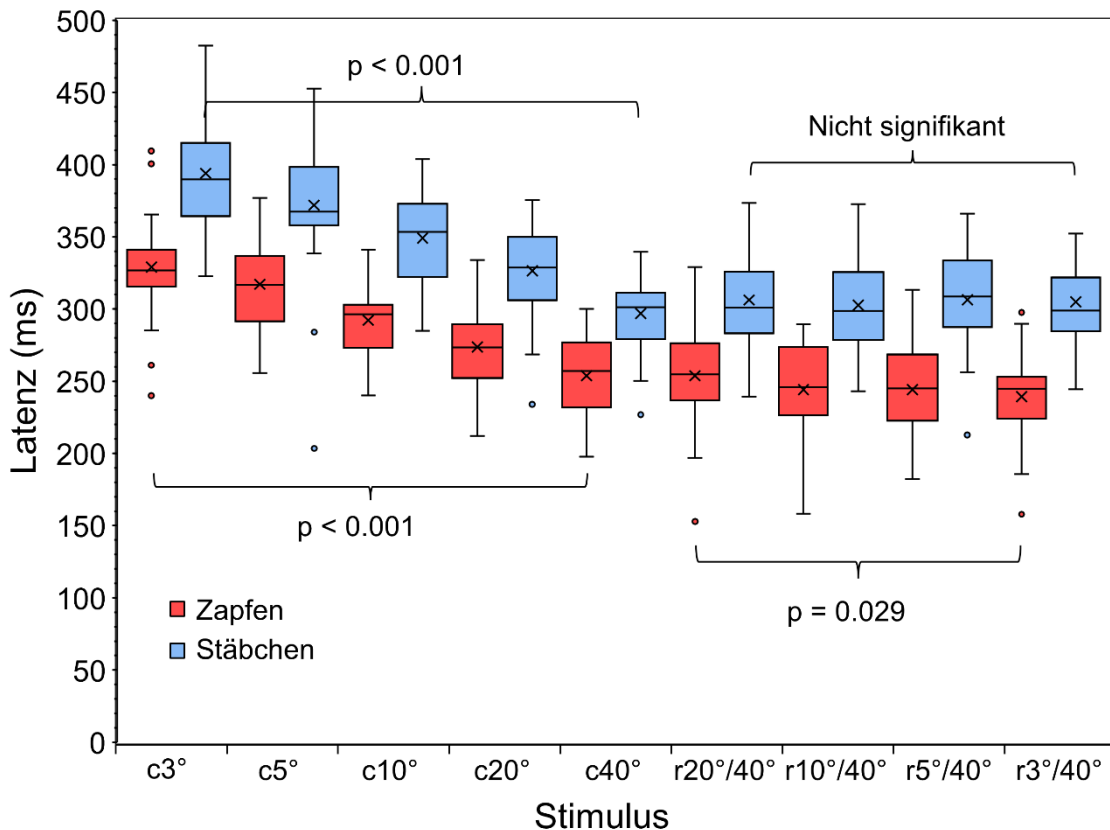


Abbildung 19: Mittlere (aus 10 Antworten pro Probanden) Latenzen auf die verschiedenen Stimuli in der Übersicht.

Dargestellt durch die Box-Whisker Plots. Die Kreuze zeigen die Mittelwerte an. Antworten auf zapfenspezifische Stimuli sind rot gefärbt, Antworten auf stäbchenspezifische Stimuli blau. Die wichtigsten im Text erwähnten signifikanten Unterschiede sind durch die Klammern visualisiert. (Graphik und Beschriftung: Sonntag et al. 2021)

3.2.4 Beziehung von Latenz und Fläche

Werden Latenz und Logarithmus der Fläche der Kreis- beziehungsweise Ringstimuli gegeneinander aufgetragen, wie in Abbildung 20 dargestellt, zeigt sich insgesamt (d. h. Kreise und Ringe eingeschlossen) ein negativ linearer Zusammenhang zwischen beiden Parametern sowohl für zapfen- als auch für stäbchenspezifische Stimuli. Für Zapfen beträgt der Determinationskoeffizient R^2 einer linearen Anpassungskurve 0,9819, für Stäbchen beträgt er 0,9937.

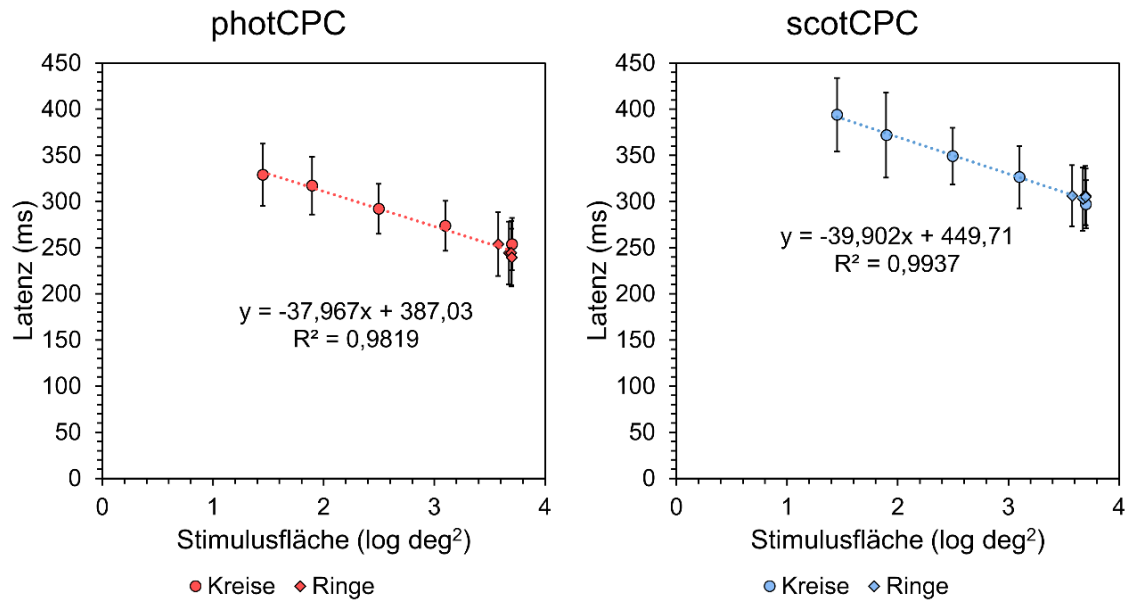


Abbildung 20: Mittlere Latenzen auf zapfen- und stäbchenspezifische Kreis- und Ringstimuli, aufgetragen gegen den Logarithmus der Stimulusfläche.

Zapfenspezifische Latenzen sind rot gefärbt und links abgebildet, stäbchenspezifische Latenzen blau und auf der rechten Seite. Der vertikale Fehlerbalken zeigt die Standardabweichung an. Latenzen auf Kreisstimuli sind als Kreise abgebildet, Latenzen auf Ringstimuli als Rauten. Determinationskoeffizienten und Kurvengleichungen der linearen Anpassungskurven sind in den entsprechenden Diagrammen abgebildet.

3.2.5 Beziehung von Latenz und CFD

Werden Latenz und CFD der Kreis- beziehungsweise Ringstimuli gegeneinander aufgetragen, wie in Abbildung 21 dargestellt, zeigt sich insgesamt (d. h. Kreise und Ringe eingeschlossen) ein negativ logarithmischer Zusammenhang zwischen beiden Parametern sowohl für zapfen- als auch für stäbchenspezifische Stimuli. Für Zapfen beträgt der Determinationskoeffizient R^2 einer logarithmischen Anpassungskurve 0,9819, für Stäbchen beträgt er 0,9937.

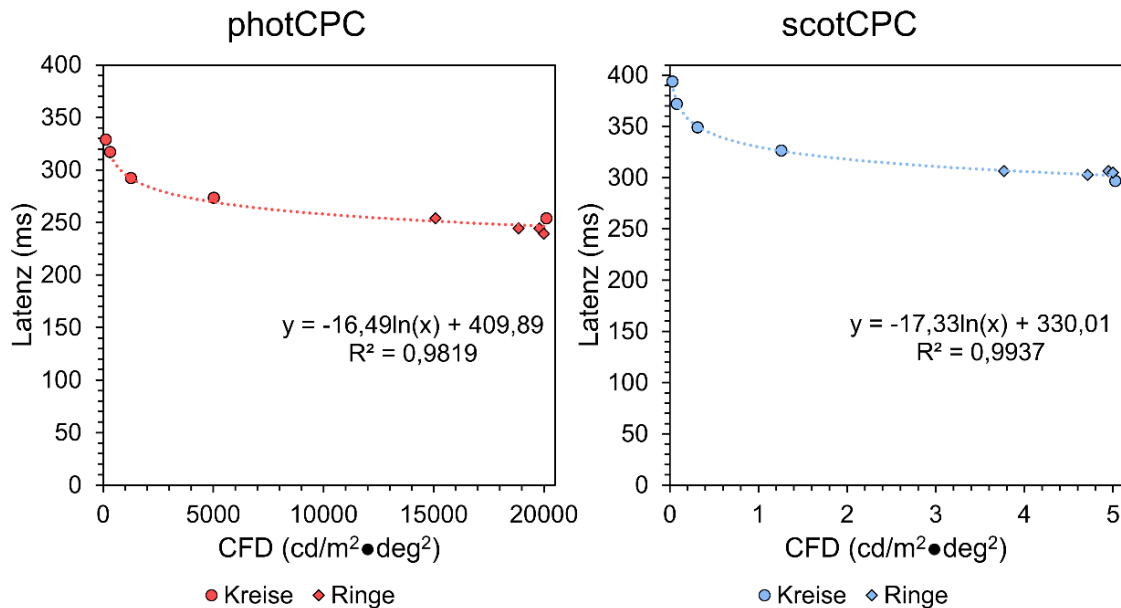


Abbildung 21: Mittlere Latenzen auf zapfen- und stäbchenspezifische Kreis- und Ringstimuli, aufgetragen gegen die CFD der Stimuli.

Zapfenspezifische Latenzen sind rot gefärbt und links abgebildet, stäbchenspezifische Latenzen blau und auf der rechten Seite. Latenzen auf Kreisstimuli sind als Kreise abgebildet, Latenzen auf Ringstimuli als Rauten. Determinationskoeffizienten und Kurvengleichungen der logarithmischen Anpassungskurven sind in den entsprechenden Diagrammen abgebildet. Zur besseren Übersichtlichkeit hat das rechte Diagramm eine andere X-Achsenkalibrierung als das linke.

Ein $r20^\circ/40^\circ$ -Ringstimulus (in Abbildung 21 jeweils die erste Raute von links) hat unter zapfen- und stäbchenspezifischen Bedingungen eine geringere Latenz zur Folge als ein $c20^\circ$ -Kreisstimulus (in Abbildung 21 jeweils der vierte Kreis von links). Dies passt zu der höheren CFD bei ersterem Stimulus.

Die CFD ist im Auslösen einer Latenzverkürzung bei Kreis- und Ringstimuli ähnlich effektiv. Latenzen auf Kreis und Ringstimuli können im Gegensatz zu den relMCAs mittels nur einer Kurve dargestellt werden.

3.3 Pupillenausgangsweiten

Im Hinblick auf die Diskussion der Ergebnisse wurden die PAWs der jeweiligen Messbedingungen genauer untersucht, um zu Reihenfolgeeffekten, Effekten der Pupillenausgangsweite und Effekten des Lebensalters Stellung nehmen zu können.

3.3.1 PAWs in photCPC

Tabelle 10 und Abbildung 24 zeigen Lage- und Streuungsmaße der Pupillenausgangswerten bei Präsentation zapfenspezifischer Stimuli in der photCPC.

Tabelle 10: Lage- und Streuungsmaße der PAWs (mm) bei Präsentation zapfenspezifischer Stimuli (photCPC).

Stimulus	c3°	c5°	c10°	c20°	c40°	r20°/ 40°	r10°/ 40°	r5°/ 40°	r3°/ 40°	ge- samt
Minimum	4,0	4,1	3,9	3,7	3,6	3,8	4,0	3,8	3,8	3,6
Maximum	8,7	8,8	8,8	8,4	7,9	8,3	8,3	8,1	8,1	8,8
Median	7,0	6,7	6,6	6,4	5,9	6,5	6,5	6,3	6,2	6,4
Mittelwert	6,9	6,7	6,5	6,2	5,9	6,2	6,3	6,1	6,1	6,3
Stabw	1,1	1,1	1,1	1,2	1,0	1,1	1,1	1,0	1,0	1,1

Die mittlere Pupillenausgangswerte bei Präsentation zapfenspezifischer Stimuli betrug $6,3 \pm 1,1$ mm.

Mit zunehmender Fläche eines Kreisstimulus sanken die PAWs leicht ab. Eine ANOVA mit Messwiederholung mit Greenhouse-Geisser-Korrektur ergab für Kreise einen signifikanten Einfluss der Stimulusgröße auf die PAW ($p < 0,001$). Mit zunehmender Fläche eines Ringstimulus blieben die PAWs hingegen weitgehend gleich. Eine ANOVA mit Messwiederholung mit Greenhouse-Geisser-Korrektur ergab für Ringe keinen signifikanten Einfluss der Stimulusgröße auf die PAW.

Abbildung 22 zeigt die Häufigkeitsverteilung der PAWs in der photCPC.

4,6 % der gemessenen PAWs waren kleiner als 4mm, alle jedoch größer als 3,5 mm. Die korrespondierenden relMCAs dieser kleinen PAWs lagen, bis auf einen Wert, alle im Bereich von ± 2 Standardabweichungen.

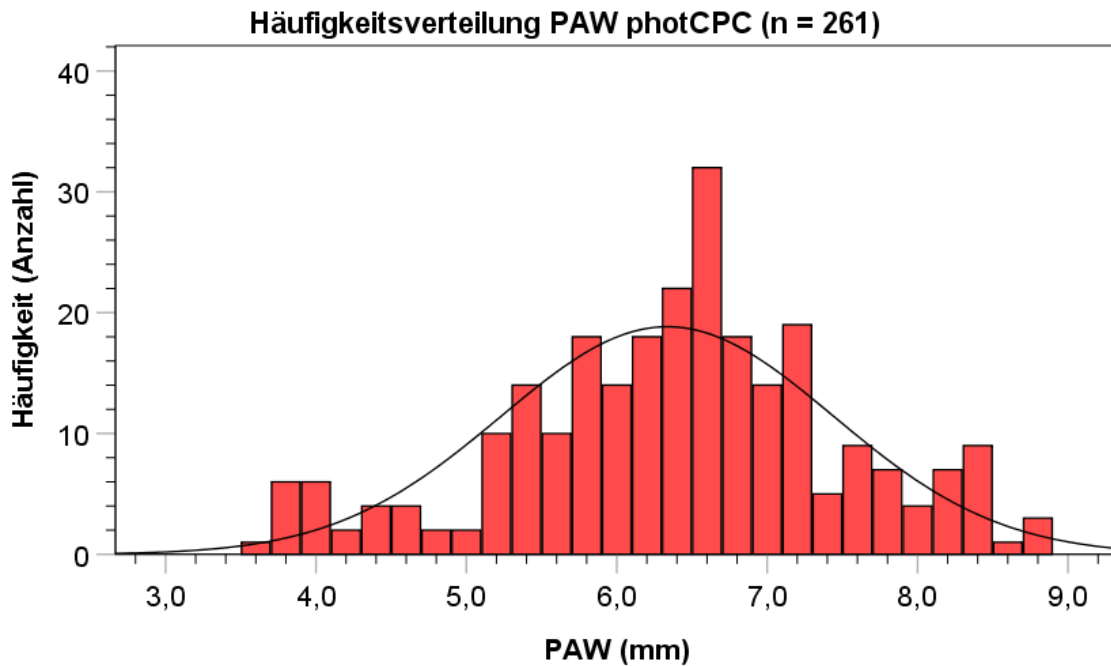


Abbildung 22: Häufigkeitsverteilung der PAW in der photCPC. Es sind die gemittelten PAWs vor jeder der 9 Stimulusbedingungen aller 29 Probanden dargestellt. Die schwarze Kurve entspricht einer Normalverteilungskurve.

3.3.2 PAWs in scotCPC

Tabelle 11 und Abbildung 24 zeigen Lage- und Streuungsmaße der Pupillenausgangswerten bei Präsentation stäbchenspezifischer Stimuli in der scotCPC.

Tabelle 11: Lage- und Streuungsmaße der PAWs (mm) bei Präsentation stäbchenspezifischer Stimuli (scotCPC).

Stimulus	c3°	c5°	c10°	c20°	c40°	r20°/ 40°	r10°/ 40°	r5°/ 40°	r3°/ 40°	ge- samt
Minimum	5,7	5,3	5,8	5,6	5,3	5,6	5,9	5,3	5,6	5,3
Maximum	9,4	9,2	9,1	9,1	8,8	8,9	8,9	8,9	8,8	9,4
Median	7,9	7,6	7,6	7,5	7,4	7,5	7,4	7,3	7,3	7,5
Mittelwert	7,8	7,6	7,5	7,4	7,3	7,4	7,4	7,3	7,3	7,4
Stabw.	0,8	0,9	0,8	0,8	0,8	0,8	0,7	0,8	0,8	0,8

Analog zu den Ergebnissen der photCPC sanken auch in der scotCPC die PAWs mit zunehmender Fläche eines Kreisstimulus leicht ab. Eine ANOVA mit Messwiederholung mit Greenhouse-Geisser-Korrektur ergab für Kreise einen signifikanten Einfluss der Stimulusgröße auf die PAW ($p < 0,001$), die absoluten PAW-Werte beobachtet, war dieser jedoch schwächer als in der photCPC. Mit zunehmender Fläche eines Ringstimulus blieben die PAWs hingegen ebenfalls weitgehend gleich. Eine ANOVA mit Messwiederholung mit Greenhouse-Geisser-Korrektur ergab für Ringe keinen signifikanten Einfluss der Stimulusgröße auf die PAW.

Die mittlere Pupillenausgangswerte bei Präsentation stäbchenspezifischer Stimuli betrug $7,4 \pm 0,8$ mm.

Abbildung 23 zeigt die Häufigkeitsverteilung der PAWs in der scotCPC.

6,1 % der PAWs waren kleiner als 6 mm, alle jedoch größer als 5 mm. Die korrespondierenden relMCAs dieser kleinen PAWs lagen, alle im Bereich von ± 2 Standardabweichungen.

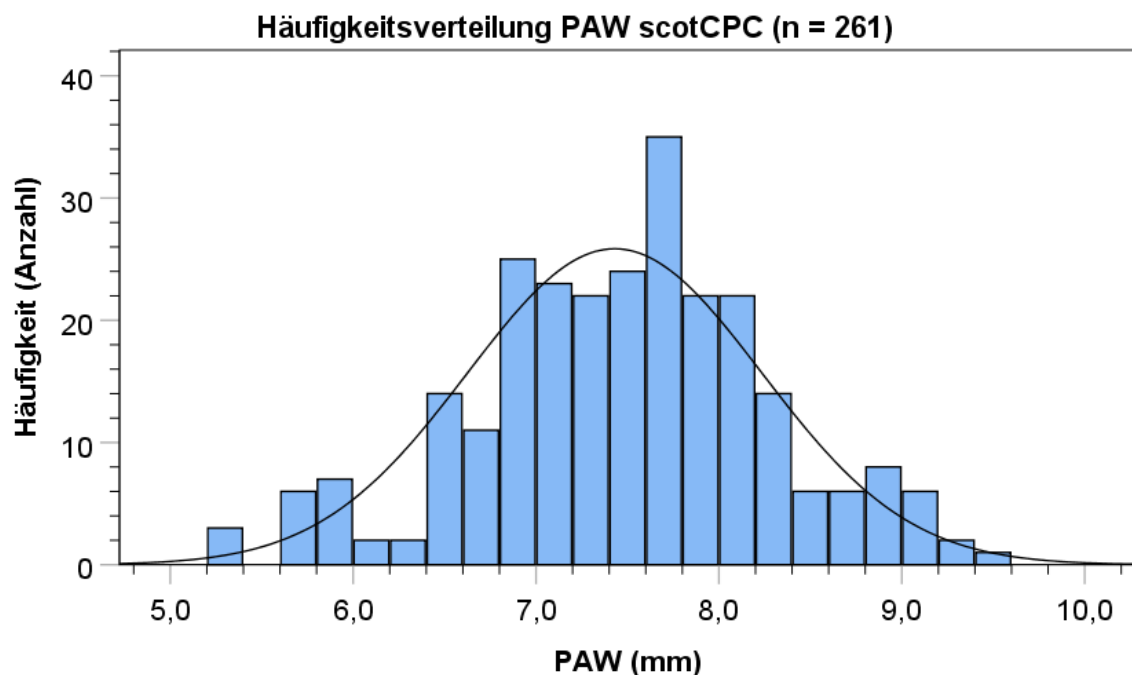


Abbildung 23: Häufigkeitsverteilung der PAW in der scotCPC.

Es sind die gemittelten PAWs vor jeder der 9 Stimulusbedingungen aller 29 Probanden dargestellt. Die schwarze Kurve entspricht einer Normalverteilungskurve.

3.3.3 Vergleich der PAWs unter Zapfen- bzw. Stäbchenbedingungen

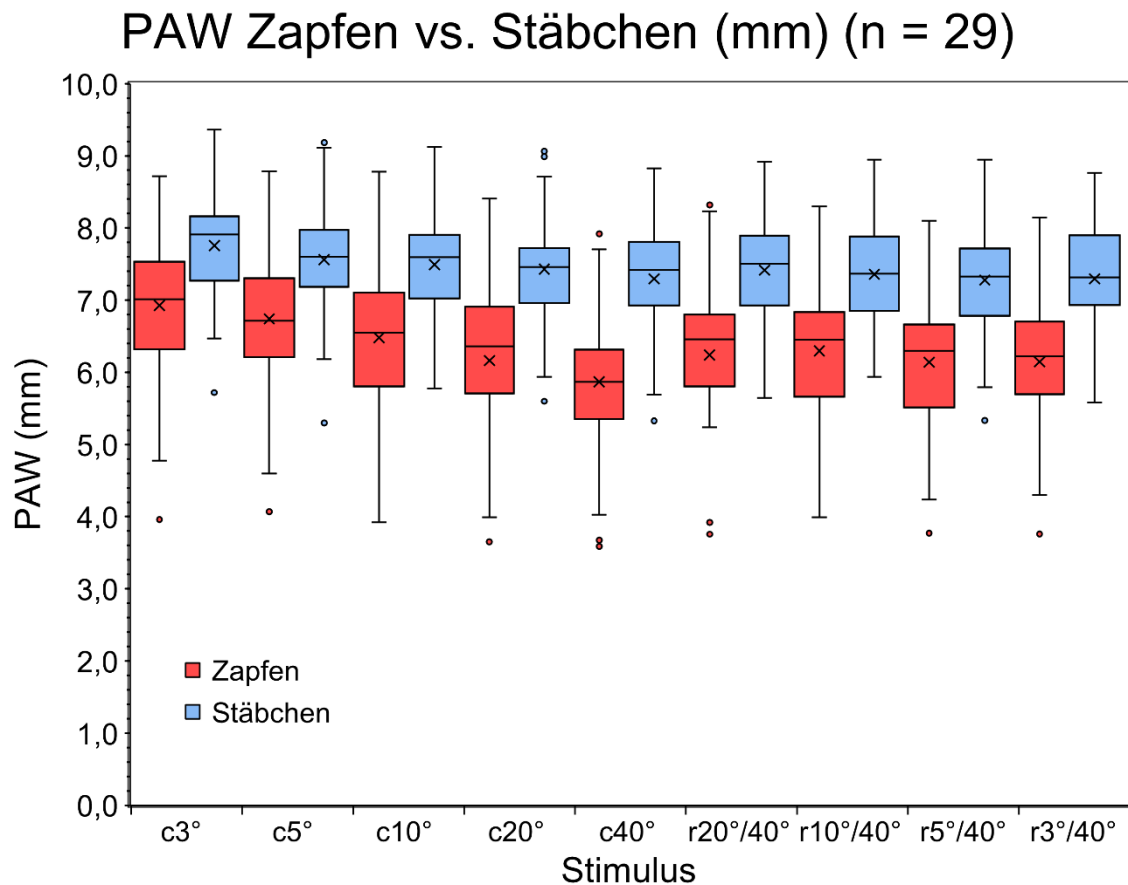


Abbildung 24: Mittlere (aus 10 Antworten pro Probanden) PAWs bei Präsentation der verschiedenen Stimuli in der Übersicht.

Dargestellt durch die Box-Whisker Plots. Die Kreuze zeigen die Mittelwerte an. PAWs im zapfenspezifischen Protokoll sind rot gefärbt, PAWs im stäbchenspezifischen Protokoll blau.

3.3.4 Beziehung zwischen PAW und reIMCA

In Abbildung 25 sind die mittleren Pupillenausgangswerten vor jedem der 9 Stimuli gegen die mittlere reIMCA eines jeden der 29 Probanden auf diesen Stimulus in photCPC und scotCPC dargestellt. Es zeigt sich in beiden Protokollen insgesamt eine breite Streuung und eine geringe bis mäßige, aber dennoch statistisch signifikante ($p < 0,001$) negative Korrelation zwischen PAW und reIMCA. Der Determinationskoeffizient R^2 einer linearen Anpassungskurve beträgt 0,1375 für Zapfen und 0,2261 für Stäbchen. Es besteht eine hohe Streuung.

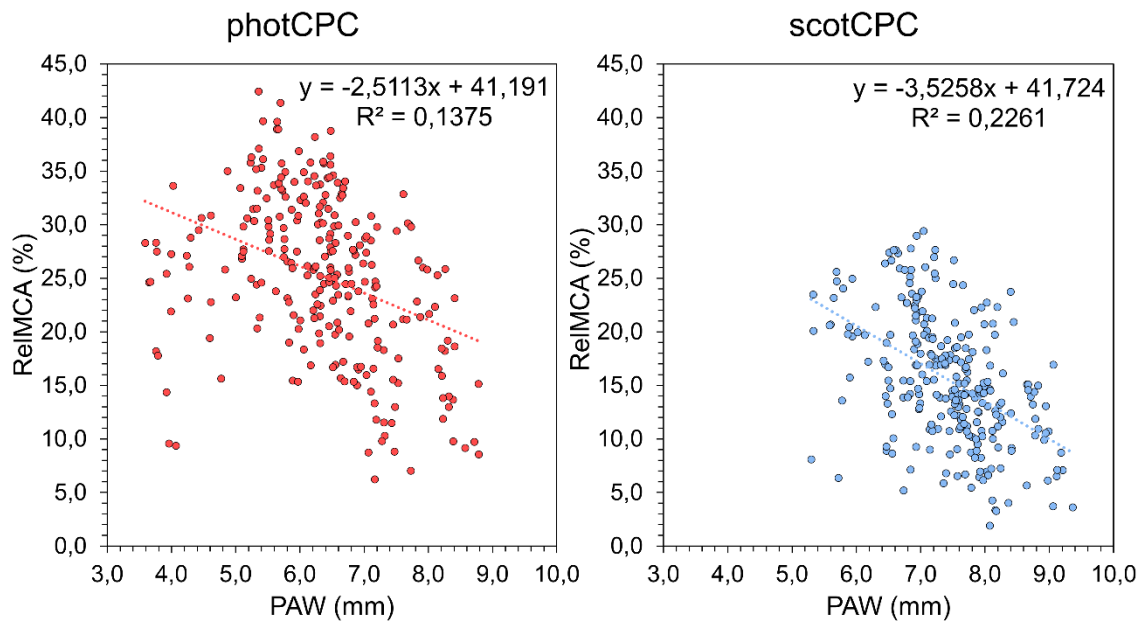


Abbildung 25: Die mittlere reIMCA, aufgetragen gegen die mittlere PAW für jede Stimulus-Kondition und alle 29 Probanden.

Zapfenspezifische Werte sind rot gefärbt und links abgebildet, stäbchenspezifische Werte blau und auf der rechten Seite. Determinationskoeffizienten und Kurvengleichungen der linearen Anpassungskurve sind in den entsprechenden Diagrammen abgebildet.

Tabelle 12 zeigt die p-Werte der Tests auf Korrelation nach Pearson zwischen reIMCA und PAW für jede einzelne Stimulus-Kondition sowie insgesamt. In der photCPC ergab sich trotz einer insgesamt geringen, aber signifikanten Korrelation, einzeln betrachtet nur für den r10°/40°-Stimulus eine signifikante Korrelation zwischen beiden Parametern. In der scotCPC ergab sich sowohl insgesamt als auch einzeln für jede Stimulus-Kondition betrachtet eine geringe bis mäßige, aber signifikante Korrelation zwischen beiden Parametern.

Tabelle 12: P-Werte der Tests auf Korrelation zwischen reIMCA und PAW sowie Determinationskoeffizienten R^2 für jede einzelne Stimulus-Kondition sowie insgesamt.

Die Werte sind jeweils auf drei Dezimalen gerundet. Signifikante Werte sind fett gedruckt.

Stimulus	c3°	c5°	c10°	c20°	c40°	r20°/ 40°	r10°/ 40°	r5°/ 40°	r3°/ 40°	gesamt
P phot-CPC	0,125	0,105	0,088	0,249	0,654	0,240	0,027	0,214	0,090	< 0,001
R^2 phot-CPC	0,083	0,089	0,107	0,047	0,007	0,051	0,171	0,057	0,099	0,138
P scot-CPC	0,044	0,018	0,009	0,005	0,004	0,001	< 0,001	0,004	0,007	< 0,001
R^2 scot-CPC	0,131	0,187	0,227	0,264	0,256	0,344	0,391	0,265	0,228	0,226

3.4 Zusammenfassung der Ergebnisse

Ziel dieser Arbeit war es, mittels photorezeptorspezifischer Chromatischer Pupillenkinematik den Einfluss zentraler und peripherer Zapfen und Stäbchen auf die Pupillenlichtreaktion zu untersuchen und mögliche Summations- oder Inhibitionseffekte aufzudecken. Hierfür wurden reIMCA, Latenz und PAW analysiert.

Es ergaben sich im Wesentlichen folgende Ergebnisse:

Zapfenspezifische reIMCAs waren stärker als stäbchenspezifische, zapfenspezifische Latenzen und PAWs kürzer als stäbchenspezifische.

Mit steigender Stimulusfläche der Kreisstimuli ergab sich ein signifikanter Anstieg der reIMCA sowohl für Zapfen als auch für Stäbchen. Der Zusammenhang zwischen reIMCA und Stimulusfläche/CFD war für Kreisstimuli logarithmisch.

Mit Abnahme des Innenradius der Ringstimuli und damit steigender Stimulusfläche ergab sich ebenfalls ein signifikanter Anstieg der reIMCA für beide Photorezeptoren. Der Anstieg fiel für stäbchenspezifische Ringstimuli jedoch deutlich geringer aus und war - absolut betrachtet - nur sehr gering. Trotzdem

ergab sich für Ringstimuli bei beiden Photorezeptoren ein exponentieller Zusammenhang zwischen reIMCA und Stimulusfläche/CFD.

Außerdem waren Ringstimuli in Bezug auf ihre CFD weniger effektiv im Auslösen einer reIMCA als Kreisstimuli, insbesondere im zapfenspezifischen Protokoll. Für Ringstimuli war eine höhere CFD erforderlich, um die gleiche reIMCA auszulösen wie durch Kreisstimuli geringerer Intensität.

Die durch Summation der reIMCAs solcher Stimuli, die übereinandergelegt einen 40°-Kreisstimulus ergeben (z. B. $c3^\circ + r3^\circ/40^\circ$), erhaltene reIMCA fiel für alle Kombinationen größer aus als die auf Darbietung des 40°-Kreisstimulus gemessene reIMCA.

Die Latenz auf Kreisstimuli nahm sowohl für Zapfen als auch für Stäbchen mit steigender Stimulusfläche signifikant ab. Im Gegensatz dazu sank die Latenz auf Ringstimuli ansteigender Fläche für Zapfen nur minimal, dennoch signifikant. Für Stäbchen blieb die Latenz auf Ringstimuli weitgehend konstant. Der Zusammenhang zwischen Latenz und Stimulusfläche/CFD war sowohl für Zapfen als auch für Stäbchen negativ logarithmisch bei ähnlichem Kurvenverlauf für beide Photorezeptoren. Für Zapfen stellten sich minimale Latenzen im Bereich von ca. 250 ms ein, für Stäbchen im Bereich von ca. 300 ms. Die CFD war in Bezug auf die Latenz bei Kreis- und Ringstimuli ähnlich effektiv.

4 Diskussion

Teile dieses Kapitels wurden bereits veröffentlicht in:

Sonntag A, Kelbsch C, Jung R, Wilhelm H, Strasser T, Peters T, Stingl K, Wilhelm B (2021) Effect of central and peripheral cone- and rod-specific stimulation on the pupillary light reflex. *Int Ophthalmol*. doi:10.1007/s10792-021-02132-1 Epub ahead of print.

Einleitend lassen sich die Ergebnisse zusammenfassend wie folgt werten:

Ein logarithmischer Zusammenhang zwischen relMCA und Stimulusfläche/CFD für Kreisstimuli war, basierend auf der existierenden Literatur, zu erwarten. Eine geringere Effektivität der CFD in Bezug auf die relMCA bei Präsentation von Ringstimuli war ebenfalls zu erwarten, dennoch überraschte das Verhalten der Pupillomotorik hier bei näherer Betrachtung. Insbesondere der Kontrast der geringen Steigerung der relMCA bei abnehmendem Innenradius der stäbchenspezifischen Ringe im Vergleich zur trotzdem deutlichen Reaktion auf den kleinsten Kreisstimulus, war so nicht erwartet worden. Die beobachtete nicht-lineare räumliche Summation der Pupillenantwort unter zapfen- und stäbchenspezifischen Bedingungen hat unsere auf Vorarbeiten zur CPC basierenden Erwartungen bestätigt.

Ein negativ logarithmischer Zusammenhang zwischen Stimulusfläche/CFD und Latenz für zapfen- und stäbchenspezifische Kreisstimuli war ebenfalls zu erwarten. Der unter beiden Bedingungen geringe Latenzunterschied zwischen den Latenzen auf Ringstimuli und den Latenzen auf den größten Kreisstimulus überraschte. Die absoluten Latenzunterschiede zwischen Stäbchen und Zapfen sowie die minimale Latenz für Zapfen lagen im Bereich des Erwarteten. Überraschend war die recht hohe minimale Latenz für Stäbchen.

Die Ergebnisse werden im Folgenden, beginnend mit einer Diskussion der Methodik, näher betrachtet und diskutiert.

4.1 Methodik

4.1.1 Stimulusspezifität

Die Pupillenreaktion wird nicht nur von Zapfen und Stäbchen gesteuert, sondern steht auch unter dem Einfluss von ipRGCs, die sowohl die von Stäbchen und

Zapfen erhaltenen Signale vermitteln als auch intrinsisch aktiv sind (Lucas et al. 2001, Hattar et al. 2002, Dacey et al. 2005, Gamlin et al. 2007, Kawasaki und Kardon 2007, Bailes und Lucas 2010, Wilhelm BJ 2010). Eine durch intrinsische Aktivität der ipRGCs hervorgerufene Pupillenreaktion erhält man jedoch vor allem durch Verwendung von hellem und kurzweiligen Licht (Kawasaki und Kardon 2007, Bailes und Lucas 2010, Wilhelm BJ 2010, Kelbsch et al. 2019b, Rukmini et al. 2019). Unsere Stimuli wurden so spezifisch wie möglich designt, indem Leuchtdichte, Wellenlänge und Dauer gemäß der gut etablierten Standards für photorezeptorspezifische Stimulation in der Pupillographie (Kelbsch et al. 2019b) sowie in der Ganzfeld-Elektroretinographie gewählt wurden (McCulloch et al. 2015). Zudem wurden, den Standards entsprechend, zwei unterschiedliche Adaptionszustände verwendet, was ebenfalls stark zu einer spezifischen Adressierung beiträgt. Das Verwenden von unterschiedlichen Adaptionszuständen, Leuchtdichten, Wellenlängen und Stimulusdauern ermöglicht zwar keine totale Separation, aber dennoch eine stark dominante Adressierung der beiden Fotorezeptoren, welche für die Erforschung grundlegender Unterschiede in der Pupillenreaktion genügen sollte. Eine kürzlich erschienene Arbeit zur CPC mit gleichen, nur etwas helleren Stimulusparametern demonstrierte deren klinische Praktikabilität. Patienten mit Zapfen-/bzw. Stäbchenfunktion zeigten dort stark reduzierte relMCAs auf die entsprechenden Stimuli (Kelbsch et al. 2019a).

4.1.2 Streulicht

Der Einfluss von Streulicht spielt in der Pupillenperimetrie bzw. -Kampimetrie stets eine Rolle (Kardon RH et al. 1991, Wilhelm H 1996) und kann auch in dieser Arbeit nicht vollkommen ausgeschlossen werden. Die Streulichtschwelle liegt zwar über der pupillomotorischen Schwelle, jedoch liegen beide gelegentlich nah beieinander (Wilhelm H 1996). Streulicht ist vor allem bei hellen Stimuli ausgeprägt vorhanden (Kardon RH et al. 1991, Loewenfeld 1993a, Wilhelm H 1996, Ceurremans 2006). Durch die Wahl schwelennaher Stimuli, wie in dieser Arbeit geschehen, kann der Einfluss von Streulicht jedoch weitestgehend vermieden werden (Ceurremans 2006). In der Arbeit zur CPC von Kelbsch et al. (2019a) konnte sogar mittels hellerer Stimuli als den hier verwendeten eine

Zapfen- oder Stäbchendysfunktion auf lokaler Ebene nachgewiesen werden. Des Weiteren berichtete keiner der Probanden über verschwommene Stimulusgrenzen während der Tests. Beides spricht gegen einen signifikanten Einfluss von Streulicht. Da Stäbchen sensitiver als Zapfen sind (Loewenfeld 1993a, Eysel 2007, Ingram et al. 2016), wäre anzunehmen, dass der Streulichteinfluss in der scotCPC größer ausfallen würde. Dies bestätigen aber unsere Ergebnisse nicht. Es ist unwahrscheinlich, dass die starke Stäbchenantwort auf den $c3^\circ$ -Stimulus das Resultat von Streulicht ist, da der durchschnittliche zapfenfreie Bereich der Netzhaut nach Curcio et al. (1990) nur etwa $1,25^\circ$ groß ist. Außerdem waren die Stimulusleuchtdichten im entsprechenden Protokoll mit $0,001 \text{ cd/m}^2$ sehr niedrig und die Pupillenantworten auf kleine Kreise schwelennah. Es kann also angenommen werden, dass der Einfluss von Streulicht in dieser Arbeit, sofern überhaupt vorhanden, gering war.

4.1.3 PAW

4.1.3.1 Effekte des Lebensalters

Die mittleren PAWs in dieser Arbeit ähnelten mit $6,3 \pm 1,1 \text{ mm}$ in der photCPC und $7,4 \pm 0,8 \text{ mm}$ in der scotCPC den von Kelbsch et al. (2019a) gemessenen Werten, die $6,1 \pm 0,8 \text{ mm}$ in der photCPC und $6,7 \pm 0,7 \text{ mm}$ in der scotCPC betragen. Dass die PAWs in unserer Arbeit höher ausfielen, mag daran liegen, dass unser Probandenkollektiv mit durchschnittlich 24 ± 5 Jahren im Vergleich zu durchschnittlich 34 ± 11 Jahren etwas jünger war. Chaidaroon und Juwattanasomran (2002) maßen unter skotopischen (aber nicht völlig dunklen) Bedingungen für ein emmetropes Probandenkollektiv im mittleren Alter von 31 Jahren eine mittlere PAW von rund $6,5 \text{ mm}$. Auch das steht im Einklang mit unseren Werten.

Ein Abfall der Pupillenweite mit dem Alter ist vielfach beschrieben (Borgmann 1972b, Loewenfeld 1993c, Winn et al. 1994, Ceurremans 2006, Fotiou et al. 2007, Heine et al. 2013) und beträgt ca. $0,4 \text{ mm/Dekade}$ bei Dunkelheit (Loewenfeld 1993c) bzw. schwächerer Beleuchtung (Winn et al. 1994, Heine et al. 2013) und ca. $0,15 - 0,25 \text{ mm/Dekade}$ bei stärkerer Beleuchtung (Winn et al. 1994, Heine et al. 2013).

4.1.3.2 Inter- und intraindividuelle Variabilität der PAW

Die oben beschriebene Abnahme der PAW mit steigendem Alter führt zu einer interindividuellen Variabilität der PAW zwischen unterschiedlich alten Probanden. Das in dieser Arbeit erfolgte Verwenden eines Probandenkollektivs ähnlichen Alters sowie das Verwenden der relMCAs gemäß den Standards der Pupillographie minimieren diese Variabilität (Kelbsch et al. 2019b).

Auch eine spontane Nahakkommodation auf den Fixationspunkt kann die PAW beeinflussen (Wilhelm H 2011) und zu inter- und intraindividuellen Unterschieden führen. Durch die konstante Betrachtung des Fixationspunktes war eine spontane akkommodationsbedingte Änderung der PAW in unserem Versuch allerdings unwahrscheinlich (Ceurremans 2006). Außerdem wurde die Präsentation eines Stimulus automatisch wiederholt, wenn nicht mindestens 90 % des initialen Pupillendurchmessers vor der Präsentation des nächsten Stimulus erreicht wurden.

Des Weiteren beeinflusst das im Laufe des Tages variierende zentralnervöse Aktivierungsniveau die PAW und ihre Veränderungen (Wilhelm B et al. 2001). Bei müden Probanden sind deutliche Schläfrigkeitwellen im Pupillogramm zu beobachten (Loewenfeld 1993a, Wilhelm B et al. 1998, Wilhelm H et al. 1998, Wilhelm B et al. 2001), welche eine eindeutige Auswertbarkeit einschränken. Die Probanden wurden deshalb angewiesen, vor dem Versuch ausreichend zu schlafen. Bei Morgenmüdigkeit nahmen die Probanden einen Kaffee ein, um schläfrigkeitsbedingte Pupillenoszillationen gemäß Wilhelm B et al. (2014) durch Koffein zu minimieren. Außerdem wurden die Messungen größtenteils vormittags oder am frühen Nachmittag durchgeführt. Pausen während des Versuchs waren immer gestattet, um konstante Aufmerksamkeit zu gewährleisten (Kelbsch 2012). Ein Proband, der nur 4 Stunden geschlafen hatte, wurde aufgrund starker Schläfrigkeitwellen an einem anderen Tag nochmals gemessen und nur letztere Messung in die Auswertung miteinbezogen.

Auch psychologische Faktoren wie ein erhöhtes mentales Erregungsniveau, Angst oder Stress können PAW und PLR beeinflussen (Wilhelm H 2011, Kelbsch 2012, Mathôt 2018, Szabadi 2018). Dem wurde durch sorgfältige Aufklärung und

Versuchsvorbereitung, eine angenehme Sitzposition, entspannte Atmosphäre der Messungen sowie einen dunklen und ruhigen Versuchsraum vorgebeugt.

4.1.3.3 Betrachtungen zur Beziehung zwischen PAW und relMCA

Ein Absinken der PAW mit steigender Stimulusfläche der Kreisstimuli war ursprünglich nicht erwartet. Sie ist wahrscheinlich auf eine etwas zu kurz gewählte Interstimuluszeit beziehungsweise auf eine auf zeitlicher Summation der Stimuluswiederholungen basierende Adaptation der PAW zurückzuführen (vgl. Loewenfeld 1993c). Um eine eventuelle Beeinflussung der relMCA durch die PAW zu erkennen, wurden beide Parameter deshalb auf Korrelation untersucht. Insgesamt ergab sich eine signifikante negative Korrelation zwischen den Parametern bei gering bis mäßig großem Determinationskoeffizienten und breiter Streuung. Einzeln betrachtet ergab sich in der photCPC nur bei einem Stimulustyp eine signifikante Korrelation, in der scotCPC war der Abfall der PAW trotz Signifikanz absolut wie relativ betrachtet sehr gering.

Die gefundene negative Korrelation zwischen PAW und relMCA spiegelt den Sachverhalt wider, dass hohe relMCAs vor allem auf große Stimuli gemessen wurden, welche aufgrund der kurzen Interstimuluszeit zu einer geringeren PAW führten. Das Verwenden der relMCA hat gegenüber dem Verwenden der absoluten Pupillenkonstriktion den Vorteil, den Effekt von Schwankungen der PAW und individuellen Unterschieden zu minimieren (Kelbsch et al. 2019b). Die relMCA hängt weniger von der PAW ab, wobei die Abhängigkeit mit der Stimulusfläche steigt (eine kleine Pupille vermindert den Lichteinfall auf die Retina, was potentiell auch in unserem Experiment eine Rolle spielen könnte (Borgmann 1972a, Loewenfeld 1993a, Schmid et al. 2004, Skorkovská et al. 2012)). Studien zur visuellen Perimetrie zeigten überwiegend bei Pupillenweiten im Bereich von 2 mm oder kleiner vor allem für Stimuli mit einer Exzentrizität von 10° oder mehr geringere perimetrische Sensitivitäten bzw. eingeengte Gesichtsfelder (Forbes 1966, McCluskey et al. 1986, Wood et al. 1988, Lindenmuth et al. 1989, Webster et al. 1993, Edgar et al. 1999). In der dunkeladaptierten chromatischen (DAC) Perimetrie fanden Stingl K et al. für Pupillendurchmesser über 4 mm und einer Stimulusexzentrizität von 0 - 30° keine signifikante Korrelation von Schwellenempfindlichkeit und Pupillendurchmesser

(Stingl K et al. 2020; Krunoslav Stingl, persönliche Mitteilung, 17. 09. 2019). Trotz methodischer Unterschiede dieser Verfahren zur in der vorliegenden Arbeit verwendeten Pupillenkampimetrie, können die beschriebenen Erkenntnisse zumindest den Schluss zulassen, dass in der Pupillenkampimetrie vor allem bei PAWs im Bereich von 2 mm (in dieser Arbeit nicht erreicht) bezüglich der Stimulusabbildung Vorsicht geboten ist. Große relMCAs bei geringeren PAWs machen es zusätzlich unwahrscheinlich, dass die PAWs hier in dieser Hinsicht zu klein waren.

Außerdem ist zu beachten, dass die PLR bei ca. 2,75 - 3,8 mm PAW in einen durch den M. sphincter pupillae bedingten mechanisch non-linearen Bereich übergeht (Loewenfeld 1993b). In der vorliegenden Arbeit waren in der scotCPC alle PAWs größer als 5 mm und in der photCPC nur 4,6 % der PAWs kleiner als 4 mm, alle aber größer als 3,5 mm. Die korrespondierenden relMCAs dieser kleinen PAWs lagen, bis auf einen Wert, alle im Bereich von ± 2 Standardabweichungen. Das mechanische Limit wurde nicht erreicht.

Das alles lässt trotz unterschiedlicher PAWs eine weitgehend zuverlässige Beurteilung der Ergebnisse zu.

4.1.4 Weitere Einflussfaktoren auf die Pupillogramme

4.1.4.1 Variabilität der Pupillenantworten

Im Allgemeinen besteht eine große inter- und intraindividuelle Variabilität der Pupillenantworten (Borgmann 1972c, Ellis 1981, Kardon RH et al. 1991, Loewenfeld 1993a, Wilhelm H und Wilhelm 2003, Ceurremans 2006, Wilhelm H 2011, Kelbsch 2012). Diese ist bei geringeren Intensitäten ausgeprägter (Ellis 1981, Kardon RH et al. 1991). Um den Einfluss der intraindividuellen Variabilität zu minimieren, wurden die Reize stets 10-mal präsentiert und ein daraus gemittelttes Pupillogramm analysiert. Der Einfluss der interindividuellen Variabilität wurde durch Untersuchung eines breiten Probandenkollektivs ähnlichen Alters und das Verwenden der relMCAs minimiert. Außerdem wurden die mittleren relMCAs aller Probanden gesichtet und ein Proband wurde aufgrund eines durchschnittlichen Unterschiedes seiner relMCAs von mehr als zwei Standardabweichungen vom Gesamtkollektiv ausgeschlossen.

4.1.4.2 Blinzelartefakte

Blinzelartefakte, die ebenfalls müdigkeitsbedingt sowie durch ein trockenes Auge auftreten können (Ceurremans 2006, Kelbsch 2012), wurden mittels der Inhouse-Software bereinigt. Wenn diese während der Stimuluspräsentation ein Blinzeln erfasste, wurde die Präsentation des entsprechenden Stimulus außerdem automatisch wiederholt. Zusätzlich wurden die Pupillogramme manuell gesichtet und Kurven mit Blinzeln zwischen 500 und 900 ms ausgeschlossen. Das Mitteln von mehreren Pupillogrammen trug zur Glättung der Kurve und größerer Unabhängigkeit von Artefakten bei.

4.1.4.3 Fixation

Da in wir in dieser Arbeit im Vergleich zu Stingl K et al. (2018) und Kelbsch et al. (2019a) größere Stimuli verwendeten, wurde auf die Gaze-Tracking-Funktion verzichtet. Eine Anpassung der Stimulusposition bei Fixationsverlust hätte bei Stimuli mit einem Radius von 40° mitunter eine inkomplette Abbildung zur Folge gehabt, da die Bildschirmgröße hier Grenzen setzte. Eine Fixationsmarke sowie die Kontrolle durch den Untersucher mittels des Livebildes stellten dennoch eine stabile Fixation sicher. Die Probanden waren außerdem sehgesund und wiesen keinen Nystagmus auf. Dies erleichterte die Fixation. Die Praxis deckte sich mit den Erfahrungen von Kardon RH et al. (1991), nach denen Fixationsverlust in der Pupillenperimetrie ein geringeres Problem darstellt als in der visuellen Perimetrie.

4.1.4.4 Refraktion

Es wurden nur Probanden mit Refraktionsanomalien im Bereich von maximal ± 3 dpt eingeschlossen. Dass diese bei der verwendeten Stimulusgröße eine Rolle spielen, ist nicht anzunehmen (Ceurremans 2006, Kelbsch 2012). Evidenz hierfür lieferte auch eine unveröffentlichte Projektarbeit einer Studentin der Universität Tübingen in der AG Pupillenforschung zum Einfluss von Refraktionsfehlern auf die Pupillenkampimetrie (Stingl K und Kohm 2018). In dieser Arbeit fand sich für relMCAs auf weiße, rote und blaue Stimuli im Bereich von 30° kein signifikanter Einfluss von Refraktionsfehlern im Bereich von ± 3 dpt.

4.2 ReIMCA

4.2.1 Abhängigkeit der ReIMCA von Stimulusfläche und CFD

Die reIMCA stieg sowohl bei der Präsentation zapfen- als auch bei der Präsentation stäbchenspezifischer Stimuli mit steigender Stimulusfläche und steigender CFD an, wie die Abbildungen 13, 14 und 15 zeigen.

Bei Präsentation von Ringen in ansteigender Fläche (d. h. steigender zentraler Fläche aufgrund des abnehmenden Innenradius bei gleichbleibendem Außenradius) fiel der Anstieg der reIMCA unter stäbchenspezifischen Bedingungen deutlich geringer aus als unter zapfenspezifischen Bedingungen.

Da ein Stimulus mit größerer Fläche mehr Photorezeptoren aktiviert (höhere räumliche Summation), war eine Abhängigkeit der reIMCA von der Stimulusfläche zu erwarten.

In einer der ersten Arbeiten zu räumlichen Summationseffekten auf die PLR untersuchte Alexandridis (1970) den Bezug zwischen pupillomotorischer Schwellenleuchtdichte und Stimulusfläche für weißes Licht und fand heraus, dass unter Dunkeladaptation bis zu einem Reizfelddurchmesser von 30° zwischen beiden Parametern das Riccosche Gesetz gilt, nach dem das Produkt aus Schwellenleuchtdichte und Reizfeldfläche konstant ist. Bei Reizfeldern mit Durchmessern von über 30° flacht die Kurve ab und es gilt eher das Pipersche Gesetz, nach dem das Produkt aus Schwellenleuchtdichte und Wurzel der Reizfeldfläche konstant ist (Alexandridis 1970). Das heißt, bis zu einer Größensteigerung der Stimulusfläche auf einen Stimulusradius von 15° sinkt die pupillomotorische Schwelle pro Steigerungsschritt deutlich stärker ab als bei Größensteigerungen über einen Radius von 15° hinaus. Dieser Zusammenhang weist eine Analogie zu unseren Ergebnissen auf, auch wenn wir statt einer Schwellenbestimmung überschwellige Stimuli wählten. Bei Verwendung unserer Kreisstimuli steigt die reIMCA zu Beginn der Flächensteigerung, also bei Steigerung des Stimulusradius von 3° auf 10° deutlich stärker als zum Ende hin, also bei weiterer Steigerung des Stimulusradius von 10° auf 40° .

Betrachtet man die Literatur zu überschwelliger Stimulation, wie sie in dieser Arbeit zum Einsatz kam, so ist ein linearer Zusammenhang, wie wir ihn für

Kreisstimuli zwischen relMCA und dem Logarithmus der Stimulusfläche fanden, zwischen Amplitude der PLR und dem Logarithmus der Stimulusintensität in einem gewissen Bereich bereits bekannt (Ellis 1981, Kardon RH et al. 1991, Kardon RH 1992, Loewenfeld 1993a, Hong et al. 2001).

Zwischen Stimulusfläche und PLR werden allerdings unterschiedliche Zusammenhänge in der Literatur beschrieben. Verschiedene Studien haben eine logarithmische Abhängigkeit der helladaptierten Pupillengröße von der CFD, dem Produkt aus Stimulusleuchtdichte und -fläche, ergeben (Stanley und Davies 1995, Watson und Yellott 2012).

Skorkovská et al. (2014), die Summationseffekte auf die Pupillenlichtreaktion mittels Kreisstimuli unterschiedlicher Radien untersuchten, allerdings für weißes Licht unter photopischen Bedingungen, fanden einen bi-linearen Kurvenverlauf des Logarithmus der Pupillenantwort aufgetragen gegen den Logarithmus der Stimulusfläche. Die Steigung der Kurve war anfangs (je nach Stimulusparametern bis zu einem Radius von ca. $0,7^\circ$ bis $4,5^\circ$) steiler als gegen Ende. Wir fanden hingegen eine konstant-lineare Beziehung zum Logarithmus der Stimulusfläche, was daran liegen mag, dass unser kleinster Stimulusradius bereits 3° betrug, der nächstgrößere 5° .

Atchison et al. (2011) beobachteten eine konstante Pupillenkonstriktion bei konstant gehaltener CFD unabhängig von der Stimulusfläche für zentral präsentierte achromatische Stimuli mit Radien zwischen $0,5^\circ$ und 12° im mesopischen und photopischen Bereich. In einer Studie von Joyce et al. (2016) wurde die durch kurz- und langwellige Stimuli ausgelöste relMCA unter Konstanthaltung verschiedener Parameter verglichen. Der Vergleich der durch zentral (0°) und peripher (20°) lokalisierte Stimuli mit entweder konstanter CFD, Bestrahlungsstärke oder Stimulusfläche ausgelösten relMCA zeigte ebenfalls, dass eine konstante CFD (mit variabler Stimulusfläche) weitestgehend zu einer relativ konstanten Pupillenkonstriktion führte. Dies war sowohl für kurz- als auch für langwellige Stimuli der Fall. Zhang et al. (2019) stellten allerdings analog zu uns fest, dass dieser Zusammenhang nicht ohne räumliche Gewichtung gilt. Sie verglichen unter photopischen Bedingungen die PLR auf zentral helle, rechteckige Stimuli und auf anuläre, zentral dunkle Stimuli (Morphologie ähnlich

der eines breiten Bilderrahmens) gleicher CFD. Die durch den anulären „Rahmen“-Stimulus hervorgerufene Pupillenkonstriktion fiel trotz gleicher CFD kleiner aus als die durch das zentrale Rechteck hervorgerufene. Gründe hierfür sind wahrscheinlich die gleichen, wie die für den in vielen Studien beobachteten Exzentrizitätseffekt auf die PLR (siehe hierzu Kapitel 4.2.4). Hu et al. (2020) untersuchten in einer Studie unter anderem den Effekt von Stimulusfläche und -exzentrizität auf die PLR und beschrieben die maximale Pupillenkonstriktion auf weiße, peripher lokalisierte Stimuli als eine Funktion aus CFD und Exzentrizität. Unsere Ergebnisse für zapfenspezifische (photopische) und stäbchenspezifische (skotopische) Kreisstimulation stimmen mit den früheren Arbeiten überein, was den logarithmischen Zusammenhang zwischen relMCA und CFD betrifft. Ebenso kann auch in unserer Arbeit eine geringere Effektivität der Ringstimuli im Vergleich zu den Kreisstimuli im Hinblick auf die ausgelöste Amplitude der PLR beobachtet werden. So war zum Beispiel die relMCA in der photCPC auf einen $r20^{\circ}/40^{\circ}$ - Stimulus geringer als die auf einen $c20^{\circ}$ Stimulus, obwohl ersterer eine fast dreifach so hohe CFD aufweist.

Im Kontrast zu unseren Ergebnissen und den anderen beschriebenen Studien steht eine Studie von Park et al. (2015) zur räumlichen Summation der PLR. In dieser Arbeit wurden zapfen-, stäbchen- und melanopsinvermittelte Pupillenantworten auf kurz- und langwellige Stimuli unterschiedlicher Fläche und Leuchtdichte untersucht. Die Autoren kamen zu dem Ergebnis, nur stäbchen- und melanopsinvermittelte (dunkeladaptierte) Antworten seien abhängig von der CFD, zapfenvermittelte (helladaptierte) Antworten seien dagegen hauptsächlich von der Stimulusleuchtdichte abhängig und nahezu unabhängig von der Stimulusfläche. Allerdings ist ein Vergleich zwischen unserer Arbeit und der Arbeit von Park et al. (2015) nur eingeschränkt möglich, da in der Arbeit von Park et al. nur fünf Patienten untersucht wurden, zapfenspezifische Stimuli nach Adaptation an einen deutlich helleren stäbchenunterdrückenden Hintergrund als den von uns verwendeten präsentiert wurden und andere Stimulusleuchtdichten zum Einsatz kamen.

4.2.2 Dominanz des Zentrums für zapfenspezifische Stimulation

Betrachtet man die Ergebnisse der durch zapfenspezifische Stimulation ausgelösten relMCAs, so erkennt man eine dominierende Rolle des zentralen Gesichtsfelds. Eine logarithmische Kurve der relMCA mit hoher Steigung zu Beginn und geringerer Steigung am Ende betont diesen Zusammenhang. Auch der exponentielle Anstieg der relMCA bei steigender Stimulusfläche/CFD aufgrund des kleiner werdenden Innenradius eines Ringstimulus und damit wachsender zentraler Stimulation passt zu dieser Dominanz. Obwohl die Fläche des größten Kreisstimulus um ein Vielfaches größer ist als die des kleinsten, war die durch den größten Kreis (Radius 40°) hervorgerufenen relMCA nur doppelt so groß wie die durch den kleinsten Kreis (Radius 3°) hervorgerufene relMCA. Die relMCA stieg ebenfalls deutlich an durch eine Vergrößerung der zentralen Stimulation bei gleichzeitiger Stimulation der Peripherie (d. h. Verkleinern des Innenradius eines Kreisstimulus). So war die relMCA auf einen $r3^\circ/40^\circ$ -Ringstimulus um ein Drittel höher als die auf einen $r20^\circ/40^\circ$ -Ringstimulus. Diese Beobachtungen passen zur morphologischen Verteilung der Zapfen mit einem Dichtemaximum in der Netzhautmitte und einer steilen Abnahme zur Peripherie hin (Curcio et al. 1990). Die kumulative Anzahl an Zapfen und damit die Anzahl aktivierter Photorezeptoren steigt zur Peripherie hin jedoch nahezu exponentiell an. Deshalb ist die Morphologie nicht hinreichend, um die beobachteten Pupillenreaktionen zu erklären. Die relMCA korreliert nicht mit der Anzahl der aktivierten Photorezeptoren. Wäre dies der Fall, so müsste die Reaktion auf $c40^\circ$ nach Curcio et al. (1990) und einer Annahme von $280 \mu\text{m}/\text{Grad}$ Sehwinkel ca. 10-mal so hoch sein wie die relMCA auf $c3^\circ$. Betrachtet man die durch einen $r3^\circ/40^\circ$ -Stimulus ausgelöste relMCA, fällt ein weiterer Effekt auf: Die hervorgerufene relMCA war weit höher als man unter der Annahme einer linearen räumlichen Summation anhand der bereits recht hohen relMCA auf den $c3^\circ$ -Stimulus erwarten würde. Dem entsprechend erhält man durch Addition der relMCA auf $c3^\circ$ und $r3^\circ/40^\circ$ einen höheren Wert als den der relMCA auf $c40^\circ$. Zur Erklärung dieser Beobachtung kommen mehrere Mechanismen in Frage. Zum einen ist es möglich, dass das Zentrum bei Stimulation die Peripherie hemmt. Dies würde bedeuten, wenn gleichzeitig das Zentrum stimuliert wird

(Kreisstimuli ansteigender Fläche) tragen die peripheren Zapfen aufgrund von Hemmungseffekten weniger zur reIMCA bei, als wenn die Peripherie separat stimuliert wird (Ringstimuli). Eine andere mögliche Erklärung ist, dass die Peripherie das Zentrum hemmt. Allerdings müssten dann die Unterschiede zwischen den reIMCAs auf die verschiedenen Ringstimuli geringer ausfallen, da es bei Verkleinerung des Ringinnenradius nicht zu einem Anstieg der reIMCA käme. Dieses Ergebnis führt zu der Hypothese, dass bei zapfenspezifischer Stimulation der Pupille das Zentrum der Netzhaut die Peripherie inhibiert. Eine weitere denkbare Erklärung ist ein Sättigungseffekt auf neuronaler Ebene. Dies würde bedeuten, dass die Pupillenreaktion, sobald ein gewisses Maximum an pupillomotorischem Input erreicht wurde, nicht mehr weiter zunimmt und zwar unabhängig von der mechanischen Limitation des Sphinkters (Loewenfeld 1993b), die erst bei geringeren Pupillenweiten erreicht wird, sowie der Sättigung der Photorezeptoren (Aguilar und Stiles 1954, Hood et al. 1978), die erst bei höheren Intensitäten erreicht wird. Nicht-sphincterbedingte Sättigungseffekte der PLR wurden von Young et al. (1993) und Young und Kennish (1993) gefunden, die eine Sättigung der transienten Komponente der Pupillenreaktion bei Steigerung der Leuchtdichte beziehungsweise des Kontrasts beobachteten und außerdem von Maddess et al. (2011) bei multifokaler Stimulation beschrieben. Bei beiden Arbeiten ist jedoch möglich, dass die Sättigung durch die Höhe der Stimulusintensitäten eintrat. Die Vorstellung eines Sättigungsmechanismus in der vorliegenden Arbeit ist eine flächenbedingte Sättigung. Ein möglicher Mechanismus wäre, dass ab einer gewissen Stimulusfläche, die Sensitivität des pupillomotorischen Systems auf eine weitere Flächensteigerung abnimmt. Vermittelt werden könnte dieser Mechanismus durch Eintritt einer gesättigten Signalverarbeitung auf Ebene der Bipolarzellen, retinalen Ganglienzellen oder Neuronen im Hirnstamm.

Auch eine Kombination aus Sättigungs- und Inhibitionseffekt ist mit unseren Ergebnissen in Einklang zu bringen.

In der Literatur existieren unserem besten Wissen nach bisher keine Arbeiten, die die hier beobachteten Effekte in gleicher Weise stäbchen- und zapfenspezifisch untersucht oder beschrieben haben. Einige Arbeiten

beschreiben jedoch für weißes Licht sowie einzelne Arbeiten für beide Photorezeptoren Exzentrizitätseffekte auf die PLR bei fokaler Stimulation. Um textliche Wiederholungen zu vermeiden, erfolgt die Einordnung der beschriebenen Ergebnisse in diese Thematik nach der folgenden Betrachtung der stäbchenspezifischen Ergebnisse für beide Photorezeptoren gesammelt im übernächsten Kapitel (4.2.4).

4.2.3 Dominanz der Peripherie für stäbchenspezifische Stimulation

Bei stäbchenspezifischer Stimulation scheint im Gegensatz zur zapfenspezifischen Stimulation die Peripherie die Pupillenantwort zu dominieren und maßgeblich zu bestimmen. Das Zentrum scheint kaum eine Rolle zu spielen. Die durch den Kreisstimulus mit der kleinsten Fläche ($c3^\circ$) hervorgerufene relMCA betrug nur ein Drittel des Wertes der durch den Kreisstimulus mit der größten Fläche hervorgerufenen relMCA. Bei zapfenspezifischer Stimulation war sie hingegen bereits halb so hoch. Die Dominanz der Peripherie wird noch deutlicher bei Betrachten des Verlaufs der durch die verschiedenen Ringstimuli erhaltenen relMCAs. Eine Verkleinerung des Innenradius eines Ringstimulus und damit Vergrößerung des zentral stimulierten Bereichs bei gleichzeitiger Stimulation der Peripherie verstärkte die Pupillenantwort nur minimal. Auch hier könnte man argumentieren, dieses Verhalten sei allein anhand der retinalen Verteilung der Photorezeptoren zu erklären, da sich im Zentrum der Netzhaut (Fovea centralis) ein stäbchenfreier Bereich befindet (Curcio et al. 1990). Nach Curcio et al. (1990), der sieben Spenderaugen im Alter von 22 - 47 Jahren untersuchte, beträgt der Durchmesser des stäbchenfreien Bereichs der Netzhaut durchschnittlich jedoch nur $1,25^\circ$. Bei ca. 2° Exzentrizität ist das Stäbchen-Zapfen-Verhältnis bereits größer als 1. Das ist der Grund, weshalb auf den $c3^\circ$ -Kreisstimulus eine deutliche Pupillenreaktion zu beobachten ist. Die maximale Stäbchendichte wird zwischen 15° und 20° erreicht (Curcio et al. 1990). Anhand der Morphologie wäre also ein deutlicherer Anstieg der relMCA bei Verkleinerung des Innenradius eines Rings zu erwarten. Unsere Ergebnisse zeigen das aber nicht. Isoliert stimuliert erzeugen die zentralen Stäbchen eine deutliche Pupillenreaktion. Bei gleichzeitiger Stimulation der Peripherie haben sie jedoch keinen wesentlichen Einfluss mehr. Dazu passt ebenfalls die logarithmische

Beziehung zwischen relMCA und Fläche/CFD für Kreisstimuli. Das exponentielle Modell für Ringstimuli passt für Stäbchen weniger gut. Dies führt zu folgender Hypothese: Werden die peripheren Stäbchen stimuliert, so hemmt die Peripherie den Einfluss der zentralen Stäbchen auf die Pupillenreaktion. Ebenfalls denkbar wäre ein Sättigungseffekt (für eine nähere Erläuterung hierzu siehe Kapitel 4.2.2). Dieser allein würde jedoch nicht die unterschiedlichen Zusammenhänge bei Stäbchen und Zapfen erklären. Auch hier ist eine Kombination aus Sättigungs- und Inhibitionseffekt vorstellbar.

4.2.4 Bezug zu Exzentrizitätseffekt in anderen Studien

In der Literatur existieren unserem besten Wissen nach bisher keine Arbeiten, die die hier beobachteten Effekte in gleicher Weise untersucht oder beschrieben haben. Es existieren jedoch eine Reihe von Arbeiten zur Pupillographie, die bei überschwelliger Stimulation, wie hier verwendet, ebenfalls eine dominante Rolle des Zentrums auf fokale Stimuli beschreiben (Kardon RH et al. 1991, Kardon RH 1992, Schmid et al. 2000, Hong et al. 2001, Skorkovská et al. 2014, Haj Yahia et al. 2018, Stingl K et al. 2018, Kelbsch et al. 2019a, Hu et al. 2020, Kelbsch et al. 2020, Stingl K et al. 2020). Außerdem existieren eine Reihe von Arbeiten, die bei der pupillomotorischen Schwellenbestimmung eine zentral niedrigere Schwelle als peripher feststellten (Harms 1949, Bresky und Charles 1969, Alexandridis 1971, Jensen 1976, Hellner und Sautter 1978, Loewenfeld 1993a).

Von all diesen Arbeiten beschreiben jedoch nur vier photorezeptorspezifische Verfahren. Hiervon bezieht sich eine Arbeit nur auf Zapfen (Kelbsch et al. 2020), eine nur auf Stäbchen (Stingl K et al. 2020) und zwei beziehen sich auf beide Photorezeptoren (Haj Yahia et al. 2018, Kelbsch et al. 2019a). In den restlichen Arbeiten kam weißes Licht zum Einsatz, eine explizit photorezeptorspezifische Differenzierung fand nicht statt. Um hieraus folgende textliche Wiederholungen in den Diskussionskapiteln 4.2.2 und 4.2.3, die für Stäbchen und Zapfen getrennte Mechanismen untersuchen, zu vermeiden erfolgt die Einordnung unserer Ergebnisse in den Kontext des Exzentrizitätseffekts an dieser Stelle gesondert.

4.2.4.1 Exzentritätseffekt bei überschwelliger Stimulation

Ein Exzentritätseffekt auf die PLR mit zentral stärker ausfallenden Reaktionen als peripher konnte bereits für zapfen- und stäbchenadressierende lokale Stimulation gezeigt werden (Haj Yahia et al. 2018, Kelbsch et al. 2019a). Der Effekt der Exzentrität war in beiden Arbeiten größer für Zapfen als für Stäbchen, aber bei beiden Photorezeptoren zu beobachten. Dies passt zu unseren Ergebnissen. Auch in einer Arbeit zur stäbchenspezifischen CPC von Stingl K et al. (2020) ergab sich ein Exzentritätseffekt auf die PLR. Als Grund dafür, dass der Exzentritätseffekt bei Stäbchen entgegen deren morphologischer Verteilung ebenfalls zu sehen ist, erwägen Kelbsch et al. (2019a) die neuronale Verbindung zwischen Stäbchen und Bipolarzellen. In einer Studie zur CPC bei AMD (Kelbsch et al. 2020) war der Exzentritätseffekt aufgrund der kranken Makula bei Patienten deutlich geringer als bei einer altersadaptierten gesunden Kontrollgruppe. Die relMCAs waren besonders im Zentrum reduziert. Auch diese Ergebnisse passen zu unseren Resultaten (photCPC).

Es ist aber zu beachten, dass in all diesen Arbeiten kleine, fokale Stimuli mit Radien von $0,2^\circ$ - 5° verwendet und Summationseffekte nicht explizit untersucht wurden. Die Arbeit zu Summationseffekten auf die PLR von Skorkovská et al. (2014) kam zu dem Ergebnis, dass die Pupillenlichtreaktion von Fläche, Intensität und retinaler Lokalisation des Stimulus abhängt. In derselben Arbeit wurde ebenfalls ein Exzentritätseffekt auf die PLR mit zentral höher ausfallenden relMCAs als peripher beobachtet. Die Vergleichbarkeit mit unseren Ergebnissen ist allerdings auch hier eingeschränkt, da unter Helladaptation weißes Licht mit Leuchtdichten von 1 - 140 cd/m^2 verwendet wurde und im Gegensatz zu unserer Arbeit keine photorezeptorspezifische Differenzierung erfolgte. Joyce et al. (2016), die zentrale (0°) und periphere (20°), CFD-gleiche, lang- und kurzwellige Stimuli mit photopischen Leuchtdichten verwendeten, konnten keinen Exzentritätseffekt auf die PLR beobachten. Grund könnte die Verwendung höherer Leuchtdichten als in unserer Studie sein. Allerdings existieren neben der Arbeit von Skorkovská et al. (2014) zahlreiche weitere Arbeiten, die einen Exzentritätseffekt auf die relMCA für weißes Licht ähnlicher Leuchtdichten wie von Joyce et al. verwendet ergeben haben (Kardon RH et al. 1991, Kardon RH

1992, Schmid et al. 2000, Schmid et al. 2004, Ceurremans 2006, Stingl K et al. 2018, Hu et al. 2020). Ursache könnte neben der Photorezeptortopographie möglicherweise eine periphere Abnahme der Ganglienzelldichte sein (Curcio und Allen 1990, Hu et al. 2020). Außerdem werden die rezeptiven Felder retinaler Ganglienzellen, die zum Praetectum ziehen und damit vermutlich die PLR vermitteln, nach peripher hin größer (Clarke et al. 2003). Eine weitere Ursache könnte der Stiles Crawford-Effekt darstellen, nachdem Licht, welches näher am Pupillenrand in das Auge einfällt, für die Erregung von Zapfen weniger effektiv ist als zentral einfallendes Licht (Loewenfeld 1993a). Zuletzt könnte auch die Verteilung der Neurone im Nucleus olivaris praetectalis eine Rolle spielen, von denen bei Primaten ein hoher Anteil von 30% vor allem auf nahe der Makula präsentierte pupillomotorische Reize reagiert (Clarke et al. 2003). Zusätzlich vermitteln die anderen beiden PON-Neuron-Klassen neben ihrer Vermittlung peripherer Reize ebenfalls zentrale Reize (Clarke et al. 2003).

Im Kontrast zur fokalen Pupillenperimetrie und -kampimetrie stehen multifokale Verfahren, welche in vielen Fällen keinen zentralen Peak der relMCA bei Kontrollprobanden nachweisen konnten (Maddess et al. 2009, Bell et al. 2010, Carle et al. 2011, Sabeti et al. 2011, Sabeti et al. 2015). Zwei andere Arbeiten, die ebenfalls multifokale Pupillographie anwandten, konnten den zentralen Peak hingegen zeigen (Wilhelm H et al. 2000, Chibel et al. 2016). Die Gegensätze sind am ehesten durch Unterschiede in der Methodik zu erklären. Bei multifokalen Ansätzen werden unterschiedliche Bereiche der Netzhaut gleichzeitig stimuliert. Dies führt zu anderen Summationsmechanismen und schränkt die Vergleichbarkeit zu fokalen Methoden ein.

4.2.4.2 Exzentrizitätseffekt bei Schwellenbestimmung

Unter helladaptierten Bedingungen ist die pupillomotorische Schwelle zentral niedriger als peripher (Harms 1949, Bresky und Charles 1969, Alexandridis 1971, Jensen 1976, Hellner und Sautter 1978, Loewenfeld 1993a). Dies passt zu den durch überschwellige Stimuli gleicher Leuchtdichte erhaltenen zentral höher ausfallenden relMCAs. Unter dunkeladaptierten Bedingungen finden sich in der Literatur unterschiedliche Ergebnisse. Während Harms (1949) unter mäßig dunkeladaptierten und Hellner und Sautter (1978) auch unter dunkeladaptierten

Bedingungen zentral eine niedrigere Schwelle als peripher ermittelten, zeigte sich bei den meisten Arbeiten ein (relatives) pupillomotorisches Zentralskotom unter dunkeladaptierten Bedingungen (Schweitzer 1956, Alexandridis 1971, Loewenfeld 1993a). Grund, dass dieses von Harms nicht nachgewiesen wurde, ist wahrscheinlich, dass mit seinem Verfahren keine vollständige Dunkeladaptation möglich war. Auch bei Hellner könnte die Dunkeladaptation nicht vollständig gewesen sein. Weitere mögliche Fehlerquellen sind Streulicht und mangelnde Fixation. Das Zentralskotom bei der Schwellenbestimmung unter Dunkeladaptation steht im Kontrast zu dem bei überschwelliger Stimulation erhaltenen Exzentrizitätseffekt unter stäbchenspezifischen Bedingungen in dieser Arbeit sowie den Arbeiten von Kelbsch et al. (2019a) und Stingl et al. (2020). Ursachen könnten die verwendete größere Stimulusfläche (hierdurch größere räumliche Summation) sowie eine andere Signalverarbeitung bei überschwelliger Stimulation sein.

4.2.5 Nicht-lineare räumliche Summation der Pupillomotorik

Insgesamt wird aus unseren Ergebnissen und den in den vorherigen Kapiteln beschriebenen Zusammenhängen ersichtlich, dass die räumliche Summation zapfen- und stäbchenspezifischer pupillomotorischer Stimuli nicht linear erfolgt (siehe hierfür insbesondere Ergebnisteil, Kapitel 3.1.6). Die durch Summation der relMCAs der korrespondierenden Kreis- und Ringstimuli (z. B. $c3^\circ + r3^\circ/40^\circ$) erhaltene relMCA war sowohl für zapfen- als auch für stäbchenspezifische Stimuli im Mittel stets signifikant höher ist als die relMCA, die durch einen 40° -Kreisstimulus hervorgerufen wurde. Der für beide Photorezeptoren statistisch signifikante Effekt der verschiedenen Stimulussummationen auf die relMCA unterstreicht dies und spricht gegen eine lineare räumliche Summation. Diese Ergebnisse passen sowohl zum Erklärungsmodell eines Inhibitionseffekts als auch dem eines Sättigungseffekts.

Kardon RH et al. (1991) erklärten, dass die Fähigkeit der Pupillenperimetrie, einen lokalen Defekt zu entdecken, bei zu hohen Stimulusleuchtdichten eingeschränkt sein kann, da hier eine nicht-lineare Antwortkurve der Netzhaut entsteht, die zu einer weniger sensitiven Pupillenantwort führt. Unseren Ergebnissen nach gilt dieser Zusammenhang auch für die Stimulusfläche.

Eine nicht-lineare räumliche Summation ist für einige RGCs zur visuellen Perzeption bereits seit längerem bekannt (vgl. Review von Gollisch 2013). Hierbei handelt es sich vor allem um non-lineare Y-Zellen, die nach Loewenfeld (1993a) allerdings nur einen kleinen Teil der pupillomotorischen Affferenz vermitteln.

Auch für die PLR sind nicht-lineare Mechanismen in der Literatur beschrieben. Vornehmlich handelt es sich dabei um Non-Linearitäten, die durch Erreichen des Grenzbereichs der Muskelfunktion bei hohen Stimulusintensitäten entstehen (Loewenfeld 1993b). Durch die erfolgte Verwendung schwelennaher Stimuli ohne Erreichen des mechanisch non-linearen Bereichs des M. sphincter pupillae kann dieser Mechanismus in der vorliegenden Arbeit jedoch weitgehend ausgeschlossen werden.

Andere Arbeiten untersuchten das Summationsverhalten von Signalen der PLR mittels der Verwendung von Flimmerstimuli und fanden Ergebnisse, die auf non-lineare Signalverarbeitungsprozesse des afferenten Pupillensignals auf neuronaler Ebene (Howarth et al. 1991, Barrionuevo et al. 2018), genauer auf Ebene der Photorezeptoren (Zapfen und Stäbchen) oder Bipolarzellen, hindeuten. Die Signalsummation von Zapfensignal plus Stäbchensignal für die PLR auf Flimmerstimuli unter mesopischen Bedingungen erfolgt hingegen linear (Barrionuevo et al. 2014). In unserer Studie wurden Stäbchen und Zapfen jedoch getrennt stimuliert. Im Gegensatz zur Untersuchung von Summationseffekten zwischen beiden Photorezeptoren untersuchten wir räumliche, von der Stimulusfläche abhängige Summationseffekte photorezeptorspezifisch. Statt Flimmerstimuli kamen konstante Stimuli zum Einsatz. Ein direkter Vergleich der genannten Ergebnisse mit den Unseren ist also nicht möglich.

Zur Beschaffenheit der zapfen- und stäbchenspezifischen räumlichen Signalsummation für die PLR findet sich kaum Literatur. Die Ergebnisse der im Zusammenhang von Kapitel 4.2.1 näher beschriebenen Arbeiten, die räumliche Summationseffekte unter Verwendung von weißen Lichtstimuli unterschiedlicher Fläche mittels Schwellenbestimmung (Alexandridis 1970) sowie überschwelliger Stimulation (Skorkovská et al. 2014) untersuchten, sind trotz der methodischen Unterschiede zu unserer Arbeit zumindest vereinbar mit einer nicht nicht-linearen

räumlichen Summation. Auch die beschriebenen Arbeiten zum Zusammenhang zwischen Stimulusfläche und reIMCA (Park und McAnany 2015, Joyce et al. 2016, Hu et al. 2020) sind mit nicht-linearer räumlicher Summation in Einklang zu bringen. Die Studie von Zhang et al. (2019), in der ähnliche Stimuli wie in der vorliegenden Arbeit eingesetzt wurden (Rechtecke statt Kreise und Rahmen statt Ringe), bekräftigt unser Ergebnis einer nicht-linearen räumlichen Summation. Allerdings wurde auch in dieser Arbeit weißes Licht und keine photorezeptorspezifische Adressierung verwendet.

Die Interpretation von Vorarbeiten der AG Pupillenforschung zur photorezeptorspezifischen CPC mit ähnlichen Stimuluseigenschaften wie den hier verwendeten (Kelbsch et al. 2019a, Kelbsch et al. 2020, Stingl K et al. 2020) wies zwar auf eine nicht-lineare Summation hin, diese wurde in den entsprechenden Arbeiten jedoch nicht explizit untersucht. Unsere Arbeit liefert hier also eine wichtige neue Erkenntnis.

Im Kontrast zu unserem Ergebnis einer nicht linearen räumlichen Summation steht eine ERG-Studie von Murray et al. (2004), in der L- und M-zapfenspezifische Stimuli zum Einsatz kamen, deren Morphologie der hier verwendeten Stimuli ähnelte (Kreise mit Radien bis zu 35° , Ringe mit Außenradien von 35° und variablen Innenradien). Die Ergebnisse der Arbeit, die eine simple lineare Summation der ERG-Amplitude auf Kreis- und Ringstimuli zeigten, deuten darauf hin, dass die ERG-Amplitude proportional zur Zahl der durch die Stimuli erregten Zapfen ist. Allerdings ist auch hier keine direkte Vergleichbarkeit zu unserer Arbeit gegeben, da es sich bei der ERG-Amplitude (im Gegensatz zur Pupillenantwort) bekanntermaßen um eine Summenantwort der Zapfen/Stäbchen nach Lichtstimulation handelt (Bach und Kellner 2000, Seeliger et al. 2001) und sich von ihr keine direkten Rückschlüsse auf die Pupillomotorik ziehen lassen.

4.3 Latenz

4.3.1 *Bezug zu anderen Studien*

4.3.1.1 Latenzunterschied zwischen Stäbchen und Zapfen

Die Latenzen stäbchenspezifischer Antworten waren mit einer mittleren Differenz von 57 ± 32 ms signifikant länger als die Latenzen zapfenspezifischer Antworten. Damit liegt der Unterschied zwischen Zapfen und Stäbchen im Bereich der Ergebnisse einer Studie speziell zur CPC (Kelbsch et al. 2019a) sowie mehrerer anderer Studien, die Stäbchen-Zapfen-Latenzunterschiede zwischen 20 und 100 ms ergaben (Frumkes et al. 1973, Barbur 1982, Cao et al. 2007, Zrenner et al. 2020).

4.3.1.2 Absolute Latenzwerte

In der kürzlich erschienenen Arbeit von Kelbsch et al. zur CPC (2019a) wurden unter Verwendung eines Stimulus mit einem Radius von 3° für Zapfen und einem Radius von 5° für Stäbchen zapfenspezifische Latenzen von 277 ± 25 ms und stäbchenspezifische Latenzen von 372 ± 13 ms ermittelt. In einer Studie zur CPC bei AMD ermittelten Kelbsch et al. (2020) unter Verwendung der gleichen Methodik eine zapfenspezifische Latenz von 273 ± 59 ms bei gesunden Kontrollprobanden. Die in diesen Studien gefundenen Zeiten liegen nah an den in der vorliegenden Dissertation ermittelten Ergebnissen für die entsprechenden Stimulusflächen. Aufgrund der hier geringeren Stimulusleuchtdichten (4 cd/m^2 und $0,001 \text{ cd/m}^2$ versus 60 cd/m^2 und $0,01 \text{ cd/m}^2$) fallen die gemessenen Werte mit 329 ± 34 ms ($c3^\circ$, Zapfen) und 372 ± 46 ms ($c5^\circ$, Stäbchen) für Zapfen etwas höher aus und weisen für Stäbchen eine höhere Streuung auf als in den Arbeiten von Kelbsch et al. Als Grund ist anzunehmen, dass der photochemische Prozess bei geringerer Intensität langsamer wird (Loewenfeld 1993a) und mit geringerer Leuchtdichte die interindividuelle Variabilität der PLR zunimmt (Ellis 1981, Kardon RH et al. 1991). Zele et al. (2019) maßen für zapfenspezifische Stimuli pupillomotorische Latenzen zwischen 325 und 491 ms.

In einer Studie zu ERG-Normalwerten (Zrenner et al. 2020) trat die b-Welle, die von Bipolarzellen generiert wird und damit in direktem Zusammenhang mit der Photorezeptoraktivität steht (Bach und Kellner 2000, Creel und Yu 2019), für

zapfenspezifische Stimulation nach durchschnittlich $30,9 \pm 1,2$ ms und für stäbchenspezifische Stimulation nach durchschnittlich $97,6 \pm 7,4$ ms auf. Auch dieser Unterschied geht in die gleiche Richtung wie unsere Ergebnisse.

4.3.2 Grund für Latenzunterschiede zwischen Zapfen und Stäbchen

Es ist anzunehmen, dass die retinale Verschaltung der Stäbchen sowie der langsamere Verlauf des Rezeptorpotentials der Stäbchen (Eysel 2007) Gründe für deren längere Latenz sind. Im Gegensatz zu Zapfen-ON-Signalen, die über Zapfen-ON-Bipolarzellen direkt an retinale ON-Ganglienzellen weitergeleitet werden (Kolb und Famiglietti 1974, Kaneda 2013, Eysel 2019b), wählen Stäbchen-ON-Signale einen anderen Weg durch die Netzhaut. Nach aktuellem Wissenstand werden die von einem Stäbchen generierten ON-Signale entweder über Stäbchen-ON-Bipolarzellen und A-II-Amakrinzellen an Zapfen-ON-Bipolarzellen weitergeleitet oder aber über Gap-Junctions direkt an Zapfen, um dann die entsprechende Endstrecke (über Zapfen-ON-Bipolarzellen und retinale ON-Ganglienzellen) zu nutzen (Famiglietti und Kolb 1975, Smith et al. 1986, Raviola und Dacheux 1987, DeVries und Baylor 1995, Demb und Pugh 2002). Der Signalübertragungsweg der Stäbchen besteht also aus mindestens einer Zelle mehr als der der Zapfen. Dies bedingt die Unterschiede in der zeitlichen Verarbeitung eines Signals. Der Weg über Gap-Junctions zwischen Stäbchen und Zapfen ist hierbei der schnellere (Zeile und Cao 2015), wahrscheinlich da er nur eine Zelle zusätzlich erfordert. Basierend auf den Ergebnissen elektrophysiologischer Messungen wird angenommen, dass unter niedrig skotopischen Bedingungen vor allem der langsamere, sensitivere Weg (Smith et al. 1986, Verweij et al. 1999, Zele und Cao 2015) über die Stäbchen-ON-Bipolarzellen und A-II-Amakrinzellen genutzt wird. Der langsame Weg ist wahrscheinlich deshalb sensitiver, da unter niedrig skotopischen Bedingungen die Signale des einzelnen Stäbchens gering sind, außerdem insgesamt weniger aktive Stäbchen ein Signal erzeugen und damit die Effizienz der für den schnellen Weg erforderlichen Signalübertragung zwischen Stäbchen und Zapfen mittels Gap-Junctions noch zu niedrig ist (Smith et al. 1986). Unter hohen skotopischen sowie mesopischen Bedingungen ist vor allem der schnellere Weg über die Gap-Junctions zu den Zapfen aktiv (Smith et al. 1986, Schneeweis und Schnapf 1995,

Verweij et al. 1999, Zele und Cao 2015). Bei vollständiger Aktivierung des schnelleren Transmissionswegs sinken die Latenzunterschiede zwischen Stäbchen und Zapfen von 60-80 ms auf 8-20 ms (Sun et al. 2001, Cao et al. 2007, Zele und Cao 2015). Dazwischen, bei hoch skotopischen und niedrig mesopischen Bedingungen, scheint ein Übergangszustand zu existieren, bei dem eine Signalübertragung über beide Wege erfolgt (Zele und Cao 2015). Der in der vorliegenden Arbeit ermittelte Latenzunterschied von durchschnittlich 57 ± 32 ms legt nahe, dass die Signalübertragung primär über den langsameren Transmissionsweg erfolgte. Dennoch scheinen größere Stimulusflächen und höhere CFD einen Übergangszustand aktiviert zu haben. So betrug der mittlere Latenzunterschied zwischen Stäbchen und Zapfen für den $c3^\circ$ -Stimulus 65 ± 37 ms und verkleinerte sich für den $c40^\circ$ Stimulus auf 43 ± 23 ms.

4.3.3 Abhängigkeit der Latenz von Stimulusfläche und CFD

Mit steigender Stimulusfläche und steigender CFD sanken sowohl zapfen- als auch stäbchenspezifische Latenzen. Auffallend ist, dass sich trotz der Latenzdifferenz zwischen Stäbchen und Zapfen für beide Photorezeptoren ein ähnlicher Kurvenverlauf ergab. Dies lässt auf ähnliche Summation bei beiden Rezeptoren und Adaptionszuständen schließen. Absolut betrachtet sinkt die Latenz von Stimulus zu Stimulus ansteigender Fläche etwa um immer den gleichen Betrag ab, obwohl der Flächenunterschied wie auch der Unterschied an aktivierten Photorezeptoren zwischen den Stimuli nicht konstant ist. Es liegt also ein nichtlinearer Abfall der Latenz vor. Zwischen Logarithmus der Stimulusfläche und Latenz ergab sich für beide Photorezeptoren ein negativ linearer Zusammenhang, zwischen CFD und Latenz ein negativ logarithmischer. Die CFD war in Bezug auf die Latenz bei Kreis- und Ringstimuli ähnlich effektiv. Die Ergebnisse passen zu den Beobachtungen von Hu et al. (2020) und Cibis et al. (1977). Hu et al. (2020) maßen die Latenz der Pupillenreaktion auf weiße Stimuli unterschiedlicher Fläche, Exzentrizität und Leuchtdichte und ermittelten eine Abhängigkeit der Latenz von der CFD. Cibis et al. (1977) demonstrierte ebenfalls eine Abnahme der pupillomotorischen Latenz bei Steigerung der Stimulusfläche und -leuchtdichte und zeigte außerdem einen negativ linearen Zusammenhang zwischen Latenz und Logarithmus der Stimulusleuchtdichte. Letzterer

Zusammenhang ist vielfach in der Literatur beschrieben (Ellis 1981, Gavriysky 1991, Loewenfeld 1993a, Myers und Stark 1993, Bitsios et al. 1996, Bergamin und Kardon 2003) und passt ebenfalls zu den Ergebnissen dieser Arbeit. Darüber hinaus ist bekannt, dass sich im ERG für beide Photorezeptoren mit steigender Stimulusleuchtdichte eine kürzere Latenz der b-Welle zeigt (Zrenner et al. 2020), auch das weist in die gleiche Richtung wie die hier vorliegenden Ergebnissen.

Anhand der Stimulusfläche sowie der damit verbundenen Zahl der aktivierten Photorezeptoren würde man eigentlich erwarten, dass die Latenzen auf die $c40^\circ$ -, $r3^\circ/40^\circ$ -, $r5^\circ/40^\circ$ - und $r10^\circ/40^\circ$ -Stimuli ähnlich ausfallen, während die Latenz auf den $r20^\circ/40^\circ$ länger ausfällt, was jedoch nicht der Fall war. Weder im zapfen- noch im stäbchenspezifischen Protokoll war der Unterschied zwischen der Latenz auf $c40^\circ$ und $r20^\circ/40^\circ$ signifikant. Dies führt zu zwei möglichen Hypothesen. Zum einen ist es möglich, dass das Signal zur Pupillenkonstriktion schneller übertragen wird, sobald die Peripherie stimuliert wird. Gegen diese Hypothese sprechen die Ergebnisse von Hu et al. (2020), die bis zu einer Exzentrizität von 13° keinen Effekt auf die relMCA für weißes Licht ermitteln konnten sowie die Ergebnisse von Cibis et al. (1977) und Kelbsch et al. (2019a), die bei einer Exzentrizität von bis zu 30° peripher sowohl für Zapfen als auch für Stäbchen peripher längere Latenzen als zentral zeigten. Allerdings wurden in all diesen Studien grundlegend andere, kleinere und fokale Stimuli verwendet als in der vorliegenden Arbeit, sodass ein Vergleich nur eingeschränkt möglich ist.

Eine andere Möglichkeit ist, dass ein Sättigungseffekt eintritt, sobald ein gewisses Maximum an pupillomotorischem Input durch eine bestimmte Stimulusfläche erreicht ist (hier ab dem $r20^\circ/40^\circ$ -Stimulus). Ab diesem Punkt hätte ein Anstieg der Stimulusfläche keinen Einfluss mehr auf die Latenz, sodass diese nicht weiter absinken würde. Eine solcher Sättigungseffekt ist bereits für Stimuli ansteigender Intensität beschrieben. Bergamin und Kardon (2003) untersuchten Pupillenkonstriktion und Latenz auf weiße Ganzfeld-Stimuli ansteigender Leuchtdichte. In ihrer Arbeit nahm ab einem gewissen Punkt nur noch die Verengung der Pupille zu, während die Latenz konstant bei einem Minimum von ca. 250 ms blieb und nicht weiter absank. Ähnliche Sättigungseffekte sind auch für kleinere Stimuli bei ansteigender Helligkeit

beschrieben (Ellis 1981, Myers und Stark 1993, Bitsios et al. 1996). Die minimale Latenz lag bei diesen Arbeiten im Bereich von 200-250 ms. Hu et al. (2020), die die Latenz auf helle weiße Stimuli ansteigender Fläche untersuchten, erhielten ebenfalls einen gesättigten Kurvenverlauf mit einer minimalen Latenz von ca. 250 ms. Auch wenn zu beachten ist, dass die Latenz von multiplen Faktoren (Anatomie der Iris, Adaptationszustand, Stimulusintensität und -farbe (Loewenfeld 1993a)) abhängt, passt das in diesen Arbeiten gefundene Sättigungsverhalten auf Stimuli höherer Intensität sowie ansteigender Fläche zu unseren Ergebnissen mit einer minimalen Latenz von ebenfalls rund 250 ms in der photCPC. In der scotCPC lag die kleinste gemessene Latenz mit rund 300 ms jedoch höher. Es kann also vermutet werden, dass eine Sättigung nicht nur ab einer bestimmten Lichtintensität, sondern auch ab einer gewissen Stimulusfläche erreicht werden kann und dass der Punkt, ab dem die Latenz aufgrund dieser Sättigung nicht mehr weiter absinkt, bei Stäbchen höher ausfällt als bei Zapfen (zum Latenzunterschied zwischen Stäbchen und Zapfen siehe auch Kapitel 4.3.2).

Insgesamt lässt sich also feststellen, dass die Latenz ein weiterer wichtiger Aspekt der Signaltransduktion ist, der neben der Verteilung der Fotorezeptoren die Ergebnisse dieser Studie beeinflusst.

4.4 Limitationen

Einige Limitationen dieser Arbeit ergeben sich aus der Methodik. So ist mittels der CPC zwar keine totale Separation, aber dennoch eine stark dominante Adressierung der beiden Fotorezeptoren möglich (siehe Kapitel 4.1.1). Streulicht kann, wie bei allen Arbeiten zur Pupillographie, nicht vollständig ausgeschlossen werden, ein Einfluss ist in dieser Arbeit jedoch unwahrscheinlich (siehe Kapitel 4.1.2). PAW und relMCA variieren inter- und intraindividuell, Blinzelartefakte können das Pupillogramm verfälschen. Diesen Faktoren wurde durch das Studiendesign entgegengewirkt (siehe Kapitel 4.1.3 und 4.1.4).

Außerdem wurden Inhibitions- und Sättigungseffekte in dieser Arbeit nicht direkt auf zellulärer Ebene gemessen. Das Heranziehen dieser Mechanismen zur Erklärung ist ein Resultat der Ergebnisinterpretation. Da die Ergebnisse eindeutig zeigen, dass die räumliche Summation für zapfen- und stäbchenspezifische PLR

nicht linear erfolgt, ist es jedoch sehr wahrscheinlich, dass Inhibitions- oder Sättigungseffekte hierfür verantwortlich sind.

Schlussendlich war das Durchschnittalter der Probanden in dieser Arbeit mit durchschnittlich 24 ± 5 Jahren sehr jung, die Probanden gesund und gründlich ophthalmologisch untersucht. Eine optimale Funktion des visuellen Systems ist anzunehmen. Ob die beobachteten Mechanismen auch bei einer älteren Probandengruppe mit altersentsprechenden Veränderungen des visuellen Systems zu tragen kommen, ist unklar.

4.5 Schlussfolgerung: Klinische Relevanz des Ergebnisses im Hinblick auf die Anwendung der Pupillographie und Ausblick

Die in dieser Arbeit ermittelten Ergebnisse zeigen, dass nicht-lineare Summationseffekte auf die Pupillenlichtreaktion durch Sättigung und/oder Inhibition bei Verwendung großer Stimuli oder der Anwendung von Ganzfeld-Pupillographie dazu führen können, dass umschriebene Defekte der Photorezeptorfunktion nicht erkannt werden. Die Verwendung fokaler Stimuli mit einem Radius von ca. drei bis fünf Grad, wie sie bei der Tübinger Chromatischen Pupillenkampimetrie (CPC) am Patienten zum Einsatz kommen, wird somit als nützlich und sinnvoll bestätigt.

Weitere Untersuchungen mit den in der vorliegenden Arbeit verwendeten Kreis- und Ringstimuli, aber kleineren Stimulusradien und einer anderen Lokalisation, zum Beispiel in den Netzhautquadranten oder entlang konzentrischer Kreise, analog den Stimuli in der klassischen CPC nach Kelbsch et al. (2019a) können künftig weitere Erkenntnisse zum Verhalten pupillomotorischer Summationseffekte liefern. Dafür hat die vorliegende Arbeit eine wesentliche Grundlage geschaffen.

5 Zusammenfassung

Teile dieser Zusammenfassung wurden bereits veröffentlicht in:

Sonntag A, Kelbsch C, Jung R, Wilhelm H, Strasser T, Peters T, Stingl K, Wilhelm B (2021) Effect of central and peripheral cone- and rod-specific stimulation on the pupillary light reflex. *Int Ophthalmol*. doi:10.1007/s10792-021-02132-1 Epub ahead of print.

Außerdem wurden Teile dieser Zusammenfassung in einem Abstract zu einem von mir gehaltenen Kongressvortrag über Teile vorläufiger Ergebnisse dieser Arbeit im Rahmen des 33. Internationalen Pupillenkolloquiums 2019 in Murcia, Spanien vom 2. – 4. Oktober 2019 veröffentlicht. Das Abstract ist einsehbar unter: Artal, P., Barbur, J. (2020) 33rd International Pupil Colloquium, Murcia, Universidad de Murcia (Spain); 2nd–4th October 2019. Supplementary Material S1. *Ophthalmic Physiol Opt* 40(3): 376-376. doi:10.1111/opo.12688

Pupillographische Verfahren wie die Chromatische Pupillenkampimetrie (CPC) werden im klinischen und Forschungs-Alltag zunehmend zur Evaluierung der Netzhautfunktion sowie des Gesichtsfelds erforscht, angewendet und etabliert. Gleichzeitig ist das Wissen über photorezeptorspezifische Summationseffekte auf die Pupillenlichtreaktion gering. Deshalb war es Ziel dieser Arbeit, diese näher zu untersuchen. Wir verfolgten die Fragestellung, welchen Einfluss zentrale und periphere Zapfen und Stäbchen auf die Pupillenlichtreaktion (PLR) haben. Dabei sollten potentielle Inhibitions- und/oder Sättigungseffekte auf die PLR detektiert werden sowie untersucht werden, ob eine lineare oder eine nichtlineare räumliche Summation der Lichtsignale erfolgt.

Die Methodik bestand aus einer Modifikation der an der Universitäts-Augenklinik entwickelten Pupillenkampimetrie, bei der über einen OLED-Monitor zapfen- und stäbchenspezifische Lichtreize verschiedener Konfiguration präsentiert werden und mittels einer Infrarotkamera und einer entsprechenden Software kontinuierlich die Pupillengröße aufgezeichnet wird. Zum Einsatz kamen zentral präsentierte, unter Helladaptation zapfen-, beziehungsweise unter Dunkeladaptation stäbchenspezifische Kreisstimuli mit Radien von 3°, 5°, 10°, 20° und 40° sowie ebenfalls zentral präsentierte zapfen- und stäbchenspezifische

Ringstimuli mit einem konstanten Außenradius von 40° und Innenradien von 20° , 10° , 5° und 3° . Untersucht wurden 30 gesunde Probanden im Alter von 24 ± 5 Jahren (Mittelwert \pm Standardabweichung). 29 Probanden wurden in die Ergebnisauswertung miteinbezogen. Ausgewertet wurden die Parameter relative maximale Pupillenkonstriktion (relMCA), Latenz bis zum Konstriktionsbeginn (Latenz) sowie Pupillenausgangsweite vor Stimuluspräsentation (PAW).

Für die relMCA ergab sich bei Kreisstimuli für beide Photorezeptoren ein logarithmischer Zusammenhang zwischen relMCA und ansteigender Fläche beziehungsweise CFD (Corneal Flux Density), was die Ergebnisse aus der Literatur bestätigte. Ringstimuli waren in Bezug auf ihre CFD weniger effektiv im Auslösen einer relMCA als Kreisstimuli. Zwischen Ringstimuli ansteigender Fläche/CFD (= abnehmender Innenradius bei gleichbleibendem Außenradius) und relMCA ergab sich formal sowohl im zapfen- als auch im stäbchenspezifischen Protokoll ein exponentieller Zusammenhang, dieser war für Stäbchen jedoch deutlich schwächer ausgeprägt. Eine Verkleinerung des Innenradius (und damit eine Vergrößerung der zentral stimulierten Fläche) bewirkte bei Stäbchen nur einen geringen Anstieg der relMCA. Ein zentraler Stäbchenstimulus allein bewirkte hingegen eine ausgeprägte relMCA. Die relMCA, die durch rechnerische Addition der relMCAs solcher Stimuli erzielt wurde, die übereinandergelegt einen 40° -Kreisstimulus ergeben (z. B. Kreisstimulus mit Radius von 3° und Ringstimulus mit Innenradius von 3°), war für alle Kombinationen deutlich größer als die auf den 40° -Stimulus gemessene relMCA. Dies spricht gegen eine lineare räumliche Summation. Zur Erklärung des beobachteten Verhaltens der relMCAs kommen folgende Mechanismen in Frage: Zum einen für zapfenspezifische Stimuli eine Dominanz des Zentrums mit potentieller Hemmung der Peripherie bei zentraler Stimulation und für stäbchenspezifische Stimuli eine Dominanz der Peripherie mit potentieller Hemmung des Zentrums bei peripherer Stimulation. Zum anderen für beide Photorezeptoren ein Sättigungseffekt oder eine Kombination aus Sättigungseffekt mit Inhibitionseffekten.

Außerdem ergab sich für beide Photorezeptoren ein negativ logarithmischer Zusammenhang zwischen Stimulusfläche/CFD und Latenz. Das Verkleinern des

Innenradius eines Ringes bewirkte keinen signifikanten weiteren Latenzabfall. Dies spricht am ehesten für einen durch die Stimulusfläche bedingten Sättigungseffekt. Hierbei tritt die Sättigung bei Stäbchen bereits bei einer höheren Latenzzeit ein als bei Zapfen, was wahrscheinlich auf deren längere Signalprozessierungszeit zurückzuführen ist.

Die in dieser Arbeit aufgedeckten Inhibitions-/Sättigungseffekte geben Aufschluss über photorezeptorspezifisch getriggerte rezeptive Felder abhängig von der Exzentrizität der stimulierten Netzhautareale. Diese Arbeit macht auch deutlich, dass umschriebene Defekte der Netzhaut beziehungsweise des Gesichtsfelds bei Verwendung von Ganzfeld-Pupillographie der Detektion entgehen. Das heißt, dass vorhandene, relevante Skotome unentdeckt bleiben. Die Verwendung lokaler Stimuli mit Radien von ca. drei bis fünf Grad wie in der CPC wird somit als objektive Methode zur Untersuchung der Netzhautfunktion als nützlich und sinnvoll bestätigt. Weitere Untersuchungen mit den in dieser Arbeit verwendeten Kreis- und Ringstimuli, aber kleineren Stimulusradien und einer anderen Lokalisation, zum Beispiel in den Netzhautquadranten oder entlang konzentrischer Kreise, können künftig weitere Erkenntnisse zu pupillomotorischen Summationseffekten liefern.

6 Literaturverzeichnis

Aguilar M, Stiles WS (1954) Saturation of the Rod Mechanism of the Retina at High Levels of Stimulation. *Opt Acta* 1(1): 59-65. doi:10.1080/713818657

Alexandridis E (1970) Räumliche und zeitliche Summation pupillomotorisch wirksamer Lichtreize beim Menschen. *Albrecht Von Graefes Arch Klin Exp Ophthalmol* 180(1): 12-19. doi:10.1007/bf02384817

Alexandridis E (1971) Pupillographie: Anwendungsmöglichkeiten als objektive Untersuchungsmethode der Netzhautsinnesfunktion. Heidelberg: Dr. Alfred Hüthig Verlag. 1-105.

Alexandridis E (1982) Die Pupille: Physiologie — Untersuchung — Pathologie. Berlin, Heidelberg, New York: Springer. 1-98. doi:10.1007/978-3-662-00496-8

Alexandridis E, Koeppe ER (1969) Die spektrale Empfindlichkeit der für den Pupillenlichtreflex verantwortlichen Photorezeptoren beim Menschen. *Albrecht Von Graefes Arch Klin Exp Ophthalmol* 177(2): 136-151. doi:10.1007/bf00431624

Alexandridis E, Krastel H, Reuther R (1979) Pupillenreflexstörungen bei Läsionen der oberen Sehbahn. *Albrecht Von Graefes Arch Klin Exp Ophthalmol* 209(3): 199-208. doi:10.1007/BF00414612

Alexandridis E, Krastel H, Reuther R (1983) Inwieweit sind die Pupillenlichtreflexe bei der kortikalen Amaurose gestört? *Fortschr Ophthalmol* 80(1): 79-81.

Alpern M, Kitai S, Isaacson JD (1959) The dark-adaptation process of the pupillomotor photoreceptors. *Am J Ophthalmol* 48(5)Pt 2: 583-593. doi:10.1016/0002-9394(59)90609-9

Atchison DA, Girgenti CC, Campbell GM, Dodds JP, Byrnes TM, Zele AJ (2011) Influence of field size on pupil diameter under photopic and mesopic light levels. *Clin Exp Optom* 94(6): 545-548. doi:10.1111/j.1444-0938.2011.00636.x

Bach M, Kellner U (2000) Elektrophysiologische Diagnostik in der Ophthalmologie. *Ophthalmologe* 97(12): 898-920. doi:10.1007/s003470070018

Bähr M, Frotscher M (2014) Hirnstamm. In: *Neurologisch-topische Diagnostik: Anatomie - Funktion - Klinik*. 10. Auflage. Stuttgart, New York: Thieme. 135-260.

Bailes HJ, Lucas RJ (2010) Melanopsin and inner retinal photoreception. *Cell Mol Life Sci* 67(1): 99-111. doi:10.1007/s00018-009-0155-7

Barbur JL (1982) Reaction-time determination of the latency between visual signals generated by rods and cones. *Ophthalmic Physiol Opt* 2(3): 179-185. doi:10.1111/j.1475-1313.1982.tb00175.x

Barbur JL (2004) Learning from the pupil: Studies of basic mechanisms and clinical applications. In: Chalupa, L. M., Werner, J. S. (Hrsg.) *The Visual Neurosciences*. Cambridge: MIT Press. 641–656.

Barrionuevo PA, McAnany JJ, Zele AJ, Cao D (2018) Non-linearities in the Rod and Cone Photoreceptor Inputs to the Afferent Pupil Light Response. *Front Neurol* 9: 1140. doi:10.3389/fneur.2018.01140

Barrionuevo PA, Nicandro N, McAnany JJ, Zele AJ, Gamlin P, Cao D (2014) Assessing rod, cone, and melanopsin contributions to human pupil flicker responses. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 55(2): 719-727. doi:10.1167/iovs.13-13252

Bell A, James AC, Kolic M, Essex RW, Maddess T (2010) Dichoptic multifocal pupillography reveals afferent visual field defects in early type 2 diabetes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 51(1): 602-608. doi:10.1167/iovs.09-3659

Bergamin O, Kardon RH (2003) Latency of the Pupil Light Reflex: Sample Rate, Stimulus Intensity, and Variation in Normal Subjects. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 44(4): 1546-1554. doi:10.1167/iovs.02-0468

Binda P, Strasser T, Stingl K, Richter P, Peters T, Wilhelm H, Wilhelm B, Kelbsch C (2017) Pupil response components: attention-light interaction in patients with Parinaud's syndrome. *Sci Rep* 7(1): 10283. doi:10.1038/s41598-017-10816-x

Bitsios P, Prettyman R, Szabadi E (1996) Changes in Autonomic Function with Age: A Study of Pupillary Kinetics in Healthy Young and Old People. *Age Ageing* 25(6): 432-438. doi:10.1093/ageing/25.6.432

Blanca M, Alarcón R, Arnau J, Bono R, Bendayan R (2017) Non-normal data: Is ANOVA still a valid option? *Psicothema* 29: 552-557. doi:10.7334/psicothema2016.383

Borgmann H (1972a) Grundlagen für eine klinische Pupillographie I. Der Einfluß der Ausgangspupillenweite auf die Lichtreaktion. *Albrecht Von Graefes Arch Klin Exp Ophthalmol* 184(4): 291-299. doi:10.1007/BF00410567

Borgmann H (1972b) Grundlagen für eine klinische Pupillographie II. Abhängigkeit des Pupillendurchmessers in Dunkelheit vom Lebensalter. *Albrecht Von Graefes Arch Klin Exp Ophthalmol* 184(4): 300-308. doi:10.1007/BF00410568

Borgmann H (1972c) Grundlagen für eine klinische Pupillographie III. Abhängigkeit der Parameter der Lichtreaktion vom Lebensalter. *Albrecht Von Graefes Arch Klin Exp Ophthalmol* 185(1): 1-10. doi:10.1007/BF00410500

Bortz J, Schuster C (2010a) Einfaktorielle Versuchspläne. In: *Statistik für Human- und Sozialwissenschaftler*. 7., vollständig überarbeitete und erweiterte Auflage. Berlin, Heidelberg: Springer. 205-220. doi:10.1007/978-3-642-12770-0_12

Bortz J, Schuster C (2010b) Korrelation. In: Statistik für Human- und Sozialwissenschaftler. 7., vollständig überarbeitete und erweiterte Auflage. Berlin, Heidelberg: Springer. 153-182. doi:10.1007/978-3-642-12770-0_10

Bortz J, Schuster C (2010c) Tests zur Überprüfung von Unterschiedshypothesen. In: Statistik für Human- und Sozialwissenschaftler. 7., vollständig überarbeitete und erweiterte Auflage. Berlin, Heidelberg: Springer. 117-136. doi:10.1007/978-3-642-12770-0_8

Bowmaker JK, Dartnall HJ (1980) Visual pigments of rods and cones in a human retina. *J Physiol* 298: 501-511. doi:10.1113/jphysiol.1980.sp013097

Bresky RH, Charles S (1969) Pupil motor perimetry. *Am J Ophthalmol* 68(1): 108-112. doi:10.1016/0002-9394(69)94941-1

Cao D, Zele AJ, Pokorny J (2007) Linking impulse response functions to reaction time: Rod and cone reaction time data and a computational model. *Vision Res* 47(8): 1060-1074. doi:10.1016/j.visres.2006.11.027

Carle CF, James AC, Kolic M, Essex RW, Maddess T (2015) Blue Multifocal Pupillographic Objective Perimetry in Glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 56(11): 6394-6403. doi:10.1167/iovs.14-16029

Carle CF, James AC, Kolic M, Loh YW, Maddess T (2011) High-resolution multifocal pupillographic objective perimetry in glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 52(1): 604-610. doi:10.1167/iovs.10-5737

Ceurremans P (2006) Objektive retinotopie Sinnesphysiologie mit Hilfe des Pupillenlichtreflexes. Medizinische Dissertationsschrift, Universität Tübingen: 1-112. URL: <http://hdl.handle.net/10900/44808> [Zugriff 16.04.21]

Chaidaroon W, Juwattanasomran W (2002) Colvard pupillometer measurement of scotopic pupil diameter in emmetropes and myopes. *Jpn J Ophthalmol* 46(6): 640-644. doi:10.1016/s0021-5155(02)00556-7

Chibel R, Sher I, Ben Ner D, Mhajna MO, Achiron A, Hajyahia S, Skaat A, Berchenko Y, Oberman B, Kalter-Leibovici O, Freedman L, Rotenstreich Y (2016) Chromatic Multifocal Pupillometer for Objective Perimetry and Diagnosis of Patients with Retinitis Pigmentosa. *Ophthalmology* 123(9): 1898-1911. doi:10.1016/j.ophtha.2016.05.038

Cibis GW, Campos EC, Aulhorn E (1975) Pupillary hemiakinesia in suprageniculate lesions. *Arch Ophthalmol* 93(12): 1322-1327. doi:10.1001/archopht.1975.01010020954004

Cibis GW, Campos EC, Aulhorn E (1977) Pupillomotor latent period. *Vision Res* 17(6): 737-738. doi:10.1016/s0042-6989(77)80012-6

- Clarke RJ, Zhang H, Gamlin PD (2003) Primate pupillary light reflex: receptive field characteristics of pretectal luminance neurons. *J Neurophysiol* 89(6): 3168-3178. doi:10.1152/jn.01130.2002
- Creel D, Yu M (2019) Electroretinography. In: Yu, M., Creel, D., Iannaccone, A. (Hrsg.) *Handbook of Clinical Electrophysiology of Vision*. Cham: Springer. 3-17. doi:10.1007/978-3-030-30417-1_1
- Curcio CA, Allen KA (1990) Topography of ganglion cells in human retina. *J Comp Neurol* 300(1): 5-25. doi:10.1002/cne.903000103
- Curcio CA, Sloan KR, Kalina RE, Hendrickson AE (1990) Human photoreceptor topography. *J Comp Neurol* 292(4): 497-523. doi:10.1002/cne.902920402
- Dacey DM, Liao HW, Peterson BB, Robinson FR, Smith VC, Pokorny J, Yau KW, Gamlin PD (2005) Melanopsin-expressing ganglion cells in primate retina signal colour and irradiance and project to the LGN. *Nature* 433(7027): 749-754. doi:10.1038/nature03387
- Demb JB, Pugh EN (2002) Connexin36 forms synapses essential for night vision. *Neuron* 36(4): 551-553. doi:10.1016/s0896-6273(02)01062-0
- DeVries SH, Baylor DA (1995) An alternative pathway for signal flow from rod photoreceptors to ganglion cells in mammalian retina. *Proc Natl Acad Sci U S A* 92(23): 10658-10662. doi:10.1073/pnas.92.23.10658
- Edgar DF, Crabb DP, Rudnicka AR, Lawrenson JG, Guttridge NM, O'Brien CJ (1999) Effects of dipivefrin and pilocarpine on pupil diameter, automated perimetry and LogMAR acuity. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 237(2): 117-124. doi:10.1007/s004170050206
- Ellis CJ (1981) The pupillary light reflex in normal subjects. *Br J Ophthalmol* 65(11): 754-759. doi:10.1136/bjo.65.11.754
- Eysel U (2007) Signalaufnahme und Verarbeitung in der Netzhaut. *Ophthalmologie* 104(1): 79-92. doi:10.1007/s00347-006-1460-2
- Eysel U (2019a) Die Netzhaut. In: Brandes, R., Lang, F., Schmidt, R. F. (Hrsg.) *Physiologie des Menschen: mit Pathophysiologie*. 32. Auflage. Berlin, Heidelberg: Springer. 732-743. doi:10.1007/978-3-662-56468-4_57
- Eysel U (2019b) Sehsystem und Augenbewegungen. In: Pape, H., Kurtz, A., Silbernagl, S. (Hrsg.) *Physiologie*. 9., vollständig überarbeitete Auflage. Stuttgart, New York: Thieme. 774-807. doi:10.1055/b-006-163285
- Famiglietti EV, Kolb H (1975) A bistratified amacrine cell and synaptic circuitry in the inner plexiform layer of the retina. *Brain Res* 84(2): 293-300. doi:10.1016/0006-8993(75)90983-x

Fischler MA, Bolles RC (1981) Random sample consensus: a paradigm for model fitting with applications to image analysis and automated cartography. *Commun ACM* 24(6): 381–395. doi:10.1145/358669.358692

Forbes M (1966) Influence of Miotics on Visual Fields in Glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 5(2): 139-145.

Fotiou DF, Brozou CG, Tsiptsios DJ, Fotiou A, Kabitsi A, Nakou M, Giantselidis C, Goula A (2007) Effect of age on pupillary light reflex: evaluation of pupil mobility for clinical practice and research. *Electromyogr Clin Neurophysiol* 47(1): 11-22.

Franke K, Baden T (2017) General features of inhibition in the inner retina. *J Physiol* 595(16): 5507-5515. doi:10.1113/JP273648

Frumkes TE, Sekuler MD, Barris MC, Reiss EH, Chalupa LM (1973) Rod-cone interaction in human scotopic vision—I. Temporal analysis. *Vision Res* 13(7): 1269-1282. doi:10.1016/0042-6989(73)90202-2

Gamlin PDR, McDougal DH, Pokorny J, Smith VC, Yau K-W, Dacey DM (2007) Human and macaque pupil responses driven by melanopsin-containing retinal ganglion cells. *Vision Res* 47(7): 946-954. doi:10.1016/j.visres.2006.12.015

Gavriysky VS (1991) Human pupillary light reflex and reaction time at different intensity of light stimulation (a simple motor reaction to modify the human pupillogram). *Int J Psychophysiol* 11(3): 261-268. doi:10.1016/0167-8760(91)90020-x

Gollisch T (2013) Features and functions of nonlinear spatial integration by retinal ganglion cells. *J Physiol Paris* 107(5): 338-348. doi:10.1016/j.jphysparis.2012.12.001

Grehn F (2019) Untersuchungsmethoden des Ophthalmologen. In: *Augenheilkunde*. 32., erweiterte Auflage. Berlin, Heidelberg: Springer. 41-73. doi:10.1007/978-3-662-59154-3_4

Haj Yahia S, Hamburg A, Sher I, Ben Ner D, Yassin S, Chibel R, Mimouni M, Derazne E, Belkin M, Rotenstreich Y (2018) Effect of Stimulus Intensity and Visual Field Location on Rod- and Cone-Mediated Pupil Response to Focal Light Stimuli. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 59(15): 6027-6035. doi:10.1167/iovs.18-23767

Harms H (1949) Grundlagen, Methodik und Bedeutung der Pupillenperimetrie für die Physiologie und Pathologie des Sehorgans. *Albrecht v Graefes Arch Ophthalmol* 149(1): 1-68. doi:10.1007/BF00684506

Hattar S, Liao HW, Takao M, Berson DM, Yau KW (2002) Melanopsin-containing retinal ganglion cells: architecture, projections, and intrinsic photosensitivity. *Science* 295(5557): 1065-1070. doi:10.1126/science.1069609

- Havlicek LL, Peterson NL (1977) Effect of the violation of assumptions upon significance levels of the Pearson r . *Psychol Bull* 84(2): 373-377. doi:10.1037/0033-2909.84.2.373
- Heine C, Yazdani F, Wilhelm H (2013) Pupillenweite in Alltagssituationen. *Klin Monbl Augenheilkd* 230(11): 1114-1118. doi:10.1055/s-0033-1350927
- Heller PH, Perry F, Jewett DL, Levine JD (1990) Autonomic components of the human pupillary light reflex. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 31(1): 156-162.
- Hellner KA, Jensen W, Muller-Jensen A (1978) Fernsehbildanalytische pupillographische Perimetrie bei Hemianopsie. *Klin Monbl Augenheilkd* 172(5): 731-735.
- Hellner KA, Sautter H (1978) Pupillen- und Lichtsinperimetrie bei Hell- und Dunkeladaptation. *Klin Monbl Augenheilkd* 173(5): 653-657.
- Herzog MH, Francis G, Clarke A (2019) Variations on the t-Test. In: *Understanding Statistics and Experimental Design: How to Not Lie with Statistics*. Cham: Springer. 51-59. doi:10.1007/978-3-030-03499-3_4
- Hong S, Narkiewicz J, Kardon RH (2001) Comparison of pupil perimetry and visual perimetry in normal eyes: decibel sensitivity and variability. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 42(5): 957-965.
- Hood DC, Ilves T, Maurer E, Wandell B, Buckingham E (1978) Human cone saturation as a function of ambient intensity: A test of models of shifts in the dynamic range. *Vision Res* 18(8): 983-993. doi:10.1016/0042-6989(78)90026-3
- Howarth PA, Bailey IL, Berman SM, Heron G, Greenhouse DS (1991) Location of nonlinear processes within the pupillary pathway. *Appl Opt* 30(16): 2100-2105. doi:10.1364/ao.30.002100
- Hu X, Hisakata R, Kaneko H (2020) Effects of stimulus size, eccentricity, luminance, and attention on pupillary light response examined by concentric stimulus. *Vision Res* 170: 35-45. doi:10.1016/j.visres.2020.03.008
- Hunder AE, Rohrbach JM, Bartz-Schmidt KU (2010) 100 Jahre Universitäts-Augenklinik Tübingen: "Wandel und Visionen" 1909 - 2009. Stuttgart: Schattauer. 1-140.
- Ingram NT, Sampath AP, Fain GL (2016) Why are rods more sensitive than cones? *J Physiol* 594(19): 5415-5426. doi:10.1113/jp272556
- Jensen W (1976) Die Fernsehbildanalyse: Ein Meßverfahren zur objektiven Perimetrie. *Albrecht Von Graefes Arch Klin Exp Ophthalmol* 201(2): 183-191. doi:10.1007/bf00410070
- Joyce DS, Feigl B, Zele AJ (2016) Melanopsin-mediated post-illumination pupil response in the peripheral retina. *J Vis* 16(8): 1-15. doi:10.1167/16.8.5

Kaneda M (2013) Signal processing in the mammalian retina. *J Nippon Med Sch* 80(1): 16-24. doi:10.1272/jnms.80.16

Kardon R, Anderson SC, Damarjian TG, Grace EM, Stone E, Kawasaki A (2009) Chromatic pupil responses: preferential activation of the melanopsin-mediated versus outer photoreceptor-mediated pupil light reflex. *Ophthalmology* 116(8): 1564-1573. doi:10.1016/j.ophtha.2009.02.007

Kardon RH (1992) Pupil perimetry. *Curr Opin Ophthalmol* 3(5): 565-570. doi:10.1097/00055735-199210000-00002

Kardon RH, Kirkali PA, Thompson HS (1991) Automated pupil perimetry: Pupil field mapping in patients and normal subjects. *Ophthalmology* 98(4): 485-495. doi:10.1016/s0161-6420(91)32267-x

Kawasaki A, Kardon RH (2007) Intrinsically photosensitive retinal ganglion cells. *J Neuroophthalmol* 27(3): 195-204. doi:10.1097/WNO.0b013e31814b1df9

Kelbsch C (2012) Glaukomfrüherkennung mittels der Pupillenkampimetrie. Medizinische Dissertationsschrift, Universität Tübingen: 1-112.

Kelbsch C, Lange J, Wilhelm H, Wilhelm B, Peters T, Kempf M, Kuehlewein L, Stingl K (2020) Chromatic Pupil Campimetry Reveals Functional Defects in Exudative Age-Related Macular Degeneration with Differences Related to Disease Activity. *Transl Vis Sci Technol* 9(6): 5. doi:10.1167/tvst.9.6.5

Kelbsch C, Maeda F, Lisowska J, Lisowski L, Strasser T, Stingl K, Wilhelm B, Wilhelm H, Peters T (2017) Analysis of retinal function using chromatic pupillography in retinitis pigmentosa and the relationship to electrically evoked phosphene thresholds. *Acta Ophthalmol* 95(4): e261-e269. doi:10.1111/aos.13259

Kelbsch C, Maeda F, Strasser T, Blumenstock G, Wilhelm B, Wilhelm H, Peters T (2016) Pupillary responses driven by ipRGCs and classical photoreceptors are impaired in glaucoma. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 254(7): 1361-1370. doi:10.1007/s00417-016-3351-9

Kelbsch C, Stingl K, Kempf M, Strasser T, Jung R, Kuehlewein L, Wilhelm H, Peters T, Wilhelm B, Stingl K (2019a) Objective Measurement of Local Rod and Cone Function Using Gaze-Controlled Chromatic Pupil Campimetry in Healthy Subjects. *Transl Vis Sci Technol* 8(6): 19. doi:10.1167/tvst.8.6.19

Kelbsch C, Strasser T, Chen Y, Feigl B, Gamlin PD, Kardon R, Peters T, Roeklein KA, Steinhauer SR, Szabadi E, Zele AJ, Wilhelm H, Wilhelm BJ (2019b) Standards in Pupillography. *Front Neurol* 10: 129. doi:10.3389/fneur.2019.00129

Kelbsch CB, Maeda F, Strasser T, Peters TM, Wilhelm BJC, Wilhelm HM (2017) Color Pupillography in Dorsal Midbrain Syndrome. *J Neuroophthalmol* 37(3): 247-252. doi:10.1097/wno.0000000000000527

Kolb H, Famiglietti EV (1974) Rod and Cone Pathways in the Inner Plexiform Layer of Cat Retina. *Science* 186(4158): 47-49. doi:10.1126/science.186.4158.47

Lee MR (2007) Solanaceae IV: *Atropa belladonna*, deadly nightshade. *J R Coll Physicians Edinb* 37(1): 77-84.

Li D, Winfield D, Parkhurst DJ (2005) Starburst: A hybrid algorithm for video-based eye tracking combining feature-based and model-based approaches. *Proceedings of the 2005 IEEE Computer Society Conference on Computer Vision and Pattern Recognition (CVPR'05) - Workshops - Volume 03, 2005*. IEEE Computer Society, 79. doi:10.1109/cvpr.2005.531

Lindenmuth KA, Skuta GL, Rabbani R, Musch DC (1989) Effects of pupillary constriction on automated perimetry in normal eyes. *Ophthalmology* 96(9): 1298-1301. doi:10.1016/s0161-6420(89)32723-0

Lisowska J, Lisowski L, Kelbsch C, Maeda F, Richter P, Kohl S, Zobor D, Strasser T, Stingl K, Zrenner E, Peters T, Wilhelm H, Fischer MD, Wilhelm B (2017) Development of a Chromatic Pupillography Protocol for the First Gene Therapy Trial in Patients With CNGA3-Linked Achromatopsia. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 58(2): 1274-1282. doi:10.1167/iovs.16-20505

Loewenfeld IE (1993a) The Light Reflex. In: *The Pupil: Anatomy, Physiology and Clinical Applications*. Detroit: Wayne State University Press. 83-273.

Loewenfeld IE (1993b) Reflex Integration: Physiologic Mechanisms. In: *The Pupil: Anatomy, Physiology and Clinical Applications*. Detroit: Wayne State University Press. 407-479.

Loewenfeld IE (1993c) Reflex Integration: Pupillary Consequences. In: *The Pupil: Anatomy, Physiology and Clinical Applications*. Detroit: Wayne State University Press. 480-517.

Löwenstein O, Loewenfeld IE (1958) Electronic pupillography: a new instrument and some clinical applications. *AMA Arch Ophthalmol* 59(3): 352-363.

Lucas RJ, Douglas RH, Foster RG (2001) Characterization of an ocular photopigment capable of driving pupillary constriction in mice. *Nat Neurosci* 4(6): 621-626. doi:10.1038/88443

Lüllmann-Rauch R, Asan E (2015) Auge. In: *Taschenlehrbuch Histologie*. 5., vollständig überarbeitete Auflage. Stuttgart, New York: Thieme. 646-647.

Maddess T, Bedford SM, Goh XL, James AC (2009) Multifocal pupillographic visual field testing in glaucoma. *Clin Exp Ophthalmol* 37(7): 678-686. doi:10.1111/j.1442-9071.2009.02107.x

Maddess T, Ho YL, Wong SS, Kolic M, Goh XL, Carle CF, James AC (2011) Multifocal pupillographic perimetry with white and colored stimuli. *J Glaucoma* 20(6): 336-343. doi:10.1097/IJG.0b013e3181efb097

Maeda F, Kelbsch C, Strasser T, Skorkovská K, Peters T, Wilhelm B, Wilhelm H (2017) Chromatic pupillography in hemianopia patients with homonymous visual field defects. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 255(9): 1837-1842. doi:10.1007/s00417-017-3721-y

Mathôt S (2018) Pupillometry: Psychology, Physiology, and Function. *J Cogn* 1(1): 1-23. doi:10.5334/joc.18

Matthes K (1941) Über die Registrierung von Bewegungsvorgängen mit dem Lichtelektrischen Reflexionsmesser. *Klin Wochenschr* 20(12): 295-297. doi:10.1007/BF01772128

McCluskey DJ, Douglas JP, O'Connor PS, Story K, Ivy LM, Harvey JS (1986) The Effect of Pilocarpine on the Visual Field in Normals. *Ophthalmology* 93(6): 843-846. doi:10.1016/s0161-6420(86)33660-1

McCulloch DL, Marmor MF, Brigell MG, Hamilton R, Holder GE, Tzekov R, Bach M (2015) ISCEV Standard for full-field clinical electroretinography (2015 update). *Doc Ophthalmol* 130(1): 1-12. doi:10.1007/s10633-014-9473-7

McDougal DH, Gamlin PD (2010) The influence of intrinsically-photosensitive retinal ganglion cells on the spectral sensitivity and response dynamics of the human pupillary light reflex. *Vision Res* 50(1): 72-87. doi:10.1016/j.visres.2009.10.012

McDougal DH, Gamlin PD (2015) Autonomic control of the eye. *Compr Physiol* 5(1): 439-473. doi:10.1002/cphy.c140014

Murray IJ, Parry NRA, Kremers J, Stepien M, Schild A (2004) Photoreceptor topography and cone-specific electroretinograms. *Vis Neurosci* 21(3): 231-235. doi:10.1017/S0952523804213268

Myers GA, Stark L (1993) Level dependent signal flow in the light pupil reflex. *Biol Cybern* 68(3): 229-234. doi:10.1007/BF00224856

Najjar RP, Sharma S, Atalay E, Rukmini AV, Sun C, Lock JZ, Baskaran M, Perera SA, Husain R, Lamoureux E, Gooley JJ, Aung T, Milea D (2018) Pupillary Responses to Full-Field Chromatic Stimuli Are Reduced in Patients with Early-Stage Primary Open-Angle Glaucoma. *Ophthalmology* 125(9): 1362-1371. doi:10.1016/j.ophtha.2018.02.024

Pagano RR (2009a) Introduction to the Analysis of Variance. In: *Understanding Statistics in the Behavioral Sciences*. 9. Auflage. Belmont, CA: Wadsworth Cengage Learning. 382-419.

Pagano RR (2009b) Student's t Test for Correlated and Independent Groups. In: Understanding Statistics in the Behavioral Sciences. 9. Auflage. Belmont, CA: Wadsworth Cengage Learning. 344-381.

Park JC, McAnany JJ (2015) Effect of stimulus size and luminance on the rod-, cone-, and melanopsin-mediated pupillary light reflex. *J Vis* 15(3): 1-13. doi:10.1167/15.3.13

Peters T, Gruner C, Durst W, Hutter C, Wilhelm B (2014) Sleepiness in professional truck drivers measured with an objective alertness test during routine traffic controls. *Int Arch Occup Environ Health* 87(8): 881-888. doi:10.1007/s00420-014-0929-6

Rasch D, Guiard V (2004) The robustness of parametric statistical methods. *Psychology Science* 46: 175-208.

Raviola E, Dacheux RF (1987) Excitatory dyad synapse in rabbit retina. *Proc Natl Acad Sci U S A* 84(20): 7324-7328. doi:10.1073/pnas.84.20.7324

Reuther R, Alexandridis E, Krastel H (1981) Pupillenreflexstörungen bei Infarkten der Arteria cerebri posterior. *Arch Psychiatr Nervenkr* (1970) 229(3): 249-257.

Rukmini AV, Milea D, Gooley JJ (2019) Chromatic Pupillometry Methods for Assessing Photoreceptor Health in Retinal and Optic Nerve Diseases. *Front Neurol* 10: 76. doi:10.3389/fneur.2019.00076

Sabeti F, James AC, Maddess T (2011) Spatial and temporal stimulus variants for multifocal pupillography of the central visual field. *Vision Res* 51(2): 303-310. doi:10.1016/j.visres.2010.10.015

Sabeti F, Maddess T, Essex RW, Saikal A, James AC, Carle CF (2014) Multifocal pupillography in early age-related macular degeneration. *Optom Vis Sci* 91(8): 904-915. doi:10.1097/OPX.0000000000000319

Sabeti F, Nolan CJ, James AC, Jenkins A, Maddess T (2015) Multifocal Pupillography Identifies Changes in Visual Sensitivity According to Severity of Diabetic Retinopathy in Type 2 Diabetes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 56(8): 4504-4513. doi:10.1167/iovs.15-16712

Schmid R, Ceurremans P, Luedtke H, Wilhelm BJ, Wilhelm HM (2004) Effect of age on the pupillomotor field. *J Neuroophthalmol* 24(3): 228-234. doi:10.1097/00041327-200409000-00010

Schmid R, Luedtke H, Wilhelm BJ, Wilhelm H (2005) Pupil campimetry in patients with visual field loss. *Eur J Neurol* 12(8): 602-608. doi:10.1111/j.1468-1331.2005.01048.x

Schmid R, Wilhelm B, Wilhelm H (2000) Pupillomotor campimetry in normals. *Neuroophthalmology* 23(1): 7-13. doi:10.1076/0165-8107(200002)2311-DFT007

Schneeweis DM, Schnapf JL (1995) Photovoltage of rods and cones in the macaque retina. *Science* 268(5213): 1053-1056. doi:10.1126/science.7754386

Schweitzer NMJ (1956) Threshold measurements on the light reflex of the pupil in the dark adapted eye. *Doc Ophthalmol* 10(1): 1-78. doi:10.1007/BF00172098

Seeliger MW, Jurklies B, Kellner U, Palmowski A, Bach M, Kretschmann U (2001) Multifokale Elektroretinographie (mfERG). *Ophthalmologie* 98(11): 1112-1130. doi:10.1007/s003470170036

Skorkovská K, Kelbsch C, Blumenstock G, Wilhelm H, Wilhelm B (2012) Glaukomerkrankung mittels der Pupillenkampimetrie. *Klin Monbl Augenheilkd* 229(11): 1097-1102. doi:10.1055/s-0032-1314985

Skorkovská K, Wilhelm H, Ludtke H, Wilhelm B (2009) How sensitive is pupil campimetry in hemifield loss? *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 247(7): 947-953. doi:10.1007/s00417-009-1040-7

Skorkovská K, Wilhelm H, Ludtke H, Wilhelm B, Kurtenbach A (2014) Investigation of summation mechanisms in the pupillomotor system. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 252(7): 1155-1160. doi:10.1007/s00417-014-2677-4

Smith RG, Freed MA, Sterling P (1986) Microcircuitry of the dark-adapted cat retina: functional architecture of the rod-cone network. *J Neurosci* 6(12): 3505-3517. doi:10.1523/jneurosci.06-12-03505.1986

Sonntag A, Kelbsch C, Jung R, Wilhelm H, Strasser T, Peters T, Stingl K, Wilhelm B (2021) Effect of central and peripheral cone- and rod-specific stimulation on the pupillary light reflex. *Int Ophthalmol* doi:10.1007/s10792-021-02132-1 Epub ahead of print.

Stanley PA, Davies AK (1995) The effect of field of view size on steady-state pupil diameter. *Ophthalmic Physiol Opt* 15(6): 601-603. doi:10.1046/j.1475-1313.1995.9400019v.x

Stingl K, Kempf M, Bartz-Schmidt KU, Dimopoulos S, Reichel F, Jung R, Kelbsch C, Kohl S, Kortüm FC, Nasser F, Peters T, Wilhelm B, Wissinger B, Wozar F, Zrenner E, Fischer MD, Stingl K (2021) Spatial and temporal resolution of the photoreceptors rescue dynamics after treatment with voretigene neparvovec. *Br J Ophthalmol* Epub ahead of print: 20 January 2021 doi:10.1136/bjophthalmol-2020-318286

Stingl K, Kohm M (2018) Effekt von Refraktion auf die Pupillenantwort in der Pupillenkampimetrie. Posterpräsentation im Rahmen einer unveröffentlichten TÜREX-Projektarbeit an der Medizinischen Fakultät der Eberhard Karls Universität Tübingen. Tübingen, den 16.10.2018.

Stingl K, Peters T, Strasser T, Kelbsch C, Richter P, Wilhelm H, Wilhelm B (2018) Pupillographic campimetry: an objective method to measure the visual field. *Biomed Tech (Berl)* 63(6): 729-734. doi:10.1515/bmt-2017-0029

Stingl K, Stingl K, Nowomiejska K, Kuehlewein L, Kohl S, Kempf M, Strasser T, Jung R, Wilhelm B, Peters T, Kelbsch C, Bartz-Schmidt KU, Langrova H, Zrenner E (2020) Clinical Protocols for the Evaluation of Rod Function. *Ophthalmologica* doi:10.1159/000510888

Stingl KT, Kuehlewein L, Weisschuh N, Biskup S, Cremers FPM, Khan MI, Kelbsch C, Peters T, Ueffing M, Wilhelm B, Zrenner E, Stingl K (2019) Chromatic Full-Field Stimulus Threshold and Pupillography as Functional Markers for Late-Stage, Early-Onset Retinitis Pigmentosa Caused by CRB1 Mutations. *Transl Vis Sci Technol* 8(6): 45. doi:10.1167/tvst.8.6.45

Sun H, Pokorny J, Smith VC (2001) Rod-cone interactions assessed in inferred magnocellular and parvocellular postreceptoral pathways. *J Vis* 1(1): 42-54. doi:10.1167/1.1.5

Szabadi E (2018) Functional Organization of the Sympathetic Pathways Controlling the Pupil: Light-Inhibited and Light-Stimulated Pathways. *Front Neurol* 9: 1069. doi:10.3389/fneur.2018.01069

Szabadi E, Bredshaw CM (1996) Autonomic pharmacology of α_2 -adrenoceptors. *J Psychopharmacol* 10, Supplement 3: 6-18.

Urschitz MS, Heine K, Mendler L, Peters T, Wilhelm B, Poets CF (2014) Pilot study on the validity of the pupillographic sleepiness test in children and adolescents. *Sleep Med* 15(6): 720-723. doi:10.1016/j.sleep.2014.02.008

Verweij J, Dacey DM, Peterson BB, Buck SL (1999) Sensitivity and dynamics of rod signals in H1 horizontal cells of the macaque monkey retina. *Vision Res* 39(22): 3662-3672. doi:10.1016/s0042-6989(99)00093-0

Watson AB, Yellott JI (2012) A unified formula for light-adapted pupil size. *J Vis* 12(10): 1-16. doi:10.1167/12.10.12

Webster AR, Luff AJ, Canning CR, Elkington AR (1993) The effect of pilocarpine on the glaucomatous visual field. *Br J Ophthalmol* 77(11): 721-725. doi:10.1136/bjo.77.11.721

Wermund T, Wilhelm H, Kelbsch C (2019) Pupillenstörungen. *Klin Monatsbl Augenheilkd* 236(08): 1033-1050. doi:10.1055/a-0885-2467

Wernicke C (1883) Ueber hemiopische Pupillenreaction. *Fortschr Med* 1:49–53

Wilhelm B, Giedke H, Ludtke H, Bittner E, Hofmann A, Wilhelm H (2001) Daytime variations in central nervous system activation measured by a pupillographic sleepiness test. *J Sleep Res* 10(1): 1-7. doi:10.1046/j.1365-2869.2001.00239.x

Wilhelm B, Stuibler G, Ludtke H, Wilhelm H (2014) The effect of caffeine on spontaneous pupillary oscillations. *Ophthalmic Physiol Opt* 34(1): 73-81. doi:10.1111/opo.12094

Wilhelm B, Wilhelm H, Ludtke H, Streicher P, Adler M (1998) Pupillographic assessment of sleepiness in sleep-deprived healthy subjects. *Sleep* 21(3): 258-265.

Wilhelm BJ (2010) Das Auge der Inneren Uhr – Pupillenforschung in neuem Licht. *Klin Monbl Augenheilkd* 227(11): 840-844. doi:10.1055/s-0029-1245658

Wilhelm BJ, Wilhelm H, Moro S, Barbur JL (2002) Pupil response components: studies in patients with Parinaud's syndrome. *Brain* 125(Pt 10): 2296-2307. doi:10.1093/brain/awf232

Wilhelm H (1996) Pupille und retrogenikuläre Sehbahn Überblick. *Ophthalmologe* 93: 319-324.

Wilhelm H (2006) 3 Pupillomotorik: Pupillenstörungen. In: Hopf, H. C., Kömpf, D. (Hrsg.) Referenz-Reihe Neurologie: Klinische Neurologie: Erkrankungen der Hirnnerven Stuttgart, New York: Thieme. 49-50. doi:10.1055/b-0034-36740

Wilhelm H (2008) The pupil. *Curr Opin Neurol* 21(1): 36-42. doi:10.1097/WCO.0b013e3282f39173

Wilhelm H (2011) Chapter 16: Disorders of the pupil. In: Kennard, C., Leigh, R. J. (Hrsg.) *Handbook of Clinical Neurology*. Elsevier. 427-466. doi:10.1016/B978-0-444-52903-9.00022-4

Wilhelm H, Ludtke H, Wilhelm B (1998) Pupillographic sleepiness testing in hypersomniacs and normals. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 236(10): 725-729. doi:10.1007/s004170050149

Wilhelm H, Neitzel J, Wilhelm B, Beuel S, Ludtke H, Kretschmann U, Zrenner E (2000) Pupil perimetry using M-sequence stimulation technique. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 41(5): 1229-1238.

Wilhelm H, Wilhelm B (2003) Clinical applications of pupillography. *J Neuroophthalmol* 23(1): 42-49. doi:10.1097/00041327-200303000-00010

Winn B, Whitaker D, Elliott DB, Phillips NJ (1994) Factors affecting light-adapted pupil size in normal human subjects. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 35(3): 1132-1137.

Wood JM, Wild JM, Bullimore MA, Gilmartin B (1988) Factors affecting the normal perimetric profile derived by automated static threshold LED perimetry. I. Pupil size. *Ophthalmic Physiol Opt* 8(1): 26-31. doi:10.1111/j.1475-1313.1988.tb01078.x

Young RSL, Han B-C, Wu P-Y (1993) Transient and sustained components of the pupillary responses evoked by luminance and color. *Vision Res* 33(4): 437-446. doi:10.1016/0042-6989(93)90251-q

Young RSL, Kennish J (1993) Transient and sustained components of the pupil response evoked by achromatic spatial patterns. *Vision Res* 33(16): 2239-2252. doi:10.1016/0042-6989(93)90103-4

Zeeh C, Horn AK (2012) Der Okulomotoriuskern und seine Subnuklei beim Menschen. *Klin Monbl Augenheilkd* 229(11): 1083-1089. doi:10.1055/s-0032-1315252

Zele AJ, Adhikari P, Cao D, Feigl B (2019) Melanopsin and Cone Photoreceptor Inputs to the Afferent Pupil Light Response. *Front Neurol* 10: 529. doi:10.3389/fneur.2019.00529

Zele AJ, Cao D (2015) Vision under mesopic and scotopic illumination. *Front Psychol* 5: 1594. doi:10.3389/fpsyg.2014.01594

Zhang Y, Li S, Wang J, Wang P, Tu Y, Li X, Wang B (2019) Pupil Size Estimation Based on Spatially Weighted Corneal Flux Density. *IEEE Photonics J* 11(6): 1-9. doi:10.1109/JPHOT.2019.2948223

Zrenner E, Holder GE, Schiefer U, Wild JM (2020) Quality Control Procedures and Baseline Values for Electroretinography, Perimetry, Color Vision, and Visual Acuity in an International Multicenter Study: Observations from a Safety Trial in Chronic Stable Angina Pectoris. *Transl Vis Sci Technol* 9(8): 38. doi:10.1167/tvst.9.8.38

7 Erklärung zum Eigenanteil

7.1 Allgemeine Erklärung zum Eigenanteil

Die Arbeit wurde im Department für Augenheilkunde der Universität Tübingen, unter Betreuung von Prof. Dr. med. Barbara Wilhelm durchgeführt.

Die Konzeption der Studie erfolgte in Zusammenarbeit mit Prof. Dr. med. Barbara Wilhelm, stellvertretende Leiterin des Studienzentrums der Augenklinik Tübingen und Leiterin der Arbeitsgruppe Pupillenforschung, Dr. med. Carina Kelbsch, Funktionsoberärztin Neuroophthalmologie und Mitglied der Arbeitsgruppe Pupillenforschung und Dr. Krunoslav Stingl, wissenschaftlicher Mitarbeiter am Forschungsinstitut für Augenheilkunde und Mitglied der Arbeitsgruppe Pupillenforschung.

Der Algorithmus zur Auswertung der Pupillogramme wurde von Dr. Krunoslav Stingl entwickelt. Der Algorithmus zur Auswertung der Latenzzeiten wurde von Dr. Krunoslav Stingl und Arbeitsgruppenmitglied Ronja Jung entwickelt.

Die Probanden wurden eigenständig durch mich rekrutiert und von Dr. med. Carina Kelbsch und Prof. Dr. med. Katarina Stingl klinisch untersucht.

29 Messungen wurden nach Einarbeitung durch Dr. Krunoslav Stingl von mir eigenständig durchgeführt, eine Messung zusammen von mir und Ronja Jung.

Die statistische Auswertung erfolgte nach Beratung durch Dr. Krunoslav Stingl eigenständig durch mich.

Sämtliche Abbildungen mit Ausnahme der Abbildungen 4, 10 und 12 wurden von mir eigenständig erstellt. Abbildung 4 wurde von Irena Stingl, Graphikerin der Augenklinik, basierend auf einer von mir erstellten Skizze erstellt. Abbildungen 10 und 12 wurden von Dr. Krunoslav Stingl erstellt und von Irena Stingl graphisch bearbeitet.

Ich versichere, das Manuskript selbständig verfasst zu haben und keine weiteren als die von mir angegebenen Quellen verwendet zu haben.

Tübingen, den 10. Januar 2022

Max Anton Sonntag

7.2 Erklärung zum Eigenanteil an der Veröffentlichung „Effect of central and peripheral cone- and rod-specific stimulation on the pupillary light reflex“

Die Konzeption der Studie erfolgte durch Prof. Dr. med. Barbara Wilhelm, Dr. med. Carina Kelbsch, Dr. Krunoslav Stingl und mich.

Der Versuchsaufbau wurde konzipiert von Dr. Krunoslav Stingl und mir.

Der Algorithmus zur Auswertung der Pupillogramme wurde von Dr. Krunoslav Stingl entwickelt. Der Algorithmus zur Auswertung der Latenzzeiten wurde von Dr. Krunoslav Stingl und Ronja Jung entwickelt.

Die Probanden wurden eigenständig durch mich rekrutiert und von Dr. med. Carina Kelbsch und Prof. Dr. med. Katarina Stingl klinisch untersucht.

29 Messungen wurden von mir eigenständig (nach Einarbeitung durch Dr. Krunoslav Stingl) durchgeführt, eine Messung zusammen von mir und Ronja Jung.

Die statistische Auswertung erfolgte eigenständig durch mich nach Beratung durch Dr. Krunoslav Stingl.

Die Literaturrecherche und -auswertung erfolgte eigenständig durch mich.

Zwischenergebnisse der Arbeit wurden von mir eigenständig der AG Pupillenforschung präsentiert und mit Prof. Dr. med. Barbara Wilhelm, Dr. med. Carina Kelbsch, Dr. Krunoslav Stingl, Prof. Dr. med. Helmut Wilhelm, Dr. med. Tobias Peters, Dr. Torsten Straßer und Ronja Jung diskutiert.

Die abschließende Interpretation und Einordnung der Ergebnisse erfolgte eigenständig durch mich unter Betreuung durch Prof. Dr. med. Barbara Wilhelm, Dr. med. Carina Kelbsch und Dr. Krunoslav Stingl.

Das Manuskript des Papers wurde eigenständig von mir unter Betreuung und Begutachtung durch Prof. med. Barbara Wilhelm, Dr. med. Carina Kelbsch und Dr. Krunoslav Stingl sowie Begutachtung durch Prof. Dr. med. Helmut Wilhelm, Dr. med. Tobias Peters, Dr. Torsten Straßer und Ronja Jung verfasst und von Dr. Anne Kurtenbach beratend und muttersprachlich korrekturgelesen.

Abbildungen 2-4 und S1 und S4 des Manuskripts des Papers wurden eigenständig durch mich erstellt. Abbildung 1 des Manuskripts des Papers wurde von Irena Stingl nach einer Skizze von mir erstellt. Abbildung S2 wurde von Ronja

Jung nach einer Idee von mir erstellt und von mir graphisch bearbeitet. Abbildung S3 wurde von Dr. Krunoslav Stingl erstellt und von Irena Stingl graphisch bearbeitet.

Alle Mitautoren haben erklärt, dass sie mit der Verwendung der Veröffentlichung bzw. der Daten im Rahmen der Dissertationsschrift von Max Anton Sonntag und mit den Erklärungen zum Eigenanteil einverstanden sind.

Tübingen, den 10. Januar 2022

Max Anton Sonntag

8 Veröffentlichungen

Teile der vorliegenden Dissertationsschrift wurden bereits veröffentlicht in:

Sonntag A, Kelbsch C, Jung R, Wilhelm H, Strasser T, Peters T, Stingl K, Wilhelm B (2021) Effect of central and peripheral cone- and rod-specific stimulation on the pupillary light reflex. *Int Ophthalmol*. doi:10.1007/s10792-021-02132-1 Epub ahead of print.

Kongressvortrag und Abstract:

Ein Kongressvortrag über Teile vorläufiger Ergebnisse dieser Arbeit wurde von mir im Rahmen des 33. Internationalen Pupillenkolloquiums 2019 in Murcia, Spanien, vom 2. – 4. Oktober 2019 gehalten. Ein Abstract zu diesem Vortrag ist einsehbar unter:

Artal, P., Barbur, J. (2020) 33rd International Pupil Colloquium, Murcia, Universidad de Murcia (Spain); 2nd–4th October 2019. Supplementary Material S1. *Ophthalmic Physiol Opt* 40(3): 376-376. doi:10.1111/opo.12688

9 Danksagung

An erster Stelle danke ich ganz besonders meiner Doktormutter, Frau Prof. Dr. med. Barbara Wilhelm, für die Überlassung des Themas, die Aufnahme in die AG Pupillenforschung und die außergewöhnlich hilfreiche und umfassende Betreuung während meiner gesamten Promotionszeit. Dass sie immer ein offenes Ohr für mich hatte und mir jederzeit unterstützend zur Seite stand, war mir eine große Hilfe. Ich danke insbesondere für die mir gebotene Möglichkeit, Teile der Ergebnisse meiner Arbeit auf dem Internationalen Pupillenkolloquium 2019 in Murcia vorgestellt haben zu dürfen.

Mein ganz besonderer Dank gilt außerdem Frau Dr. med. Carina Kelbsch und Herrn Dr. Krunoslav Stingl, die mir immer, auch kurzfristig, mit Rat und Tat zur Seite standen. Bei beiden möchte ich mich für die vielen wertvollen und produktiven Gespräche bedanken. Frau Dr. med. Carina Kelbsch danke ich insbesondere für die gewährten klinischen Einblicke, die hilfreiche Unterstützung bei der Erstellung des Ethikantrags und die ophthalmologische Untersuchung des Großteils meiner Probanden. Herrn Dr. Krunoslav Stingl danke ich insbesondere für die umfassende technische und methodische Unterstützung und die hilfreiche statistische Beratung.

Weiterhin danke ich Herrn Prof. Dr. med. Helmut Wilhelm für die hilfreiche Unterstützung meiner Arbeit im Rahmen der AG Pupillenforschung, die Hilfe bei der Literatursuche sowie die gewährten klinischen Einblicke in die Neuroophthalmologie.

Weiterhin danke ich Frau Ronja Jung für die hilfreiche methodische Unterstützung bei der Ermittlung der Latenzzeiten.

Mein Dank gilt außerdem Herrn Dr. med. Tobias Peters und Herrn Dr. Torsten Straßer für die hilfreichen Diskussionen im Zusammenhang mit meiner Arbeit im Rahmen der Treffen der AG Pupillenforschung.

Allen oben genannten Personen danke ich überdies für die Unterstützung bei der Erstellung einer Publikation über die Ergebnisse meiner Arbeit.

Außerdem danke ich Frau Prof. Dr. med. Katarina Stingl für die ophthalmologische Untersuchung eines Teils meiner Probanden.

Darüber hinaus danke ich allen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern der neuroophthalmologischen Funktionsdiagnostik für die Durchführung der Gesichtsfelduntersuchungen meiner Probanden.

Ferner danke ich den Mitarbeiterinnen der Leitstelle Neuroophthalmologie, Frau Elisabeth Nestler und Frau Funda Cankaya, für die Organisation der Anmeldung meiner Probanden und sonstige administrative Unterstützung meiner Tätigkeit.

Ebenfalls danke ich Frau Claudia Bihler und Frau Susanne Wolf von der Medizinbibliothek Tübingen für die Unterstützung bei der Beschaffung zahlreicher wissenschaftlicher Literatur, die nicht über das Uninetz verfügbar war.

Des Weiteren danke ich all meinen Probanden und Freunden für die Teilnahme an meiner Studie und ihre Geduld während der Messungen.

Der Egon Schumacher-Stiftung danke ich für die Kostenübernahme meiner Reise zum Internationalen Pupillenkolloquium 2019 in Murcia im Rahmen dieser Arbeit.