

Elektrophysiologische Wirkung transokularer Ströme

Dissertation
zur Erlangung des akademischen Grades
Doktoringenieur (Dr.-Ing.)

vorgelegt der Fakultät für Informatik und Automatisierung
der Technischen Universität Ilmenau von
M. Sc. Maren-Christina Blum

Datum Einreichung: 01.04.2022
Datum wissenschaftliche Aussprache: 10.10.2022

Gutachter:
Univ.-Prof. Dr.-Ing. Sascha Klee
Prof. Dr.-Ing. habil. Jens Haueisen
PD Dr. rer. nat. Sven Heinrich

Kurzfassung

Die transkranielle Gleichstromstimulation mit schwachen Strömen (≤ 2 mA) ist ein etabliertes Verfahren zur Untersuchung des menschlichen Nervensystems und zur Behandlung psychologisch-neurologischer Erkrankungen. In den letzten Jahren hat die Stimulation des visuellen Systems, speziell der Retina, an Aufmerksamkeit gewonnen, da Hinweise auf positive Einflüsse einer transokularen Stromstimulation zur Behandlung neurodegenerativer retinaler Erkrankungen gefunden wurden. Bis heute fehlt jedoch ein Wirkungskonzept, das den Einfluss der Stromstimulation auf die verschiedenen retinalen Neuronen beschreibt.

Aus Studien ist bekannt, dass ein visuell evoziertes Potential durch eine transkranielle Gleichstromstimulation des visuellen Cortex in den charakteristischen Amplituden beeinflusst werden kann. Daraus ergab sich das methodische Verfahren ein evoziertes Potential retinaler Herkunft, welches durch das Elektretinogramm erfasst wird, in Kombination mit einer transokularen Stromstimulation zu nutzen, um den Einfluss der Stromstimulation auf die retinalen Zellen zu untersuchen. Durch Variation der visuellen Stimulationsparameter zur Generierung des Elektretinogramms, ist es möglich, unterschiedliche retinale Neuronen in den Fokus zu nehmen.

Im ersten Teil der Dissertation wurde ein grundlegendes Studienkonzept auf Basis des Verfahrens der experimentellen Prozessanalyse entwickelt. Aus diesem wurden Anforderungen an einen Mess- und Stimulationsplatz abgeleitet, um eine simultane transokulare Gleichstromstimulation und Aufnahme eines Elektretinogramms zu ermöglichen. Des Weiteren wurden Anforderungen an das Studiendesign abgeleitet.

Im zweiten Teil der Dissertation wurden insgesamt vier aufeinander aufbauende Probandenstudien durchgeführt, analysiert und interpretiert. In diesen wurden sowohl unterschiedliche retinale Neuronen als auch der Einfluss der Position der Stromstimulationselektroden untersucht. Aus den Ergebnissen wurde ein

Kurzfassung

Wirkungskonzept für die transokulare Gleichstromstimulation auf die retinalen Neuronen abgeleitet. Dieses besagt, dass primär die retinalen Ganglienzellen während einer transokularen Gleichstromstimulation in ihrer elektrophysiologischen Aktivität beeinflusst werden.

Die Ergebnisse der Dissertation lassen sich weiterführend für die Entwicklung und die Optimierung von Therapieverfahren zur Behandlung neurodegenerativer retinaler Erkrankungen sowie zur Entwicklung objektiver Messmethoden zum Nachweis einer transokularen Stromwirkung verwenden.

Abstract

Transcranial direct current stimulation with weak currents ($\leq 2\text{ mA}$) is an established method for research on the human nervous system and for the treatment of psychological-neuronal disorders. In recent years, stimulation of the visual system and the retina has gained attention, as indications of positive effects of transocular current stimulation for the treatment of neurodegenerative retinal diseases have been found. However, a model describing the influence of transocular current stimulation on different retinal neurons is missing.

From studies it is known that a visual evoked potential can be influenced by transcranial direct current stimulation of the visual cortex in the characteristic amplitudes. This resulted in the methodological procedure of using an evoked potential of retinal origin, which is detected by the electroretinogram, in combination with transocular current stimulation to investigate the influence of current stimulation on retinal cells. By varying the visual stimulation parameters used to generate the electroretinogram, it was possible to focus on different retinal neurons.

In the first part of the dissertation a study concept, based on the method of experimental process analysis, was developed. From this, requirements for a measurement and stimulation setup were developed, which allowed simultaneous transocular direct current stimulation and recording of an electroretinogram. Furthermore, requirements for the study design were derived.

In the second part of the dissertation, a total of four consecutive subject studies were performed, analyzed and interpreted, which investigated different retinal neurons as well as the influence of the position of the current stimulation electrodes.

The results were used to derive a model describing the effects of transocular direct current stimulation on the retinal neurons. This model states that primarily the retinal ganglion cells are influenced in their electrophysiological activity during

Abstract

transocular direct current stimulation.

The results of the dissertation can be further applied to the development and optimization of therapeutic methods for the treatment of neurodegenerative, retinal diseases as well as for the development of objective measuring methods for the detection of a transocular current effect.

Danksagung

An erste Stelle möchte ich mich bei Prof. Dr.-Ing. Sascha Klee für die Betreuung dieser Dissertation bedanken. Prof. Klee begleitet mich fachlich seit dem Beginn meines Masterstudiums und hat mir in unzähligen Diskussionen, Textkorrekturen, Meetings und Konferenzen das wissenschaftliche Arbeiten beigebracht. Er unterstützte, motivierte und förderte mich in allen Bereichen meiner Arbeit, wofür ich ihm meinen außerordentlichen Dank aussprechen möchte.

Prof. Dr.-Ing. habil. Jens Haueisen möchte ich für die stetige Gesprächs- und Diskussionsbereitschaft sowie die Unterstützung in der Finanzierung der Arbeit bedanken.

Mein Dank gilt PD. Dr. rer. nat. Sven Heinrich für die inspirierende und motivierende Zusammenarbeit im letzten Jahr.

Die Dissertation wurde finanziell über das Thüringer Graduiertenstipendium sowie dem Promotionsstipendium der Studienstiftung des deutschen Volkes ermöglicht, bei denen ich mich herzlich für die Unterstützung und das Vertrauen in meine Arbeit bedanken möchte.

Bei allen aktiven und ehemaligen Mitarbeitern des Instituts möchte ich mich für die Zusammenarbeit und Diskussionsbereitschaft sowie alle motivierenden Worte bedanken. Spezieller Dank gilt meinen Kollegen Hannes Oppermann und Benjamin Solf für ihre stetige Unterstützung und Gesprächsbereitschaft sowie ihre guten Ratschläge und das häufige einfach nur Zuhören.

Danksagung

Großer Dank gilt meinen Freunden und speziell meinen beiden Patenkindern und ihren Familien für die Ablenkung und das stetige Aufzeigen der wichtigen Dinge im Leben.

An Letzter, aber wohl bedeutendster Stelle, möchte ich meiner Familie für den stetigen Rückhalt und die vielen Gespräche danken. Meinem Lebenspartner Martin danke ich für die Unterstützung, die unzähligen Gespräche und aufbauenden Worte, die Ratschläge, die Geduld und das Verständnis bei der Erstellung der Dissertation.

Ilmenau, im Februar 2022

Inhaltsverzeichnis

Kurzfassung	i
Abstract	iii
Danksagung	v
Abkürzung	xi
Abbildungsverzeichnis	xiii
Tabellenverzeichnis	xxi
1 Einleitung	1
2 Grundlagen	5
2.1 Anatomie und Physiologie der Retina	5
2.2 Elektretinogramm	8
2.2.1 Definition	8
2.2.2 Stimulations- und Messmethodik	8
2.2.3 Helladaptiertes Vollfeld-Elektretinogramm	10
2.2.4 Oszillatorische Potentiale	12
2.2.5 Photopic neagtive response	13
2.2.6 Musterumkehr-Elektretinogramm	14
2.3 Transokulare Stromstimulation	16
2.3.1 Definition und Einteilung	16
2.3.2 Stromstimulationsparameter	17
2.3.3 Wirkung und Sicherheit	19
3 Studienkonzept	20
3.1 Einleitung	20

Inhaltsverzeichnis

3.2	Entwicklung des Studienkonzepts	20
3.3	Anwendung des Studienkonzepts	24
3.4	Anforderungen an den Mess- und Stimulationsplatz	26
4	Grundlegende Materialien und Methoden	28
4.1	Probanden	28
4.2	Elektrodensetup	28
4.3	Studienablauf und -design	30
4.4	Signalverarbeitung	32
4.5	Statistische Auswertung	33
5	Studie 1: Einfluss der transokularen Gleichstromstimulation auf das Musterumkehr-Elektroretinogramm	35
5.1	Einleitung	35
5.2	Material und Methoden	36
5.2.1	Mess- und Stimulationsplatz	36
5.2.2	Stimulationsparameter	38
5.2.3	Studienablauf	38
5.2.4	Signalverarbeitung	39
5.2.5	Statistische Auswertung	40
5.3	Ergebnisse	41
5.3.1	Amplitudeneffekte	41
5.3.2	Latenzeffekte	45
5.4	Diskussion	46
6	Studie 2: Einfluss der transokularen Gleichstromstimulation auf das Vollfeld-Elektroretinogramm	54
6.1	Einleitung	54
6.2	Material und Methoden	55
6.2.1	Mess- und Stimulationsplatz	55
6.2.2	Stimulationsparameter	57
6.2.3	Studienablauf	57
6.2.4	Signalverarbeitung	58
6.2.5	Statistische Auswertung	59
6.3	Ergebnisse	60
6.3.1	Akute Stromstimulationseffekte	60

Inhaltsverzeichnis

6.3.2	Nacheffekte	64
6.3.3	Oszillatorische Potentiale	66
6.4	Diskussion	67
7	Studie 3: Einfluss der transokularen Gleichstromstimulation zwischen Auge und visuellem Cortex auf das Vollfeld-Elektroretinogramm	71
7.1	Einleitung	71
7.2	Material und Methoden	72
7.2.1	Mess- und Stimulationsplatz	72
7.2.2	Stimulationsparameter und Studiendesign	73
7.2.3	Signalverarbeitung	74
7.2.4	Statistische Auswertung	74
7.3	Ergebnisse	77
7.3.1	Akute Stromstimulationseffekte in der Einzelstudienbetrachtung	77
7.3.2	Nacheffekte in der Einzelstudienbetrachtung	81
7.3.3	Oszillatorische Potentiale in der Einzelstudienbetrachtung	84
7.3.4	Vergleich der Vollfeld-ERG-Studien	85
7.4	Diskussion	88
8	Studie 4: Einfluss der transokularen Gleichstromstimulation auf die photopic negative response Welle	92
8.1	Einleitung	92
8.2	Material und Methoden	93
8.2.1	Mess- und Stimulationsplatz	93
8.2.2	Stimulationsparameter und Studiendesign	93
8.2.3	Signalverarbeitung	94
8.2.4	Statistische Auswertung	95
8.3	Ergebnisse	96
8.3.1	Akute Stromstimulationseffekte auf die PhNR-Amplitude	96
8.3.2	Nacheffekte auf die PhNR-Amplituden	99
8.3.3	PhNR-Latenzen	101
8.3.4	Vollfeld-ERG-Wellen	102
8.3.5	Oszillatorische Potentiale	104
8.4	Diskussion	104

Inhaltsverzeichnis

9 Wirkungskonzept	107
10 Diskussion	110
10.1 Diskussion der Studienergebnisse	110
10.2 Diskussion des Wirkungskonzepts	114
10.3 Einordnung der Ergebnisse in die Literatur	116
11 Zusammenfassung und Ausblick	118
Literaturverzeichnis	122
Anhang	138

Abkürzung

ACS	Wechselstromstimulation (<i>alternating current stimulation</i>)
AMD	Altersbedingte Makuladegeneration
ANOVA	Einfaktorielle Varianzanalyse (<i>analysis of variance</i>)
BT-Amplitude	Photopic negative response Amplitude gemessen vom Nullpotential (<i>baseline-to-trough</i>)
cGMP	Cyclisches Guanosinmonophosphat
DCS	Gleichstromstimulation (<i>direct current stimulation</i>)
ERG	Elektroretinogramm
ISCEV	International Society for Clinical Electrophysiology of Vision
IIR	Filter mit unendlicher Impulsantwort (<i>infinite-impulse-response</i>)
OPs	Oszillatorische Potentiale
PERG	Musterumkehr-Elektroretinogramm (<i>pattern-reversal electroretinogram</i>)
PCS	Gepulste Stromstimulation (<i>pulsed current stimulation</i>)
PhNR	Photopic negative response (charakterische Welle des Vollfeld-Elektroretinogramm)
PT-Amplitude	Photopic negative response Amplitude gemessen vom Maximum der b-Welle (<i>peak-to-trough</i>)
Q-Q-Diagramm	Quantil-Quantil-Diagramm
rms	Quadratischer Mittelwert (<i>root-mean-square</i>)
RP	Retinitis pigmentosa

Abkürzung

SNR	Signal-Rausch-Verhältnis (<i>signal-to-noise-ratio</i>)
tES	Transkranielle Elektrostimulation
VEP	Visuell evoziertes Potential
Wilcoxon-Test	Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test
α	Signifikanzniveau
(1-β)	Statistische Power (Teststärke)
γ	Schiefe einer Verteilung
Δ	Differenz zwischen zwei Messungen
d	Effektstärke nach Cohen [1]
p	Signifikanzwert
p*	Adjustierter Signifikanzwert

Abbildungsverzeichnis

2.1	Schematische Darstellung des zellulären Aufbaus der Retina. Die Stäbchen sind in Grau und die Zapfen sind als bunte Zellen (in Rot, Grün und Blau) dargestellt. Die Abbildung orientiert sich an [2]	5
2.2	Prinzip des rezeptiven Feldes einer retinalen Ganglienzelle. Bei Belichtung (belichtete Bereiche sind gelb dargestellt) des Zentrums des rezeptiven Feldes der Ganglienzelle werden bei den On-Ganglienzellen mehr und bei den Off-Ganglienzellen weniger Aktionspotentiale generiert. Wird die Umgebung beleuchtet und das Zentrum nicht, tritt genau der entgegengesetzte Fall ein. Wird sowohl das Zentrum als auch die Umgebung beleuchtet, ändert sich an der Anzahl der ausgebildeten Aktionspotentiale im Vergleich zum unbeleuchteten rezeptiven Feld nichts. Die Abbildung orientiert sich an [3].	7
2.3	Potentialverlauf eines helladaptierten Vollfeld-Elektroretinogramms mit eingezeichneten charakteristischen Wellen (a- und b-Welle) gemäß [4].	11
2.4	Potentialverlauf der oszillatorischen Potentiale mit eingezeichneten charakteristischen Wellen (P1, P2 und P3) für ein helladaptiertes Vollfeld-Elektroretinogramm gemäß [4]. Die Wellen treten im Frequenzbereich zwischen 75 Hz und 300 Hz auf.	12
2.5	Potentialverlauf eines Vollfeld-Elektroretinogramms, das mit Stimulationsparametern aufgenommen wurde, die für die Entstehung der photopic negative response (PhNR) Welle optimiert wurden (blauer Hintergrund mit rotem visuellen Stimulus). Die PhNR-Welle kann gemäß [5] sowohl vom vorangegangenen Peak (PT-Amplitude) als auch vom Nullpotential (BT-Amplitude) ausgehend gemessen werden.	14

Abbildungsverzeichnis

2.6	Potentialverlauf eines Musterumkehr-Elektroretinogramms (pattern-reversal Elektroretinogramm) mit eingezeichneten charakteristischen Wellen (N35, P50 und N95) gemäß [6]	16
3.1	Strukturbild des grundlegenden systemtheoretischen Prinzips eines linearen Systems bestehend aus einem definierten Eingangssignal $u(t)$, einer Gewichtsfunktion $g(t)$ des Systems und dem entstehenden Ausgangssignal $y(t)$	21
3.2	Entwickeltes Studienkonzept bestehend aus zwei parallel laufenden Teilsträngen. Oberer Teilstrang: visuellen Stimulation der Retina; Unterer Teilstrang: transokulare Gleichstromstimulation. Das messbare Elektroretinogramm als Ausgangssignal $y(t)_{ERG}$ ist definiert als Summe der Ausgangssignale der beiden Teilstränge $y(t)_{visuell}$ und $y(t)_{Strom}$ in Abhängigkeit von den Aufnahme- und Verarbeitungsparametern. Die Funktion $u(t)$ beschreibt das Eingangssignal (visuelle Stimulation bzw. Stromstimulation), während $g(t)$ der Gewichtsfunktion der retinalen Zellen des jeweiligen Teilstrangs entspricht.	22
4.1	Entwickeltes Elektrodensetup für die simultane transokulare Gleichstromstimulation und Aufnahme eines Elektroretinogramms (ERG). Als ERG-Elektroden wurden gesinterte Ag/AgCl-Ringelektroden verwendet. Die aktive Elektrode war am unteren Augenlid, die Referenzelektrode am ipsilateralen Ohr läppchen und die Erdungselektrode an der Stirn angebracht. Als Stromstimulationselektroden wurden Gummi-Grafit-Elektroden verwendet. Eine war ums Auge positioniert. Die Position der Stromstimulationsgegenelektrode unterschied sich zwischen den Studien. In dieser Beispielgrafik ist sie an der ipsilateralen Schläfe angebracht.	29

Abbildungsverzeichnis

4.2	Grundlegendes Zeitparadigma des Studienablaufs zur Untersuchung des Einflusses der transokularen Gleichstromstimulation (DCS) auf das Elektretinogramm (ERG). Für alle Studien galt, dass minimal zwei ERG-Messungen notwendig waren, eine ERG-Messung vor (ERG 1) und eine während (ERG 2) der transokularen DCS. Nachmessungen zur Untersuchung von Nacheffekten waren möglich. Auf die genauen Zeitpunkte wird in den einzelnen Studien separat eingegangen.	32
5.1	Studienablauf zur Untersuchung des Einflusses der transokularen Gleichstromstimulation (DCS) auf das Musterumkehr-Elektretinogramm (<i>pattern-reversal electroretinogram</i> , PERG). Die Probanden wurden randomisiert in drei Stromstimulationsgruppen eingeteilt: kathodale Polarität, anodale Polarität und sham Stromstimulation (Scheinstromstimulation, Kontrollgruppe). Der Ablauf zwischen den Stromstimulationsgruppen war stets identisch mit einer PERG-Messung vor (ERG 1) und einer während (ERG 2) der transokularen DCS.	39
5.2	Über alle Probanden gemittelte Elektretinogrammmessungen vor (ERG 1) und während (ERG 2) der transokularen Gleichstromstimulation in den drei Stromstimulationsgruppen (kathodale Polarität, anodale Polarität und sham Stromstimulation). <i>MW</i> : Mittelwert, <i>SEM</i> : Standardfehler des Mittelwerts.	43
5.3	Violin plots zur Darstellung der Datenverteilung inklusive der Konfidenzintervalle (t-Test für verbundene Stichproben, $p^* \leq 0,0056$). Die Datenverteilung zeigt die Differenz zwischen Musterumkehr-Elektretinogrammen, die vor (ERG 1) und während (ERG 2) der transokularen Gleichstromstimulation aufgezeichnet wurden, hinsichtlich der charakteristischen ERG-Amplituden (P50, N95' und N95) in den drei Stromstimulationsgruppen (kathodale Polarität, anodale Polarität und sham Stromstimulation). Signifikante Unterschiede zwischen der ERG 1- und der ERG 2-Messung sind mit * gekennzeichnet.	44

Abbildungsverzeichnis

5.4	Häufigkeitsverteilung ($n=19$ für alle Diagramme) der verwendeten Sweeps zur Auswertung der gemessenen Musterumkehr-Elektroretinogramme vor (ERG 1) und während (ERG 2) der transokularen Gleichstromstimulation in den drei Stromstimulationsgruppen (kathodale Polarität, anodale Polarität und sham Stromstimulation). Der Wert γ gibt die Schiefe der jeweiligen Verteilung an.	52
6.1	Mess- und Stimulationsplatz zur simultanen transokularen Gleichstromstimulation und Aufnahme von Vollfeld-Elektroretinogrammen.	56
6.2	Studienablauf der Vollfeld-Elektroretinogramm-Studie (Vollfeld-ERG) am Beispiel einer Messsitzung eines Probanden. Insgesamt durchlief jeder Proband drei Messsitzungen (unterschiedliche Tage) die sich lediglich in der Stromstimulation (kathodale Polarität, anodale Polarität oder sham Stromstimulation; randomisierte Reihenfolge) unterschieden. Jede Sitzung bestand aus sechs Vollfeld-ERG-Messungen, um sowohl akute Effekte als auch Nacheffekte der transokularen Gleichstromstimulation zu untersuchen.	58
6.3	Über alle Probanden gemittelte Messungen der Vollfeld-Elektroretinogramme vor (ERG 1) und während (ERG 2) der transokularen Gleichstromstimulation in den drei Stromstimulationsgruppen (kathodale Polarität, anodale Polarität und sham Stromstimulation). <i>MW</i> : Mittelwert, <i>SEM</i> : Standardfehler des Mittelwerts.	62
6.4	Violin plots zur Darstellung der Datenverteilung der Differenz zwischen der Elektroretinogrammmessung vor (ERG 1) und während (ERG 2) der transokularen Gleichstromstimulation hinsichtlich der (A) Amplituden- und (B) Latenzwerte der charakteristischen Wellen (a-, b'- und b-Welle).	64
6.5	Gemittelte Elektroretinogrammmessungen über alle Probanden und Stromstimulationsgruppen (kathodale Polarität, anodale Polarität und sham Stromstimulation). Dargestellt sind die Messzeitpunkte vor (ERG 1) und nach (ERG 3–ERG 6) der transokularen Gleichstromstimulation.	65

Abbildungsverzeichnis

- 6.6 Über alle Probanden gemittelte oszillatorische Potentiale in den drei Stromstimulationsgruppen (kathodale Polarität, anodale Polarität und sham Stromstimulation). Dargestellt sind die durchgeführten Elektretinogrammmessungen vor (ERG 1), während (ERG 2) und nach Beendigung der transokularen Gleichstromstimulation (ERG 3–ERG 6). 67
- 7.1 Elektrodensetup für die transokulare Gleichstromstimulation zwischen Auge und visuellem Cortex simultan zur Aufnahme eines Elektretinogramms (ERG). Als ERG-Elektroden wurden gesinterterte Ag/AgCl-Ringelektroden verwendet. Die aktive Elektrode wurde am unteren Augenlid, die Referenzelektrode am ipsilateralen Ohrläppchen und die Erdungselektrode an der Stirn angebracht. Als Stromstimulationselektroden wurden Gummi-Grafit-Elektroden verwendet, von denen eine um das Auge herum und eine weitere am visuellen Cortex positioniert war. 72
- 7.2 Studienablauf der in diesem Kapitel vorgestellten Vollfeld-Elektretinogramm-Studie am Beispiel einer Messsitzung. Insgesamt durchlief jeder Proband drei Messsitzungen (unterschiedliche Tage, mindestens 24 h Pause), die sich lediglich in der Stromstimulation (kathodale Polarität, anodale Polarität oder sham Stromstimulation; randomisierte Reihenfolge) unterschieden. 73
- 7.3 Über alle Probanden gemittelte Vollfeld-Elektretinogramme, die vor (ERG 1) und während (ERG 2) der transokularen Gleichstromstimulation zwischen Auge und visuellem Cortex in den drei Stromstimulationsgruppen (kathodale Polarität, anodale Polarität und sham Stromstimulation) aufgezeichnet wurden. *MW*: Mittelwert, *SEM*: Standardfehler des Mittelwerts. 79
- 7.4 Violin plots zur Darstellung der Datenverteilung der Amplitudendifferenz zwischen den gemessenen Vollfeld-Elektretinogrammen vor (ERG 1) und während (ERG 2) der transokularen Gleichstromstimulation zwischen Auge und visuellem Cortex. 80

Abbildungsverzeichnis

7.5	Über alle Probanden gemittelte Vollfeld-Elektroretinogramme zu den Messzeitpunkten vor (ERG 1) sowie 1 min (ERG 3) und 5 min (ERG 4) nach der transokularen Gleichstromstimulation in den drei Stromstimulationsgruppen (kathodale Polarität, anodale Polarität und sham Stromstimulation). Die Stromstimulation wurde zwischen dem Auge und dem visuellem Cortex durchgeführt.	82
7.6	Violin plots zur Darstellung der Datenverteilung der Amplitudendifferenz zwischen den gemessenen Vollfeld-Elektroretinogrammen vor (ERG 1) und (A) 1 min (ERG 3) und (B) 5 min (ERG 4) nach Beendigung der transokularen Gleichstromstimulation zwischen Auge und visuellem Cortex.	83
7.7	Über alle Probanden gemittelte oszillatorische Potentiale der aufgenommenen Vollfeld-Elektroretinogramme vor (ERG 1) und während (ERG 2) der transokularen Gleichstromstimulation zwischen Auge und visuellem Cortex in den drei Stromstimulationsgruppen (kathodale Polarität, anodale Polarität und sham Stromstimulation). <i>MW</i> : Mittelwert	84
7.8	Datenverteilung der Differenzen zwischen den Elektroretinogrammmessungen vor (ERG 1) und während (ERG 2) der transokularen Gleichstromstimulation (DCS) beider innerhalb der Dissertation durchgeführten Vollfeld-Elektroretinogramm-Studien. Studie 1 ist dem Kapitel 6 der Dissertation zu entnehmen. Hier wurde die transokulare DCS zwischen dem Auge und der ipsilateralen Schläfe durchgeführt. Studie 2 wird in Kapitel 7 der Dissertation beschrieben. Hier wurde die transokulare DCS zwischen Auge und visuellem Cortex durchgeführt.	86
8.1	Über alle Probanden gemittelte Elektroretinogramme zu den Messzeitpunkten vor (ERG 1) und während (ERG 2) der transokularen Gleichstromstimulation in allen drei Stromstimulationsgruppen (kathodale Polarität, anodale Polarität und sham Stromstimulation). <i>MW</i> : Mittelwert, <i>SEM</i> : Standardfehler des Mittelwerts.	98

Abbildungsverzeichnis

- 8.2 Violin plots inklusive der Konfidenzintervalle (t-Test für verbundene Stichproben innerhalb einer Stromstimulationsgruppe, $p^* \leq 0,0167$) zur Darstellung der Datenverteilung der photopic negative response Amplitudendifferenz zwischen der Elektroretinogrammmessung vor und während der transokularen Gleichstromstimulation. Für den Vergleich zwischen den Stromstimulationsgruppen wurde eine ANOVA mit Messwiederholung und als Post-hoc-Test wurde der t-Test für verbundene Stichproben verwendet ($\alpha = 0,05$). Signifikante Ergebnisse sind mit * gekennzeichnet. 99
- 8.3 Violin plots zur Darstellung der Datenverteilung der gemessenen photopic negative response Amplitudenwerte für die gemessenen Elektroretinogramme vor (ERG 1) und nach (ERG 3–ERG 6) der transokularen Gleichstromstimulation. Die violin plots der kathodale und der anodale Stromstimulationsgruppe enthalten jeweils 17 Probandenmessungen. Die ERG 1- und die ERG 3-Messungen der sham Stromstimulationsgruppe umfassen ebenfalls 17 Probandenmessungen. Bei den ERG-Messungen 4, 5 und 6 der sham Stromstimulationsgruppe konnten aufgrund eines Gerätebedienfehlers jeweils nur die Werte von 16 Probanden verwendet werden. Signifikante Unterschiede zwischen den Amplitudenwerten nach dem Friedman-Test und dem zugehörigen Post-hoc-Test sind mit * gekennzeichnet ($\alpha = 0,05$). 100
- 8.4 Violin plots zu Darstellung der Datenverteilung der Latenzdifferenz der photopic negative response Welle zwischen den Elektroretinogrammmessungen vor und während der transokularen Gleichstromstimulation. 101
- 8.5 Violin plots zur Darstellung der Datenverteilung der photopic negative response Amplitudendifferenz zwischen den Elektroretinogrammmessungen vor und während der transokularen Gleichstromstimulation hinsichtlich der charakteristische a-, b'- und b-Welle in den drei Stromstimulationsgruppen (kathodale Polarität, anodale Polarität und sham Stromstimulation). 103

Abbildungsverzeichnis

9.1 Zusammenfassung der Ergebnisse der innerhalb der Dissertation durchgeführten Studien. Dargestellt sind nur die retinalen Zellen, die untersucht werden konnten und auf die durch die angegebene Untersuchungsart Rückschlüsse hinsichtlich der Gewichtsfunktion $g(t)_{Strom}$ bei einer durchgeführten transokularen Gleichstromstimulation (Zustand: $u(t)_{Strom} \neq 0$) möglich waren. Die rot-markierte und eingerahmte Spalte hebt das Wirkungskonzept hervor, dass primär die retinalen Ganglienzellen durch die transokulare Gleichstromstimulation beeinflusst werden. 109

A.1 Violin plots zur Darstellung der Datenverteilung der gemessenen photopic negative response Latenzen für die Elektroretinogrammmessungen vor (ERG 1) und nach Beendigung der transokularen Gleichstromstimulation (ERG 3–ERG 6) in allen drei Stromstimulationsgruppen (kathodale Polarität, anodale Polarität und sham Stromstimulation). 140

Tabellenverzeichnis

5.1	Mittlere Amplituden und Latenzen der Elektroretinogrammmessungen zu den Zeitpunkten vor (ERG 1) und während (ERG 2) der transokularen Gleichstromstimulation in den drei Stromstimulationsgruppen (kathodale Polarität, anodale Polarität und sham Stromstimulation).	42
5.2	Statistische Ergebnisse (t-Tests für verbundene Stichproben, $p^* \leq 0,0056$) der untersuchten Unterschiede zwischen aufgezeichneten Elektroretinogrammen (ERG) vor (ERG 1) und während (ERG 2) der transokulare Gleichstromstimulation in den drei Stromstimulationsgruppen (kathodale Polarität, anodale Polarität und sham Stromstimulation) hinsichtlich der charakteristischen ERG-Wellen (P50, N95' und N95). <i>Sdw</i> : Standardabweichung.	45
5.3	Berechnete p-Werte des Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Tests ($p^* \leq 0,0056$) zur Untersuchung, ob zwischen den Latenzwerten der Musterumkehr-Elektroretinogramme (<i>pattern-reversal electroretinogram</i> , PERG), die vor und während der transokularen Gleichstromstimulation gemessen wurden, ein signifikanter Unterschied in Bezug auf die charakteristischen PERG-Wellen (P50, N95' und N95) innerhalb der Stromstimulationsgruppen (kathodale Polarität, anodale Polarität und sham Stromstimulation) vorliegt.	46
6.1	Mittelwerte und Standardabweichungen der Amplituden- und Latenzwerte für die drei Stromstimulationsgruppen (kathodale Polarität, anodale Polarität und sham Stromstimulation) zu den Elektroretinogrammmessungen vor (ERG 1) und während (ERG 2) der transokularen Gleichstromstimulation.	61

Tabellenverzeichnis

6.2	Statistische Ergebnisse der hypothesenprüfenden Auswertung der oszillatorischen Potenziale (OPs). Der Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test ($p^* \leq 0,0056$) wurde auf die Amplituden und Latenzen der charakteristischen OPs-Wellen (P1, P2 und P3) zwischen der Elektoretinogramm-messung vor (ERG 1) und während (ERG 2) der transokularen Gleichstromstimulation (DCS) angewendet (primäres und sekundäres Studienziel). Der Friedman-Test ($p^* \leq 0,0027$) wurde zur Auswertung der Nacheffekte zwischen der Elektoretinogramm-messung vor (ERG 1) und den Messungen nach (ERG 3–ERG 6) der transokularen DCS angewendet.	66
7.1	Amplituden- und Latenzmesswerte der drei Stromstimulationsgruppen (kathodale Polarität, anodale Polarität und sham Stromstimulation) in den aufgenommenen Vollfeld-Elektoretinogrammen vor (ERG 1) und während (ERG 2) der transokularen Gleichstromstimulation zwischen Auge und visuellem Cortex.	78
7.2	Statistische Ergebnisse des t-Tests für verbundene Stichproben inklusive Konfidenzintervalle ($p^* \leq 0,0056$) für die gemessenen Vollfeld-Elektoretinogramme vor (ERG 1) und während (ERG 2) der transokularen Gleichstromstimulation zwischen Auge und visuellem Cortex. <i>Stdw</i> : Standardabweichung.	81
7.3	Statistische Ergebnisse der t-Tests für verbundene Stichproben inklusive Konfidenzintervalle ($p^* \leq 0,0056$) zur Untersuchung, ob zwischen den oszillatorischen Potentialen vor und während der transokularen Gleichstromstimulation zwischen Auge und visuellem Cortex ein signifikanter Unterschied vorliegt. <i>Stdw</i> : Standardabweichung.	85
7.4	Statistische Ergebnisse des Mann-Whitney-U-Tests ($p^*_{ERG1-ERG2} \leq 0,0056$, $p^*_{ERG1-ERG3,ERG4} \leq 0,0027$) zur Untersuchung, ob zwischen den beiden im Rahmen der Dissertation durchgeführten Vollfeld-Elektoretinogramm-Studien ein signifikanter Unterschied vor und während (ERG 1 zu ERG 2) sowie vor und nach (ERG 1 zu ERG 3 sowie ERG 1 zu ERG 4) der transokularen Gleichstromstimulation vorliegt.	87

Tabellenverzeichnis

7.5	Statistische Ergebnisse des Mann-Whitney-U-Tests ($p^*_{ERG1-ERG2} \leq 0,0056$; $p^*_{ERG1-ERG3,ERG4} \leq 0,0027$) zu Untersuchung, ob zwischen den beiden im Rahmen des Dissertation durchgeführten Vollfeld-Elektroretinogramm-Studien ein signifikanter Unterschied bei den jeweiligen Differenzen der oszillatorischen Potentiale vor und während (ERG 1 zu ERG 2) sowie vor und nach (ERG 1 zu ERG 3, ERG 1 zu ERG 4) der transokularen Gleichstromstimulation vorliegt.	88
8.1	Mittelwert und Standardabweichung für die photopic negative response Amplitude und Latenz in den drei Stromstimulationsgruppen (kathodale Polarität, anodale Polarität und sham Stromstimulation) für die Elektroretinogrammmessungen vor (ERG 1) und während (ERG 2) der transokularen Gleichstromstimulation.	97
A.1	Impedanzwerte des alternativen Elektrodensetups zur simultanen transokularen Gleichstromstimulation und Elektroretinogrammmessung aus der Masterarbeit von Blum 2018 [7]. Hierbei waren sechs Gold-Napfelektroden mit einem Durchmesser von 1,2 cm gleichmäßig um das Auge angeordnet. Als Stromstimulationsgegen-elektrode diente eine Gummi-Grafit-Elektrode in einem mit Kochsalzlösung befüllten Schwammpad (25 cm^2), welche an der ipsilateralen Schläfe angebracht war. Die Impedanz wurde mit dem im Stromstimulator integrierten Impedanztest gemessen (Wechselstrom, sinusförmig, $200 \mu\text{A}$ Spitze zu Spitze, 20 Hz, kein Offset). Die Messwerte wurden den Messprotokollen entnommen.	138
A.2	Statistische Ergebnisse des Friedman-Tests ($p^* \leq 0,0042$) zur Untersuchung, ob zwischen den gemessenen Amplituden der Vollfeld-Elektroretinogramme nach der transokularen Gleichstromstimulation ein signifikanter Unterschied zwischen den drei Stimulationsgruppen (kathodale Polarität, anodale Polarität und sham Stromstimulation) vorliegt.	139

Tabellenverzeichnis

A.3	Ergebnisse des Friedman-Tests ($p^* \leq 0,0056$) zur Untersuchung, ob zwischen den gemessenen Vollfeld-Elektroretinogrammen (Vollfeld-ERG) vor (ERG 1), 1 min nach (ERG 3) und 5 min nach (ERG 4) der transokularen Gleichstromstimulation zwischen Auge und visuellem Cortex ein signifikanter Stromstimulationseffekt in Bezug auf die charakteristischen Vollfeld-ERG-Amplituden (a-, b'- und b-Welle) vorliegt.	139
A.4	Statistisches Ergebnis des Friedman-Tests ($p^* \leq 0,0056$) zur Untersuchung, ob zwischen den Amplituden der charakteristischen Wellen (P1, P2 und P3-Welle) der oszillatorischen Potentialen vor und nach der transokularen Gleichstromstimulation zwischen Auge und visuellem Cortex ein signifikanter Unterschied vorliegt.	139

1 Einleitung

Im Jahr 2014 schätzte die Weltgesundheitsorganisation weltweit 246 Millionen sehbehinderte und 39 Millionen blinde Menschen. Die drei häufigsten Ursachen für diese Erblindungen stellten die Katarakt (51 %), das Glaukom (8 %) und die altersbedingte Makuladegeneration (AMD; 5 %) dar [8]. In Deutschland wurden vom statistischen Bundesamt für das Jahr 2019 rund 350 000 Sehbehinderte gemeldet. Davon waren 70 000 vollständig erblindet [9]. Vor allem die AMD (40,7 %) und das Glaukom (15,4 %) waren die Ursachen für Neuerblindungen, die Katarakt kann hingegen durch eine Operation gut therapiert werden [8]. Bei der AMD und dem Glaukom erkranken neuronale Strukturen des Auges, die im weiteren Verlauf der Erkrankung sterben, was zu einer langsamen Erblindung der Betroffenen führt [10, 11]. Alle bisher etablierten Therapien zielen auf den Erhalt noch vorhandenen Sehvermögens ab. Heilende Therapien sind derzeit nicht vorhanden.

Im Jahr 2004 erregte eine Studie von Chow et al. [12] Aufmerksamkeit. In dieser Studie zeigten Patienten mit einer implantierten Retinaprothese Verbesserungen des Sehvermögens, die auch in Bereichen der Retina zu finden waren, die weit entfernt von der implantierten Prothese lagen. Diese Verbesserungen wurden auf den von der Prothese applizierten gepulsten Strom zurückgeführt.

Dass eine elektrische Stimulation neuronalen Gewebes zur Modulation neuronaler Aktivität führt, ist aus der transkraniellen Elektrostimulation (tES) bekannt. Die tES ist ein etabliertes Verfahren zur Erforschung und Therapie psychologisch-neurologischer Erkrankungen, wie beispielsweise Depressionen [13–15]. Infolgedessen wurde in zahlreichen Tierstudien der Einfluss der transokularen Stromstimulation auf die retinalen Zellen untersucht. Hierbei wurden positive Effekte auf die Entwicklung, die Stabilität und die Funktionalität retinaler Neuronen nachgewiesen [16–21]. So wurde beispielsweise an Ratten eine

1 Einleitung

erhöhte Überlebensrate retinaler Ganglienzellen nach einer Sehnervdurchtrennung oder bei Kaninchen mit einer Rhodopsin P347L-Mutation (Retinitis pigmentosa Modell, Abkürzung Retinitis pigmentosa: RP) eine erhöhte Überlebensrate von Photorezeptoren nachgewiesen [17, 18].

Die Studien am Menschen fokussierten sich vorwiegend auf die Behandlung neuronaler ophthalmologischer Krankheiten wie die RP [22–28], das Glaukom [29, 30], Morbus Stargardt [31], die AMD [32, 33], den retinalen Arterienverschluss [34–36] und die optische Neuropathie [37–40] mittels transokularer Stromstimulation. Hierbei wurden in einzelnen Untersuchungen zur Beurteilung des Sehvermögens, beispielsweise bei der Analyse des Gesichtsfeldes, positive Effekte nachgewiesen [23, 39]. Allerdings wurden auch widersprüchliche oder nicht reproduzierbare Ergebnisse publiziert. So konnten beispielsweise Schatz et al. (2017) [24] das publizierte positive Ergebnis der transokularen Stromstimulationstherapie auf das Gesichtsfeld von RP-Patienten [23] nicht reproduzieren. Aus der Vielzahl der verschiedenen untersuchten Krankheiten wurde deutlich, dass bisher noch unbekannt ist, welche retinalen Zellen im Detail durch eine transokulare Stromstimulation beeinflusst werden. Diese Fragestellung stellt den ersten Teil der Motivation der vorliegenden Dissertation dar.

Aus der tES ist bekannt, dass die transkranielle Gleichstromstimulation (*direct current stimulation*, DCS) in Abhängigkeit von der applizierten Strompolarität zur Veränderung eines visuell evozierten Potentials (*visual evoked potential*, VEP) führt. Antal et al. (2004) [41] wiesen eine signifikante Reduktion der charakteristischen N75-Amplitude des VEPs direkt und bis zu 20 min nach einer 15-minütigen kathodalen transkraniellen DCS des visuellen Cortex nach (Stimulation zwischen Oz und Cz; Elektrodenpositionen am Kopf werden in der gesamten Dissertation nach dem 10-20-System [42] angegeben). Bei der anodalen transkraniellen DCS war ein Trend zur Amplitudenreduktion erkennbar, allerdings lag nur zum Messzeitpunkt 10 min nach Beendigung der Stromstimulation Signifikanz vor. Effekte während der transkraniellen DCS wurden in dieser Studie nicht untersucht.

Der Effekt der kathodalen transkraniellen DCS wurde in einer Studie von Wunder et al. 2018 [43] bestätigt. Hier wurde ebenfalls ein signifikanter Effekt 1 min nach Beendigung einer 10-minütigen kathodalen transkraniellen DCS des visuellen

1 Einleitung

Cortex (zwischen Oz und Cz) auf die N75-Amplitude des VEPs gefunden. Zudem wurden in dieser Studie akute Effekte während der transkraniellen DCS untersucht, und es wurde eine signifikante Reduktion der P100-Amplitude 1 min nach Beginn der Stromstimulation nachgewiesen.

In einer Studie von Ding et al. (2016) [44] wurde eine signifikante Erhöhung der P100-Amplitude nach einer anodalen und eine signifikante Verringerung nach einer kathodalen transkraniellen DCS bei Amblyopie-Patienten nachgewiesen. Ein entgegengesetztes Ergebnis wurde von Accornero et al. (2007) publiziert [45]. Hier zeigte die 10-minütige anodale transkranielle DCS eine Reduktion der VEP P100-Amplitude während und nach der Stromstimulation. Die kathodale transkranielle DCS führte zu einer Amplitudenerhöhung. In weitere Studien von Viganò et al. (2013) [46] und Strigaro et al. (2015) [47] konnten keine Effekte der transkraniellen DCS auf die VEP-Amplituden nachgewiesen werden.

Die teils widersprüchlichen Ergebnisse können durch die unterschiedlichen Stimulations- und Messanordnungen begründet werden, wodurch die Vergleichbarkeit der Studien eingeschränkt ist. So wurde beispielsweise in der Studie von Accornero et al. (2007) zwischen dem visuellen Cortex und dem Nacken und nicht wie in den anderen Studien zwischen Oz und Cz stromstimuliert. Es bleibt jedoch festzuhalten, dass in der Literatur deutliche Hinweise darauf existieren, dass die charakteristischen VEP-Amplituden durch geeignete transkranielle DCS polaritätsabhängig beeinflussbar sind.

Daraus ergibt sich die Fragestellung, ob ein evoziertes Potential, das früher im Prozess der Lichtwahrnehmung und -verarbeitung im visuellen System entsteht und im Elektretinogramm (ERG) erfasst wird, auf eine ähnliche Art und Weise wie das VEP durch eine DCS beeinflusst werden kann. Diese Fragestellung stellt den zweiten Teil der Motivation der Dissertation dar.

Die Methode, die Wirkung der transokularen Stromstimulation durch die Messung eines ERGs sichtbar zu machen, wurde bereits vereinzelt in Tierstudien angewendet [18, 48–50]. Dabei wurden Stromstimulationseffekte auf die charakteristischen Wellen eines Vollfeld-ERGs nachgewiesen, die in den Studien jedoch teils widersprüchlich sind. Die Kombination einer transokularen Stromstimulation mit einer ERG-Messung am Menschen wurde in der Literatur nur als objektiver Mess-

1 Einleitung

parameter zur Einschätzung des veränderten Sehvermögens von Patienten nach einer transokularen Stromstimulationstherapie durchgeführt [23, 24, 31, 34, 36]. Vereinzelt wurden hier Veränderungen in den charakteristischen Wellen des Vollfeld-ERGs nach einer transokularen Stromstimulationstherapie von RP-Patienten nachgewiesen [23, 24]. Eine Reproduzierung dieser Ergebnisse war bisher nicht möglich.

Studien, in denen das ERG während einer transokularen Stromstimulation gemessen wurde, um akute Stromstimulationseffekte zu beurteilen, sind nicht bekannt. Des Weiteren wurden in den publizierten Humanstudien ausschließlich ERGs untersucht, die primär die Aktivität von Photorezeptoren und Bipolarzellen widerspiegeln. Studien mit ERGs, die die Aktivität der Ganglienzellen zeigen, sind nicht publiziert.

Aus den beiden Motivationsfragestellungen ergab sich das übergeordnete Ziel der Dissertation, die Wirkung der transokularen DCS auf die retinalen Zellen zu erforschen. Hierfür wurde zunächst ein theoretisches Studienkonzept entwickelt, um die Vorgehensweise und Methodik der vorliegenden Dissertation festzulegen. Aus dem Studienkonzept wurden Anforderungen an das Studiendesign sowie den Mess- und Stimulationsplatz zur simultanen transokularen DCS und Aufnahme von ERGs abgeleitet. Anschließend wurde in verschiedenen Studien die Beeinflussbarkeit der retinalen Zellen durch geeignete Variation der Eingangsparameter der visuellen und transokularen Stimulation untersucht.

Der Fokus der Studien lag auf der Erforschung akuter Stromstimulationseffekte auf die radial zur Kornea verlaufenden retinalen Zellen, da diese den größten Anteil an messbaren ERG-Potentialverläufen haben [51–54]. Als Nebenziele wurden die Auswertung von Nacheffekten der transokularen DCS und die Analyse der Wirkung auf lateral verlaufende retinale Zellen festgelegt.

Die Ergebnisse der Dissertation können weiterführend für die Entwicklung und die Optimierung von Therapieverfahren zur Behandlung neuronaler ophthalmologischer Erkrankungen und für die Entwicklung objektiver Messmethoden zum Nachweis einer transokularen Stromwirkung verwendet werden.

2 Grundlagen

2.1 Anatomie und Physiologie der Retina

Im hinteren Augenabschnitt kleidet die Retina (Netzhaut) das Innere des Augapfels aus. Die Retina besteht aus einer Vielzahl von Schichten mit unterschiedlichen neuronalen Strukturen [2, 55]. Im Folgenden wird auf die retinalen Schichten eingegangen, die im Rahmen der Dissertation von Bedeutung sind. In Abbildung 2.1 ist der Aufbau der Retina zusammengefasst.

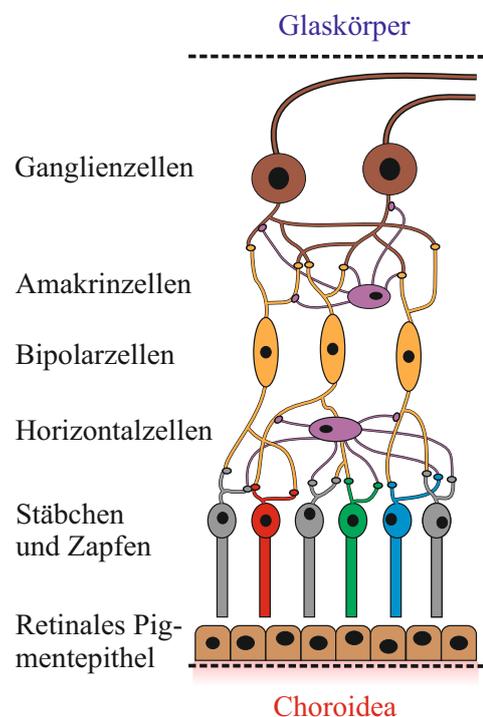


Abbildung 2.1: Schematische Darstellung des zellulären Aufbaus der Retina. Die Stäbchen sind in Grau und die Zapfen sind als bunte Zellen (in Rot, Grün und Blau) dargestellt. Die Abbildung orientiert sich an [2]

2 Grundlagen

In den Photorezeptoren (Stäbchen und Zapfen) wird das auf die Retina fallende Licht durch den Prozess der Phototransduktion in ein elektrisches Signal umgewandelt [56]. Grundsätzlich wird zwischen zwei Arten von Photorezeptoren unterschieden: die Zapfen und die Stäbchen. Der Mensch besitzt etwa 110–130 Millionen Stäbchen [57], die für das skotopische und mesopische Sehen zuständig sind [2], und 4–7 Millionen Zapfen [57], die das photopische Sehen ermöglichen [2]. Bei den Zapfen wird zwischen drei Typen differenziert: den Blau-, den Grün- und den Rot-Zapfen. Diese enthalten unterschiedliche Opsin-Arten und sind somit für unterschiedliche Wellenlängenbereiche des Lichts empfindlich [55]. Trifft ein Lichtquant auf einen Photorezeptor, wird der Prozess der Phototransduktion ausgelöst, der durch eine Kette zellulärer Prozesse zur Schließung von Ionenkanälen innerhalb des Photorezeptors führt, wodurch dieser hyperpolarisiert [51, 56, 58]. Die Hyperpolarisation vermindert die Ausschüttung des Neurotransmitters Glutamat an den chemischen Synapsen des Photorezeptors zu den Bipolar- und Horizontalzellen [51, 59]. Die Horizontalzellen sind mit den Bipolarzellen verbunden und besitzen rückgekoppelte Verbindungen zu den Photorezeptoren mit denen sie über das Prinzip der lateralen Hemmung aktiv die Glutamat-Ausschüttung an den Synapsen der Photorezeptoren beeinflussen [55].

Die Bipolarzellen lassen sich grundlegend in On- und Off-Bipolarzellen einteilen. Die On-Bipolarzellen depolarisieren bei der Verminderung von Glutamat an den synaptischen Verbindungen zu den Photorezeptoren, während die Off-Bipolarzellen hyperpolarisieren. Diese De- und Hyperpolarisation wird über chemische Synapsen an die Amakrin- und Ganglienzellen weitergegeben [55, 60]. Die Amakrinzellen befinden sich in einem hoch-komplexen Verschaltungssystem mit Ganglienzellen, Bipolarzellen und anderen Amakrinzellen und verwenden verschiedene Neurotransmitter für die synaptische Kommunikation [60]. Im Wesentlichen sind die Amakrinzellen an der intraretinalen Informationsverarbeitung von Farb-, Kontrast-, Helligkeits- und Bewegungssehen beteiligt [55].

Die Ganglienzellen sind die einzigen Neuronen der Retina, die Aktionspotentiale ausbilden [60]. Sie lassen sich wie die Bipolarzellen in On- und Off-Ganglienzellen einteilen [55]. Hier greift das Prinzip des rezeptiven Feldes. Das bedeutet, dass viele Zellen, nämlich etwa 125 Millionen Photorezeptoren [2] ihre Informationen

2 Grundlagen

an eine bzw. wenige nachfolgenden Zellen, im Fall der Retina an 1 Millionen Ganglienzellen [57], weiterleiten [55]. Das rezeptive Feld der Ganglienzellen besteht aus einer Zentrums-Umfeld-Struktur. Das Zentrum wird entweder durch Licht (On-Zentrum) oder Dunkelheit (Off-Zentrum) aktiviert. Das Umfeld wirkt dabei hemmend auf den jeweiligen Zustand. Das bedeutet, dass die On-Ganglienzellen eine erhöhte Anzahl an Aktionspotentialen ausbilden, wenn ein beleuchtetes Zentrum und eine dunkle Umgebung vorliegen, während die Off-Ganglienzellen dies bei Existenz eines dunklen Zentrums und beleuchteter Umgebung tun. Ist nur die Umgebung aktiviert, bilden sich keine Aktionspotentiale aus [55]. Abbildung 2.2 veranschaulicht das Prinzip des rezeptiven Feldes und die Folgen der Beleuchtung des Zentrums und des Umfeldes.

Nach der Ganglienzellschicht folgt die Nervenfaserschicht, die aus den Axonen der Ganglienzellen besteht, die zum *Nervus opticus* (Sehnerv) zusammenlaufen. Dieser verlässt an der Papille das Auge in Richtung Gehirn und bildet die weiterführenden Sehbahnen aus [2].

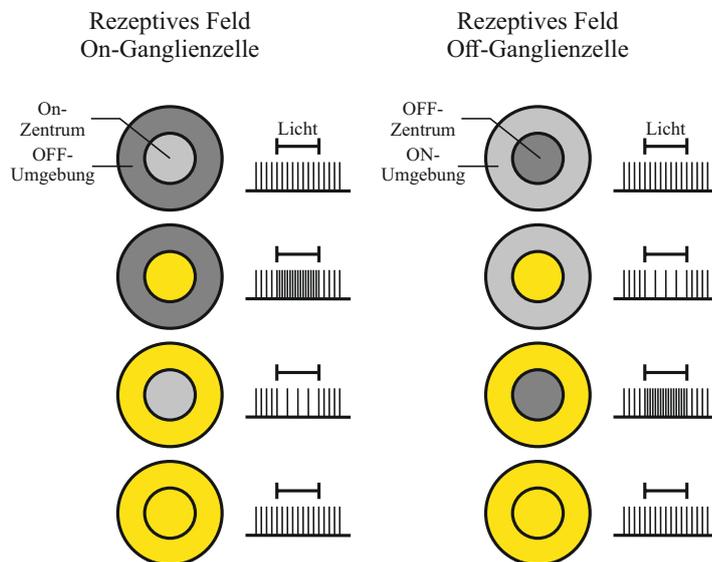


Abbildung 2.2: Prinzip des rezeptiven Feldes einer retinalen Ganglienzelle. Bei Belichtung (belichtete Bereiche sind gelb dargestellt) des Zentrums des rezeptiven Feldes der Ganglienzelle werden bei den On-Ganglienzellen mehr und bei den Off-Ganglienzellen weniger Aktionspotentiale generiert. Wird die Umgebung beleuchtet und das Zentrum nicht, tritt genau der entgegengesetzte Fall ein. Wird sowohl das Zentrum als auch die Umgebung beleuchtet, ändert sich an der Anzahl der ausgebildeten Aktionspotentiale im Vergleich zum unbeleuchteten rezeptiven Feld nichts. Die Abbildung orientiert sich an [3].

2.2 Elektroretinogramm

2.2.1 Definition

Im ERG wird das evozierte Potential dargestellt, das durch Potentialänderungen in den retinalen Zellen entsteht und als neuronale Aktivität der Retina interpretiert wird. Das ERG spiegelt die Summe aller Potentialänderungen innerhalb der Retina wider, die an der Verarbeitung eines applizierten und definierten visuellen Reizes beteiligt sind [51–53,61]. Von besonderer Bedeutung ist in diesem Zusammenhang der Prozess der Phototransduktion. Innerhalb der Retina führt dieser zu Ionenströmen, wodurch sich ein zeitlich veränderliches Feldpotential ausbildet [51, 53, 61]. Dieses ist durch Elektroden messbar, die außen am oder um das Auge platziert sind [4, 6, 53, 61]. Die ableitbaren Potentialänderungen können dabei Amplitudenwerte von bis zu 800 μV erreichen [61]. Durch Variation des applizierten visuellen Reizes ist es möglich, unterschiedliche charakteristische Potentialverläufe zu erhalten und Abschnitte der Verläufe verschiedenen retinalen Zellen als Quelle zuzuordnen [4, 62].

Für die verschiedenen ERG-Arten werden von der *International Society for Clinical Electrophysiology of Vision* (ISCEV) Standards festgelegt [62]. Die Quellen des ERGs sind vorwiegend auf radial zur Kornea verlaufende Ionenströme zurückzuführen (Ströme der Photorezeptoren, Bipolarzellen und Ganglienzellen). Laterale Ströme tragen kaum zum messbaren ERG bei, da sie sich aufgrund der Symmetrie des Auges gegenseitig auslöschen (Ströme der Amakrinzellen und Horizontalzellen) [51–54, 61].

2.2.2 Stimulations- und Messmethodik

Um ein im ERG sichtbares Potential auszulösen, wird ein visueller Stimulationsreiz benötigt. Dieser wird dem Auge entweder als Ganzfeldstimulation (auch Vollfeldstimulation genannt), Teilfeldstimulation oder multifokale Stimulation präsentiert [62]. Für die Vollfeldstimulation werden Stimulatoren verwendet, die das gesamte Gesichtsfeld homogen beleuchten. In der Regel werden Blitzreize mit

2 Grundlagen

einer kurzen Stimulationsdauer (≤ 5 ms) appliziert. Blitzstimulationen mit einer langen Stimulationsdauer von 150–200 ms sind aber ebenfalls möglich und werden als On-Off ERG bezeichnet. Die Vollfeldstimulation wird in der klinischen Routine zur elektrophysiologischen Untersuchung der Photorezeptoren und Bipolarzellen verwendet [63]. Durch Variation der Stimulationsparameter wie Helligkeit oder Hintergrundbeleuchtung können gezielt bestimmte retinale Zellaktivitäten im ERG hervorgehoben oder unterdrückt werden.

Für die Teilfeldstimulation und die multifokale Stimulation werden Monitore verwendet, über die ein Musterreiz appliziert wird. Durch geeignete Variation der visuellen Stimulationsparameter, beispielsweise Feldgröße oder Leuchtdichte, ist auch hier ein gezieltes Ansprechen bestimmter Zellarten möglich [63].

Zudem wird zwischen transienten und steady-state ERGs unterschieden. Dies ist abhängig von der Wiederholrate eines Stimulationsreizes pro Sekunde. Ein transientes Signal tritt nach Applikation eines visuellen Stimulus mit einer niedrigen Wiederholrate (≤ 5 Hz [6]) auf. Nach Applikation und Verarbeitung in den retinalen Zellen haben diese genügend Zeit, um zu ihrem Ruhepotential zurückzukehren. Das transiente Signal tritt phasensynchron zum applizierten Stimulus auf und weist eine für den Stimulus charakteristische Form auf. Ab einer bestimmten Stimulationsfrequenz, die von der Art des visuellen Stimulus abhängt, können die angesprochenen retinalen Zellen allerdings nicht mehr zu ihrem Ruhepotential zurückkehren, wodurch eine steady-state Antwort entsteht. In diesem Fall ist ein oszillierendes Signal im ERG zu beobachten, das in der Frequenz, der Phase und der Amplitude ausgewertet wird [64]. Ein ausführlicher Überblick über die verschiedenen Stimulationsarten und -methoden ist der Veröffentlichung von Robson et al. (2018) [62] zu entnehmen.

Zur Ableitung eines ERGs sind Elektroden notwendig, die am oder in unmittelbarer Nähe um das Auge angebracht werden. Eine Elektrode wird am unteren Augenlid als Hautelektrode (Ag/AgCl-Ringelektrode) oder direkt auf der Kornea als Fadenelektrode (Dawson-Trick-Litzkow-Elektrode) oder Kontaktlinsenelektrode (Jet-Elektrode) positioniert. Diese Elektrode wird in der Literatur häufig als aktive Elektrode oder Aufnahmeelektrode bezeichnet [4, 6, 53, 61]. Diese Formulierung ist fachlich nicht korrekt, da alle am Menschen oder Tier angebrachten

2 Grundlagen

Elektroden aktiv Potentialänderungen erfassen. Bei dieser Elektrode handelt es sich lediglich um eine Elektrode, die möglichst nah an der Quelle des gesuchten Biosignals platziert wird. Aufgrund der üblichen Verwendung in der Fachliteratur wird im Rahmen der Dissertation mit dem Begriff ‚aktive Elektrode‘ gearbeitet. Das Feldpotential an der Kornea bzw. am unteren Augenlid wird nicht absolut gemessen, sondern mit einem Referenzpotential verglichen [61]. Hierfür wird eine Referenzelektrode am äußeren Canthus desselben Auges angebracht. Eine Erdungselektrode (*ground electrode*) wird meist an der Stirn oder am Ohrfläppchen positioniert [4, 61].

Das ERG zeigt geringe Amplitudenwerte im μV -Bereich, die bei der Aufnahme durch hohe Störsignalanteile überlagert werden. Das Signal-Rausch-Verhältnis (*signal-to-noise-ratio*, SNR) einer einzeln aufgenommenen ERG-Antwort reicht daher für eine Auswertung nicht aus. Hier muss das sogenannte Average-Prinzip angewendet werden [4, 6]. Allgemein wird beim Averaging ein Biosignal mehrfach hintereinander aufgenommen und anschließend werden die Einzelantworten (Sweeps) reizsynchron gemittelt. Durch die Mittlung entfallen stochastische Anteile des real gemessenen Signals, wodurch sich das SNR verbessert. Damit sich ein Signal zur zuverlässigen Detektion vom Rauschen abhebt ist ein SNR von mindestens 10 dB notwendig [65]. Die Anzahl der notwendigen Wiederholungen für ein genügend hohes SNR zur Detektion eines ERG variiert je nach Messumgebung und ERG-Art [5, 6].

2.2.3 Helladaptiertes Vollfeld-Elektroretinogramm

Bei der Erfassung eines helladaptierten Vollfeld-ERGs (das heißt, die retinalen Zellen sind auf Tagsehen angepasst) wird das gesamte Gesichtsfeld mit einem kurzen, hellen Lichtblitz visuell stimuliert. Die von der ISCEV empfohlenen Stimulationsparameter sind der Publikation von McCulloch et al. (2015) [4] zu entnehmen.

Der typische Potentialverlauf eines helladaptierten Vollfeld-ERGs ist beispielhaft in Abbildung 2.3 dargestellt. Das Vollfeld-ERG setzt sich aus zwei charakteristischen Wellen zusammen: aus einer frühen negativen a-Welle und einer

2 Grundlagen

nachfolgenden positiven b-Welle [4]. Die a-Welle tritt ca. 10–15 ms nach Lichtblitzapplikation ein und wird auf die Hyperpolarisation der Zapfen durch den Prozess der Phototransduktion zurückgeführt [51–53, 63]. Die Stäbchen spielen beim helladaptierten Vollfeld-ERG kaum eine Rolle, da sie sich in Sättigung befinden [63]. Die Amplitudengröße der a-Welle wird typischerweise ausgehend vom Nullpotential gemessen [4]. Nach der a-Welle zeigt der Potentialverlauf einen Anstieg, der als b-Welle bezeichnet wird. Die b-Welle spiegelt die Summe der Hyper- und Depolarisation der On- und Off-Bipolarzellen wider, wobei der starke steile Anstieg vor allem durch die On-Bipolarzellen und der nachfolgende Abfall der b-Welle vorwiegend durch die Off-Bipolarzellen beeinflusst wird [51, 52, 63, 66, 67]. Die Größe der b-Wellen-Amplitude erstreckt sich gemäß ISCEV vom Minimum der a-Welle bis zum Maximum der b-Welle [4].

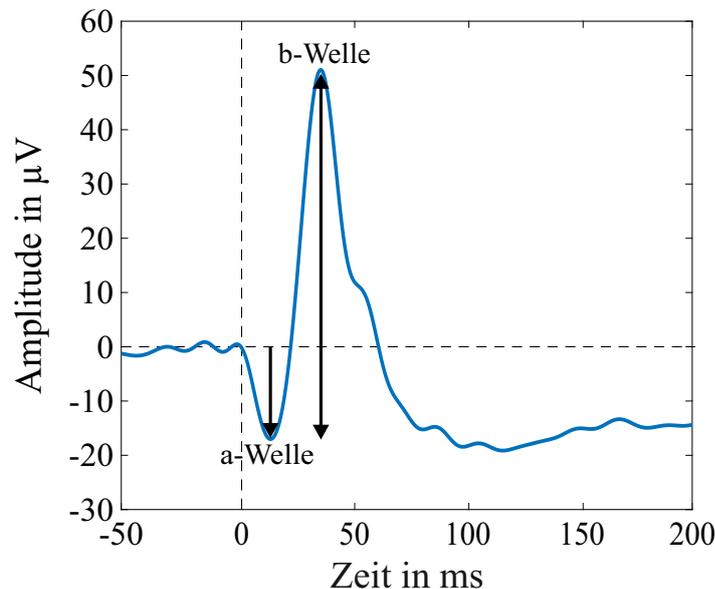


Abbildung 2.3: Potentialverlauf eines helladaptierten Vollfeld-Elektroretinogramms mit eingezeichneten charakteristischen Wellen (a- und b-Welle) gemäß [4].

2.2.4 Oszillatorische Potentiale

Zwischen der a- und der b-Welle des Vollfeld-ERGs treten spezifische Oszillationen auf, die als oszillatorische Potentiale (*oscillatory potentials*, OPs) bezeichnet werden. Bei diesen handelt es sich um charakteristische Wellen mit Frequenzen zwischen 75 Hz und 300 Hz [52, 63]. Zur Einzelbetrachtung der OPs muss das ERG zwischen 75 Hz und 300 Hz bandpassgefiltert werden [4]. Dabei treten probandenindividuell sowie in Abhängigkeit vom verwendeten Vollfeldstimulus drei bis zehn charakteristische Wellen auf, deren Ausprägungen unterschiedlich stark sein können [51].

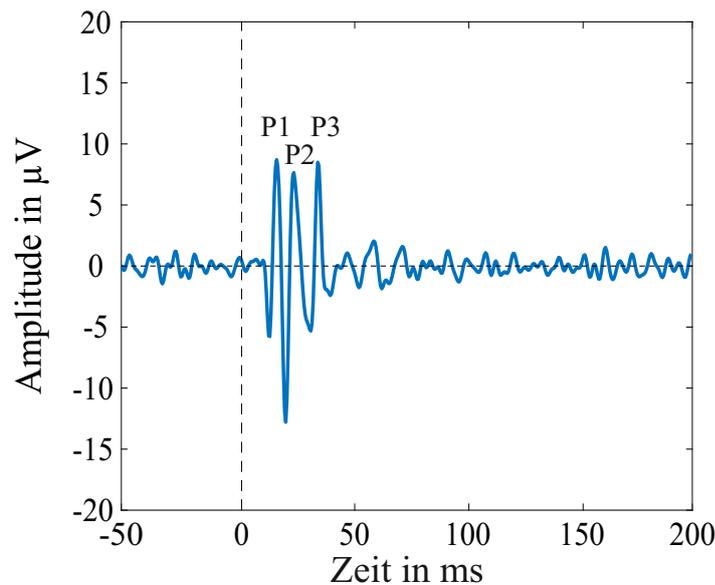


Abbildung 2.4: Potentialverlauf der oszillatorischen Potentiale mit eingezeichneten charakteristischen Wellen (P1, P2 und P3) für ein helladaptiertes Vollfeld-Elektroretinogramm gemäß [4]. Die Wellen treten im Frequenzbereich zwischen 75 Hz und 300 Hz auf.

Beim helladaptierten Vollfeld-ERG mit einem weißen Blitz sind meist drei Hauptwellen mit einer nachfolgenden kleineren vierten Welle zu beobachten [4]. Abbildung 2.4 zeigt einen typischen OPs-Potentialverlauf. Zu vermerken ist, dass die OPs deutlich niedrigere Amplitudenwerte als die a- und b-Welle besitzen. Die Herkunft der OPs wird den inneren retinalen Zellen mit einem großen Anteil an

2 Grundlagen

Amakrinzellen-Aktivität und deren synaptischen Verbindungen zugeschrieben. Eine genaue Zuordnung der Herkunft der einzelnen OPs-Wellen ist bisher nicht möglich [52, 68–70]. Für die Messung und Auswertung der OPs existieren, bis auf die Empfehlung des Frequenzbereichs, keine ISCEV-Standards, wodurch in der Literatur eine Vielzahl von Signalverarbeitungs- und Auswertungsmethoden zu finden sind [70–74].

2.2.5 Photopic negative response

Nach der b-Welle des helladaptierten Vollfeld-ERG tritt eine weitere negative Welle auf, welche als *photopic negative response* (PhNR) bezeichnet wird. Diese spiegelt eine Summenaktivität der Ganglienzellen und der zugehörigen Axone wider [5, 51, 52, 75, 76].

Die PhNR-Welle erreicht bei einer chromatischen Vollfeldstimulation mit einem roten Blitz auf einem blauen Hintergrund die größte Amplitude [77]. Die von der ISCEV empfohlenen Stimulationsparameter sind unter [5] zu finden. Zu beachten ist, dass die PhNR-Welle auch bei anderen chromatischen Stimuluszusammensetzungen, als dem empfohlenen roten Blitz auf blauen Hintergrund auftritt. Die PhNR-Welle variiert jedoch je nach visuellem Stimulus in der Amplitudengröße und der Latenz [78].

Abbildung 2.5 zeigt einen typischen Potentialverlauf eines helladaptierten Vollfeld-ERGs bei Stimulation mit optimierten Stimulationsparametern zur Entstehung der PhNR-Welle. Da es sich um ein Vollfeld-ERG handelt, sind im Potentialverlauf ebenfalls eine a- und eine b-Welle zu beobachten. Die PhNR-Welle ist als negative Welle mit einer Latenz von 70 ms ausgeprägt. Laut ISCEV sind zur Bestimmung der Amplitudengröße sowohl Messungen vom Nullpotential (*baseline-to-trough*, BT-Amplitude) als auch vom Maximum der b-Welle (*peak-to-trough*, PT-Amplitude) möglich [5].

2 Grundlagen

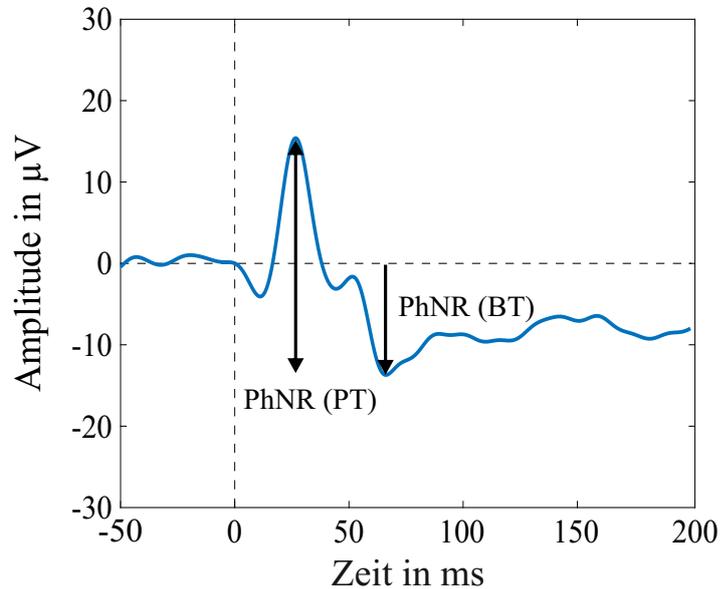


Abbildung 2.5: Potentialverlauf eines Vollfeld-Elektroretinogramms, das mit Stimulationsparametern aufgenommen wurde, die für die Entstehung der photopic negative response (PhNR) Welle optimiert wurden (blauer Hintergrund mit rotem visuellen Stimulus). Die PhNR-Welle kann gemäß [5] sowohl vom vorangegangenen Peak (PT-Amplitude) als auch vom Nullpotential (BT-Amplitude) ausgehend gemessen werden.

2.2.6 Musterumkehr-Elektroretinogramm

Im Gegensatz zum bisher vorgestellten Vollfeld-ERG sind noch andere visuelle Stimuli vorhanden, beispielsweise der Musterreizstimulus. Hierfür wird in der Regel ein Schachbrettmuster aus schwarzen und weißen Feldern verwendet, das zwei zueinander invertierte Zustände besitzt. Der Stimulus ist der Wechsel zwischen den beiden Zuständen. Das ableitbare ERG wird als Musterumkehr-Elektroretinogramm (*pattern-reversal electroretinogram*, PERG) bezeichnet [79].

Ein entscheidender Aspekt bei der Ableitung des PERG ist, dass die mittlere Leuchtdichte des Musterreizes konstant ist und daraus folgend die Anzahl der schwarzen und weißen Felder des Gesamtstimulus identisch sein muss [6]. Durch den Zustandswechsel und die konstante mittlere Leuchtdichte existieren innerhalb der Retina lokale Unterschiede bezüglich des Verarbeitungszustandes des visuellen

2 Grundlagen

Stimulus. Während lokal verteilt die eine Hälfte der beteiligten Neuronen ein helles Feld wahrnimmt, erkennt die andere Hälfte ein schwarzes Feld. Die linearen Signalbestandteile der Stimulusverarbeitung innerhalb der Retina löschen sich gegenseitig aus und nur die nicht linearen Anteile, die als Antwort auf die Reizumkehr interpretiert werden, bleiben bestehen [6, 51, 79]. Dadurch weist das PERG deutlich niedrigere Amplitudenwerte ($\pm 5 \mu\text{V}$ [6]) als ein Vollfeld-ERG auf. Die von der ISCEV empfohlenen Stimulationsparameter sind der Publikation von Bach et al. (2013) [6] zu entnehmen.

Ein typischer PERG-Potentialverlauf ist in Abbildung 2.6 dargestellt. Das PERG setzt sich aus drei charakteristischen Wellen zusammen. Die erste negative Welle des PERG mit einer Latenz von 35 ms wird als N35 bezeichnet [79]. Diese Welle besitzt eine geringe Amplitude ($\leq 1 \mu\text{V}$ [6]), wodurch das SNR häufig nicht ausreicht, um sie sicher zu detektieren. Zudem hat die N35-Welle eine geringe klinische Bedeutung, weswegen sie in der Literatur kaum berücksichtigt wird [80]. Die darauffolgende positive Welle bei einer Latenz von etwa 50 ms wird als P50 bezeichnet. Ihre Herkunft wird primär der Input-Aktivität zur Generierung der Aktionspotentiale (*pre-spiking activity*) innerhalb der Ganglienzellen zugeschrieben. Zu einem geringen Anteil haben jedoch auch distaler liegende retinale Zellen, die im Rahmen dieser Dissertation als Pre-Ganglienzellen zusammengefasst werden, Einfluss auf diese Welle [79, 81]. Die Amplitude der P50-Welle wird entweder vom Minimum der N35-Welle (wenn vorhanden) oder vom Nullpotential ausgehend gemessen [6].

Nach der P50-Welle folgt eine negative Welle, die als N95 bezeichnet wird und bei einer Latenz von 95 ms auftritt. Die Herkunft dieser charakteristischen Welle wird der Ganglienzellaktivität während und nach der Generierung der Aktionspotentiale (*spiking activity*) zugeordnet [79]. Die Amplitude der N95-Welle wird vom Maximum der P50-Welle ausgehend gemessen [6].

2 Grundlagen

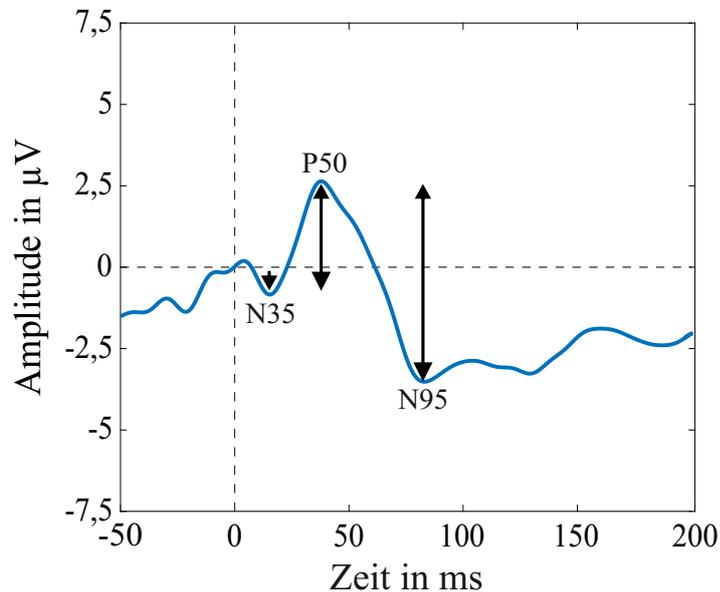


Abbildung 2.6: Potentialverlauf eines Musterumkehr-Elektroretinogramms (pattern-reversal Elektroretinogramm) mit eingezeichneten charakteristischen Wellen (N35, P50 und N95) gemäß [6]

2.3 Transokulare Stromstimulation

2.3.1 Definition und Einteilung

Die transokulare Stromstimulation ist eine nichtinvasive oder minimalinvasive tES-Methode. Die Erzeugung eines Stromflusses in der Retina und weiteren Strukturen der Sehbahn erfolgt durch eine direkt am oder in unmittelbarer Nähe zum Auge liegende Stromstimulationselektrode [16]. Die Positionierung der Stromstimulationselektrode am Kopf zur Stimulation der weiterführenden Sehbahnen, beispielsweise am visuellen Cortex, wird von der transokularen Stromstimulation abgegrenzt.

Für die transokulare Stromstimulation werden mindestens zwei Stromstimulationselektroden benötigt. Aus der Quelle kommend wird der Strom über eine oder mehrere Elektroden in das Auge eingespeist und kann über eine oder mehrere Gegenelektroden zurück zur Quelle fließen. Je nach Position der Stromstimu-

2 Grundlagen

lationselektrode am Auge wird zwischen einer transorbitalen, transkornealen und transpalpebralen transokularen Stromstimulation unterschieden [16]. Am häufigsten werden in Tier- und Humanstudien transkorneale Elektroden in Form von Faden- oder Kontaktlinsenelektroden verwendet [82]. Der direkte Kontakt zur Kornea kann sowohl als Vor- als auch als Nachteil interpretiert werden. Zwar steigt das Risiko für korneale Verletzungen und Symptome des trockenen Auges [83], gleichzeitig wird jedoch eine gute Leitfähigkeit in Richtung Retina sichergestellt [84]. Für die transpalpebralen und die transorbitalen Elektrodenmontagen werden häufig Ag/AgCl-Hautelektroden oder Gummi-Grafit-Hautelektroden verwendet. Diese haben die Vorteile einer hohen physiologischen Verträglichkeit und einer einfachen Applikation [83]. Nachteilig wirkt sich jedoch die größere Entfernung vom Stimulationszielort aus. Des Weiteren ist zwischen Elektrode und Haut ein weiteres Kontaktmedium (Elektrolytpaste oder mit Kochsalzlösung befeuchtetes Schwammpad) zur Erhöhung der zur Verfügung stehenden Ionen notwendig, um Faraday'sche Reaktionen auf der Haut zu verhindern [85, 86]. Die Gegenelektrode der transokularen Stromstimulation wird als Hautelektrode an der zum stimulierten Auge ipsilateralen Schläfe, am frontalen Schädelbereich oder an anderen Bereichen des Körpers, beispielsweise am Hals oder am Arm, angebracht [82, 83].

2.3.2 Stromstimulationsparameter

Die transokulare Stromstimulation zeichnet sich wie die tES allgemein durch einen großen Stromstimulationsparameterraum aus. Durch Variation der zahlreichen Parameter, zum Beispiel Stromform oder Stromstärke, lässt sich eine Vielzahl von Kombinationen mit unterschiedlichen Wirkmechanismen ermöglichen. Einen entscheidenden Stimulationsparameter für die Wirkung der transokularen Stromstimulation stellt die Stromart dar. Die bedeutendsten Stromarten in Bezug auf die transokulare Stromstimulation sind die DCS, die Wechselstromstimulation (*alternating current stimulation*, ACS) und die gepulsten Stromstimulation (*pulsed current stimulation*, PCS) [87].

2 Grundlagen

Aus der tES ist bekannt, dass die DCS während der Stromstimulation zu einer Modulation der Ruhemembranpotentiale der stimulierten Neuronen führt. Diese ist abhängig von der Orientierung des elektrischen Feldes zu den Neuronen [88]. Eine DCS wirkt sich somit nicht direkt auf die Generierung von Aktionspotentialen der stimulierten Neuronen aus. Allerdings führt indirekt die Beeinflussung von prä- und postsynaptischen Ionenkanälen zur Veränderung der Ruhemembranpotentiale und damit zu einer Veränderung der spontanen neuronalen Netzwerkaktivität, sodass die Feuerrate der Neuronen beeinflusst wird [89–93]. Im Nachgang wirkt die DCS nach aktuellem Stand der Literatur durch die Modifikation synaptischer Plastizität [92, 94].

Die ACS wirkt dagegen auf die neuronale Aktivität, indem die Feuerrate der Neuronen direkt oder über eine Wechselwirkung der ACS mit laufenden Gehirnoszillationen beeinflusst wird [94]. Die ACS wirkt somit nicht nur im stimulierten Gewebe, sondern kann durch interneuronale Wechselwirkungen und Interferenzen mit Gehirnoszillationen auch andere Hirnareale beeinflussen [92]. Als Hauptmechanismen der ACS werden Entrainment- und Neuroplastizitätseffekte diskutiert [94].

Die PCS stellt durch die Verwendung meist rechteckiger Pulse eine Vielzahl von Kombinationsmöglichkeiten aus DCS und ACS dar. Die dominanten Wirkmechanismen hängen dabei stark von den Pulsparametern wie Pulsbreite, Stromform, Stromstärke und Wiederholungsrate ab [87].

Nach aktueller Literatur werden für die transokulare Stromstimulation vorwiegend die ACS und die PCS in Tier- und Humanstudien verwendet [82]. Die DCS wird hingegen vorwiegend für die tES des Gehirns, speziell des visuellen Cortex, zur Stimulation der Sehbahnen angewendet [44, 95–97].

Ein weiterer entscheidender Stromstimulationsparameter ist die Stromstärke. Diese wird bei der transokularen Stromstimulation häufig anhand der Phosphenschwelle ermittelt. Phosphene sind Lichtwahrnehmungen ohne einen tatsächlichen Lichtreiz. Sie treten bei der ACS und PCS sowohl bei Stimulation des Auges als auch des visuellen Cortex auf. In Humanstudien wird häufig die Phosphenschwelle oder vorher bestimmte Vielfache dieses Schwellwerts zur Bestimmung der transokularen Stromstimulationsstärke verwendet [82, 83]. Die Phosphenschwelle ist probandenindividuell und abhängig von anderen Parametern wie dem Stimu-

2 Grundlagen

lationsort, der Stimulationsfrequenz und dem Gesundheitszustand der Retina, wodurch eine hohe Variation zwischen verschiedenen Studien besteht [98–100]. Allgemein lässt sich festhalten, dass die applizierten Stromstärken der transokularen Stromstimulation unterhalb von 1,5 mA liegen [82].

2.3.3 Wirkung und Sicherheit

In Tier- und Humanstudien wurden positive Effekte der transokularen Stromstimulation auf neurologische ophthalmologische Erkrankungen, wie dem Glaukom oder der RP, nachgewiesen (für ausführliche Reviews siehe [16, 83, 94]). Als Wirkmechanismen der transokularen Stromstimulation werden neurotrophe, antiapoptotische, antiglutamatische und entzündungshemmende Prozesse diskutiert [16, 82, 94]. Aufgrund der stark variierenden Stromstimulationsparameter, Studienabläufe und untersuchten Krankheitsbilder sind Aussagen über die Wirksamkeit und den Wirkungsort der transokularen Stromstimulation nicht möglich. Bisher sind nur leichte Nebenwirkungen der transokularen Stromstimulation nachgewiesen, die über die Zeit der Stimulation oder wenige Tage nach Beendigung der Stimulation anhielten und gut behandelbar waren. Als häufigste Nebenwirkung werden leichte Kopfschmerzen, Juckreiz und eine erhöhte Hautsensitivität sowie Rötungen der Haut unterhalb der Stromstimulationselektroden angegeben [82, 101]. Des Weiteren kommt es bei transkornealen Stromstimulationselektroden zu einem erhöhten Risiko von kornealen Verletzungen (Keratitis) und Symptomen des trockenen Auges [23, 24, 37].

3 Studienkonzept

3.1 Einleitung

Ziel der Dissertation war es, die Wirkung einer transokularen DCS auf die verschiedenen retinalen Zellen zu erforschen. Zur Erreichung des Ziels wurde im ersten Teil der Dissertation ein theoretisches Studienkonzept entwickelt, um das experimentelle Vorgehen innerhalb der Arbeit vorzugeben. Aus diesem Studienkonzept wurden Anforderungen an den Mess- und Stimulationsplatz sowie das Studiendesign abgeleitet. Die theoretischen Vorüberlegungen werden im folgendem Kapitel erläutert.

3.2 Entwicklung des Studienkonzepts

Aus der Systemtheorie linearer zeitinvarianter Systeme ist bekannt, dass ein in ein System eingespeistes Eingangssignal $u(t)$ mit der Gewichtsfunktion $g(t)$ des Systems gefaltet wird und ein Ausgangssignal $y(t)$ erzeugt (Abbildung 3.1). Die Gewichtsfunktion $g(t)$ beschreibt das Übertragungsverhalten des Systems im Zeitbereich [102, 103]. Es gilt allgemein:

$$y(t) = u(t) * g(t) \tag{1}$$

Für das zu entwickelnde Studienkonzept wurde das Verfahren der experimentellen Prozessanalyse beruhend auf linearen zeitinvarianten Systemen gewählt. Die Gewichtsfunktion $g(t)$ des betrachteten Systems kann nach der experimentellen Prozessanalyse aus dem bekannten Eingangssignal $u(t)$ und dem messbaren Ausgangssignal $y(t)$ modelliert werden. Durch gezielte Variation einzelner Para-

3 Studienkonzept

meter von $u(t)$ und dem daraus resultierenden veränderten $y(t)$ können sowohl die Einflüsse einzelner Parameter untersucht als auch Optimierungen an $g(t)$ vorgenommen werden. Demzufolge wurde für das entwickelte Studienkonzept die Annahme getroffen, dass alle betrachteten Zusammenhänge linear sind und das System zeitinvariant ist [102].

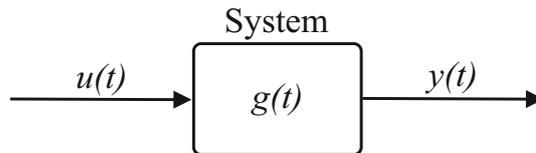


Abbildung 3.1: Strukturbild des grundlegenden systemtheoretischen Prinzips eines linearen Systems bestehend aus einem definierten Eingangssignal $u(t)$, einer Gewichtsfunktion $g(t)$ des Systems und dem entstehenden Ausgangssignal $y(t)$.

Aus dieser Theorie wurde ein Studienkonzept entwickelt, das in Abbildung 3.2 dargestellt ist und im Folgenden erläutert wird.

Im speziellen Fall der vorliegenden Dissertation ist die gesuchte Größe die Gewichtsfunktion der retinalen Zellen auf eine definierte transokulare DCS, welche durch $g(t)_{Strom}$ repräsentiert wird. Das definierte Eingangssignal $u(t)_{Strom}$ der transokularen DCS ergibt sich aus den definierten Stromstimulationsparametern und der realen technischen Umsetzung. Das Eingangssignal wird in das Auge eingespeist und führt zu einer Reaktion der retinalen Zellen. Die Gewichtsfunktion $g(t)_{Strom}$ setzt sich aus der retinalen Verarbeitung und Wirkung des Stromes in Abhängigkeit von probandenindividuellen Merkmalen wie der Hautimpedanz zusammen. Daraus ergibt sich das Ausgangssignal $y(t)_{Strom}$.

Bis heute existiert keine Messmethode, die eine alleinige Messung des Ausgangssignals $y(t)_{Strom}$ ermöglicht. Daher kann die Methode der experimentellen Prozessanalyse nicht ausschließlich auf den Konzeptstrang der transokularen DCS angewendet werden. Die Wirkung der transokularen Stromstimulation muss somit indirekt über die Modulation eines anderen messbaren Ausgangssignals ermöglicht werden.

3 Studienkonzept

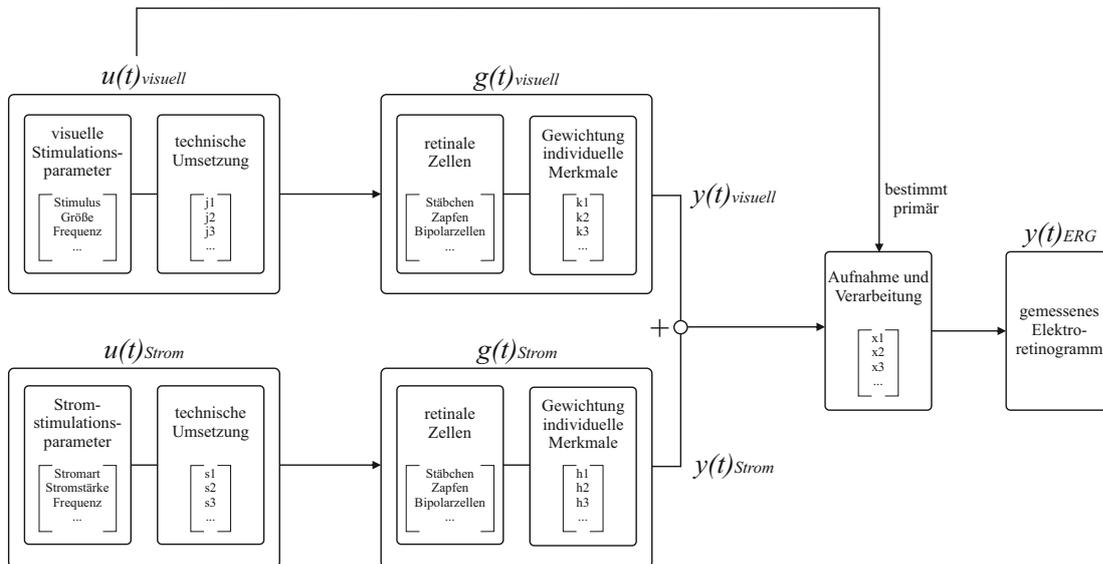


Abbildung 3.2: Entwickeltes Studienkonzept bestehend aus zwei parallel laufenden Teilsträngen. **Oberer Teilstrang:** visuellen Stimulation der Retina; **Unterer Teilstrang:** transkulare Gleichstromstimulation. Das messbare Elektroretinogramm als Ausgangssignal $y(t)_{ERG}$ ist definiert als Summe der Ausgangssignale der beiden Teilstränge $y(t)_{visuell}$ und $y(t)_{Strom}$ in Abhängigkeit von den Aufnahme- und Verarbeitungsparametern. Die Funktion $u(t)$ beschreibt das Eingangssignal (visuelle Stimulation bzw. Stromstimulation), während $g(t)$ der Gewichtsfunktion der retinalen Zellen des jeweiligen Teilstrangs entspricht.

Auf Grundlage der Studien zur Wirkung einer transkraniellen DCS auf VEPs wurde die visuelle Stimulation der Retina und damit die Ableitung eines ERGs gewählt. Hieraus leitet sich ein zweiter Konzeptstrang der visuellen Stimulation ab. Das Eingangssignal der visuellen Stimulation $u(t)_{visuell}$ ergibt sich aus den definierten visuellen Stimulationsparametern und der realen technischen Umsetzung durch das visuelle Stimulationssystem. Das daraus entstandene visuelle Stimulationsignal wird dem Auge präsentiert und führt zu einer spezifischen Verarbeitung in den retinalen Zellen. Diese Verarbeitung wird durch die Gewichtsfunktion $g(t)_{visuell}$ beschrieben und ist zusätzlich von probandenindividuellen Merkmalen abhängig. Das Ausgangssignal $y(t)_{visuell}$ ist mittels Elektroden, die am und um das Auge herum angebracht sind, durch die Aufnahme des ERGs messbar. Das real messbare ERG, das den Ausgang $y(t)_{ERG}$ darstellt, ist abhängig von technischen Aufnahme- und Verarbeitungsparametern, beispielsweise den Positionen der ERG-Elektroden oder Grenzfrequenzen der digitalen Filter. Diese haben somit

3 Studienkonzept

einen hohen Einfluss auf den Potentialverlauf des gemessenen ERGs und folglich einen hohen Einfluss auf die Interpretierbarkeit. Die Parameter werden primär durch die visuelle Stimulation bestimmt und orientieren sich an den Empfehlungen der ISCEV für die entsprechende visuelle Stimulation.

Neben der Annahme der Linearität und der Zeitinvarianz wurden für die Anwendung der experimentellen Prozessanalyse im Rahmen des Studienkonzepts zwei weitere Annahmen getroffen: Zum einen wurde vorausgesetzt, dass sich die retinalen Zellen vor Applikation der beiden Eingangssignale $u(t)_{visuell}$ und $u(t)_{Strom}$ im Ruhezustand befunden haben [102, 103]. Zum Anderen wurde angenommen, dass die beiden Teilstränge der visuellen Stimulation und der transokularen DCS unabhängig voneinander sind. Die Ausgangssignale der beiden Teilstränge $y(t)_{visuell}$ und $y(t)_{Strom}$ wirken additiv auf $y(t)_{ERG}$. Diese Annahme lässt sich anhand der unterschiedlichen Wirkmechanismen der visuellen Stimulation und der transokularen DCS erläutern.

Die visuelle Stimulation beruht auf dem Prozess der Phototransduktion, bei der ein Lichtquant von einem Photorezeptor absorbiert wird, wodurch eine Kette biochemischer Reaktionen ausgelöst wird. Die folgenden synaptischen Veränderungen der Glutamat-Ausschüttung an den chemischen Synapsen zwischen Photorezeptoren und Bipolarzellen sowie zwischen Bipolarzellen, Amakrinzellen und Ganglienzellen führen zur Verarbeitung und Weitergabe der Sehinformation [51, 56, 58].

Die DCS führt zur Veränderung von Ruhemembranpotentialen der Neuronen durch die Beeinflussung von Natrium- und Calcium-Ionenkanälen [89–91]. Dies verändert die spontane neuronale Netzwerkaktivität, sodass die Feuerrate der Neuronen beeinflusst wird [92, 93].

Alle definierten Voraussetzungen und Annahmen für das Studienkonzept sind Vereinfachungen der realen Gegebenheiten, die bei der späteren Interpretation der Studienergebnisse bedacht und diskutiert werden müssen.

Die probandenindividuellen Merkmale der Verarbeitung der visuellen Stimulation sowie die Verarbeitung und Wirkung der transokularen DCS in den retinalen Zellen werden im Studienkonzept beachtet. Durch die Auswahl einer genügend großen Anzahl von Probanden mittelt sich der Einfluss der probandenindividuellen

3 Studienkonzept

Merkmale heraus. Daher wird für die Planung einer Studie die statistische Berechnung der notwendigen Probandenanzahl (*sample size calculation*) vorgeschrieben. Da alle technischen Parameter einen Einfluss auf das gemessene Signal $y(t)_{ERG}$ haben, wurden Anforderungen an den Mess- und Stimulationsplatz erarbeitet, die in Abschnitt 3.4 vorgestellt werden. Die technischen Geräte wurden innerhalb einer Studie und, soweit möglich, über die gesamte Dissertation konstant gehalten.

In der Gesamtsystembetrachtung besteht das Konzept aus hoch-komplexen Zusammenhängen zwischen Stimulationsparametern (visuelle Stimulation und Stromstimulation), retinalen Gewichtsfunktionen (visuelle Stimulation und Stromstimulation), probandenindividuellen Merkmalen und technischen Parametern. Aufgrund der hoch-komplexen Struktur mit vielen Eingangsgrößen und einer hohen dynamischen Ordnung ist eine rein mathematische Konzeptbeschreibung nicht möglich. Im Rahmen der Dissertation wird daher eine phänomenologische Beschreibung der Wirkung einer transokularen DCS auf die retinalen Zellen angewendet.

3.3 Anwendung des Studienkonzepts

Die gesuchte Größe des entwickelten Studienkonzepts ist die Gewichtsfunktion $g(t)_{Strom}$ der retinalen Zellen im Teilstrang der transokularen DCS. Dieser Teil beschreibt, auf welche retinalen Zellen die transokulare DCS eine Wirkung hat. Da $y(t)_{Strom}$ allein nicht messbar ist, muss die Wirkung des Teilstrangs ins Verhältnis mit einer anderen Größe gebracht werden, in der vorliegende Dissertation mit $y(t)_{visuell}$.

Mit dem entwickelten Studienkonzept war es möglich, den Einfluss von $g(t)_{Strom}$ auf $y(t)_{ERG}$ durch zweimaliges Messen von $y(t)_{ERG}$ zu bestimmen. In einer ersten Baseline-Messung (ERG 1) entfiel der Teilstrang der transokularen DCS durch $u(t)_{Strom} = 0$. In einer zweiten ERG Messung (ERG 2) wurde eine definierte transokulare DCS mit $u(t)_{Strom} \neq 0$ durchgeführt. Aufgrund der Annahme, dass $y(t)_{visuell}$ konstant ist (zeitinvariant) und beide Konzeptstränge unabhängig sind,

3 Studienkonzept

konnte durch Differenzbildung der beiden Messungen $y(t)_{ERG1}$ und $y(t)_{ERG2}$ der Einfluss der transokularen DCS auf das gemessene $y(t)_{ERG2}$ ermittelt werden. Die charakteristischen Wellen des ERG sind je nach Art und Weise der visuellen Stimulation sowie der Aufnahme- und Verarbeitungsparameter auf unterschiedliche retinale Zellaktivitäten zurückzuführen. Demzufolge sind aufgrund der Erkenntnisse des Einflusses der transokularen DCS auf $y(t)_{ERG2}$ Rückschlüsse auf die beeinflussten retinalen Zellen möglich.

Im Hinblick auf das Design der Studien wurde bestimmt, den primären Fokus auf den Vergleich von ERG-Messungen zu legen, die vor und während der transokularen DCS durchgeführt wurden. Daraus folgte, dass für einen Probanden immer mindestens zwei ERG-Messungen notwendig waren: eine ERG 1-Messung ohne transokulare DCS ($u(t)_{Strom} = 0$) und eine ERG 2-Messung mit transokularer DCS ($u(t)_{Strom} \neq 0$). Die Reihenfolge beider Messungen wurde nicht randomisiert, da Nacheffekte auf der Grundlage von Studien über die Wirkung der transkranialen DCS auf VEPs nicht ausschließbar sind [41, 89, 104].

Durch Variation der visuellen Stimulationsparameter war es möglich, die im ERG sichtbaren primären retinalen Zellaktivitäten zu verändern. Durch Anpassung der visuellen Stimulationsparameter von $u(t)_{visuell}$, die ebenfalls Einfluss auf die Analyse- und Verarbeitungsparameter hatten, konnten somit andere charakteristische Potentialverläufe mit unterschiedlicher Herkunft innerhalb der retinalen Zellen erzeugt und untersucht werden. Für diese Variation waren verschiedene Studien mit einem möglichst identischen Studiendesign und den gleichen Eingangssignalen $u(t)_{Strom}$ notwendig. Hinsichtlich der Analyse- und Verarbeitungsparameter wurden die Empfehlungen der ISCEV für die verschiedenen visuellen Stimulationen und ERG-Arten berücksichtigt.

Zur Ermittlung des Einflusses eines Stromstimulationsparameters $u(t)_{Strom}$ auf die retinale Zellaktivität waren vier ERG-Messungen notwendig. Für alle definierten $u(t)_{Strom}$ war zunächst der Einfluss der durchgeführten transokularen DCS auf das gemessene ERG durch Messung und Differenzbildung der ERG 1- und ERG 2-Messung notwendig. Somit gab es für ein definiertes $u_1(t)_{Strom}$ ein $y_1(t)_{ERG1}$ und ein $y_1(t)_{ERG2}$ sowie für ein definiertes $u_2(t)_{Strom}$ ein $y_2(t)_{ERG1}$ und ein $y_2(t)_{ERG2}$.

3 Studienkonzept

Die beiden Eingangsgrößen $u_1(t)_{Strom}$ und $u_2(t)_{Strom}$ unterschieden sich lediglich in einem Parameterwert. Um den Einfluss dieses bestimmten veränderten Stromstimulationsparameters auf die retinale Zellaktivität zu ermitteln, wurde die Differenz zwischen den Differenzen $\Delta y_1(t)_{ERG1,2}$ und $\Delta y_2(t)_{ERG1,2}$ ermittelt. Diese gab den Einfluss des Stromstimulationsparameters auf die Wirkung der transokularen DCS auf die elektrophysiologische Aktivität der retinalen Zellen an. Theoretisch unterschieden sich $y_1(t)_{ERG1}$ und $y_2(t)_{ERG1}$ nicht, da beide ERG-Messungen identisch abliefen und ohne transokulare DCS aufgezeichnet wurden. Aufgrund des Ausschließens von Nacheffekten der transokularen DCS wurden die Messungen für beide $u(t)_{Strom}$ an unterschiedlichen Tagen aufgezeichnet. Daher waren zwei separate Baseline-Messungen notwendig.

3.4 Anforderungen an den Mess- und Stimulationsplatz

Um den Einfluss der technischen Umsetzung der visuellen Stimulationsparameter, der transokularen DCS Stimulationsparameter sowie der Aufnahme- und Verarbeitungsparameter der ERG-Messung möglichst konstant zu halten, wurden Anforderungen an den Mess- und Stimulationsplatz definiert.

Die bedeutendste Anforderung war die Verwendung ausschließlich nichtinvasiver Verfahren in Form von Hautelektroden. Dies galt sowohl für die ERG-Messung als auch für die transokulare DCS, um eine möglichst hohe Probandenfreundlichkeit und -sicherheit zu gewährleisten.

Der visuelle Stimulator musste möglichst frei programmierbar sein, um eine Variation der visuellen Stimulationsparameter zu ermöglichen. Die technischen Parameter der Umsetzung der definierten Stimulationsparameter mussten konstant sein. Der Biosignalverstärker war galvanisch vom Rest des Mess- und Stimulationsplatzes zu trennen. Zudem benötigte der Verstärker eine Dynamik im mV-Bereich sowie mindestens einen 24-bit Analog-Digital-Wandler, um das Offset-Artefakt der transokularen DCS zu kompensieren, ohne den Verstärker in

3 Studienkonzept

Sättigung zu treiben [105]. Des Weiteren war eine möglichst gute Auflösung im μV -Bereich zu ermöglichen, um die erwarteten kleinen Amplitudenveränderungen des Stromstimulationseffekts auflösen zu können [43]. Als ERG-Elektroden sollten Ag/AgCl-Hautelektroden aufgrund ihrer Langzeitstabilität, ihres geringen Eigenrauschens und ihrer Stabilität gegenüber Polaritätseffekten verwendet werden [106].

Der Stromstimulator musste ein möglichst geringes Eigenrauschen besitzen und im Batteriemodus betreibbar sein [107]. Des Weiteren musste zur Sicherheit der Probanden die Impedanz zwischen den Stromstimulationselektroden über die gesamte Stromstimulationszeit gemessen werden. Die Impedanzen sollte dabei über die gesamte Stimulationszeit so niedrig wie möglich ($\leq 8\text{ k}\Omega$) gehalten werden. Dies war einzuhalten, da zusätzliches Rauschen in Abhängigkeit von der Größe der Impedanz entstehen kann [107], das mit dem gesuchten Biosignal interagiert. Des Weiteren sollte der Grenzwert zur Vermeidung einer Kontakt-Dermatitis dienen [101].

Für die transokulare DCS musste ein Elektrodensetup gewählt werden, das eine sichere und homogene Stromeinspeisung in das Auge ermöglichte [107]. Ebenfalls musste eine geringe Stromdichte eingehalten werden, um die sensible Haut im Bereich des zu stimulierenden Auges sowie die am Auge liegenden Nerven zu schützen. Von besonderer Bedeutung in Bezug auf das Elektroden-setup war zudem die galvanische Trennung und die maximale Minimierung von Leistungsübertragungen zwischen den ERG-Messelektroden und den Stromstimulationselektroden.

4 Grundlegende Materialien und Methoden

4.1 Probanden

An den Studien nahmen ausschließlich gesunde Probanden teil. Die Probanden wurden dementsprechend vor Studienteilnahme zu ihrem Gesundheitszustand befragt und gaben ihr schriftliches Einverständnis zur Teilnahme. Ausschlusskriterien waren neurologische und ophthalmologische Erkrankungen, Haut- oder Herzerkrankungen, Metallimplantate im Schädelbereich, Allergien oder Übersensibilitäten der Haut und Schwangerschaft [101]. Die Studien erfolgten in Übereinstimmung mit der Erklärung von Helsinki und wurden von der Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität Jena genehmigt. Die Probanden konnten jederzeit von der Studienteilnahme ohne Angabe von Gründen zurücktreten.

4.2 Elektrodensetup

Die größte Herausforderung bei der Entwicklung des Mess- und Stimulationsplatzes auf Grundlage der in Abschnitt 3.4 aufgeführten Anforderungen stellte das Elektrodensetup für die Kombination der ERG-Hautelektroden und Stromstimulationselektroden dar. Als ERG-Elektroden wurden gesinterte Ag/AgCl-Ringelektroden (Durchmesser: 1,2 cm; EASYCAP GmbH, Herrsching, Deutschland) am unteren Augenlid (aktive Elektrode), am ipsilateralen Ohr läppchen (Referenzelektrode) und an der Stirn (Erdungselektrode) angebracht.

4 Grundlegende Materialien und Methoden



Abbildung 4.1: Entwickeltes Elektrodensetup für die simultane transokulare Gleichstromstimulation und Aufnahme eines Elektretinogramms (ERG). Als ERG-Elektroden wurden gesinterte Ag/AgCl-Ringelektroden verwendet. Die aktive Elektrode war am unteren Augenlid, die Referenzelektrode am ipsilateralen Ohrläppchen und die Erdungselektrode an der Stirn angebracht. Als Stromstimulationselektroden wurden Gummi-Grafit-Elektroden verwendet. Eine war ums Auge positioniert. Die Position der Stromstimulationsgegenelektrode unterschied sich zwischen den Studien. In dieser Beispielgrafik ist sie an der ipsilateralen Schläfe angebracht.

Bei den Stromstimulationselektroden handelte es sich um großflächige Gummi-Grafit-Elektroden. Für die Stromeinspeisung in das Auge wurde eine ringförmige Elektrode genutzt (äußerer/innerer Durchmesser: 75 mm / 30 mm, Dicke: 2 mm), die mit Ten20-Paste beschichtet war. Sie verfügte über eine abgerundete Aussparung im Bereich des unteren Augenlides, um die Positionierung der aktiven ERG-Elektrode zu ermöglichen. Als Stromstimulationsgegenelektrode wurde eine quadratische Gummi-Grafit-Elektrode verwendet (25 cm^2). Die Position dieser Elektrode war in den Studien unterschiedlich, weswegen darauf in den einzelnen Studienbeschreibungen eingegangen wird. Die Elektrode wurde in ein Schwammpad eingesetzt, das mit 10 ml Kochsalzlösung befüllt war, und mit diesem zusammen angebracht.

Das verwendete Elektrodensetup ist in Abbildung 4.1 dargestellt. Dieses stellt einen Kompromiss zwischen der erforderlichen homogenen Einspeisung des

Stroms, den nötigen niedrigen Impedanz zwischen den Stromstimulationselektroden und der geforderten Position der aktiven ERG-Elektrode am unteren Augenlid dar. Das Setup war bis auf die Position der Stromstimulationsgegenelektrode in allen Studien identisch.

4.3 Studienablauf und -design

Aus den Studien der transkraniellen DCS in Kombination mit VEP-Messungen ist bekannt, dass der Stromstimulationseffekt auf die Amplituden von der Strompolarität (kathodal oder anodal) abhängig ist [41, 43–45]. In Bezug auf das Studiendesign wurde daher entschieden, beide möglichen Stromstimulationspolaritäten zu untersuchen. Des Weiteren wurde beschlossen, in das Studiendesign eine zusätzliche Kontrollgruppe mittels einer Scheinstromstimulation (wird in der gesamten Dissertation als sham Stromstimulation bezeichnet) aufzunehmen, um Fehlinterpretationen durch natürliche oder setupbedingte Variationen auszuschließen. Somit waren in den Studien drei Stromstimulationsgruppen vorhanden: kathodale Polarität, anodale Polarität und sham Stromstimulation. Die Polarität des Stroms wurde in Bezug auf die Polarität der Stromstimulationselektrode am Auge angegeben. Während der sham Stromstimulation wurden die Probanden darauf hingewiesen, dass eine Stromstimulation begonnen hatte. Tatsächlich wurde aber keine Stromstimulationsquelle angeschaltet. Aufgrund der durchgeführten Randomisierung der Stromstimulationsgruppen, der Unwissenheit bezüglich der Zuteilung zu einer sham Stromstimulationsgruppe und der Unerfahrenheit, wie sich eine Stromstimulation anfühlt, konnten die Probanden nicht zwischen den Stromstimulationsgruppen unterscheiden.

Zu Beginn jeder Messsitzung wurde die Haut der Probanden an den ERG-Elektrodenpositionen mit Alkohol gereinigt und mit Kontaktgel vorbereitet (NupRep, Weaver and Company, Aurora, Colorado, United States). Des Weiteren wurden die Haare an der Position der Stromstimulationsgegenelektrode leicht mit Kochsalzlösung befeuchtet, um geringe Stromstimulationsimpedanzen zu ermöglichen. Im Anschluss wurden die ERG-Elektroden und die ringförmige

4 Grundlegende Materialien und Methoden

Stromstimulationselektrode, die jeweils mit leitfähiger EEG-Paste (Ten20, Weaver and Company, Aurora, Colorado, United States) beschichtet waren, an den entsprechenden Stellen platziert und mit medizinischem Klebeband fixiert. Anschließend wurde die Stromstimulationsgegenelektrode positioniert und durch ein Stirnband gesichert. Nach Vorbereitung und Anbringung aller Elektroden wurde ein Impedanztest der aktiven Elektrode und der Referenzelektrode jeweils zur Erdungselektrode durchgeführt.

Bei jedem Proband fanden basierend auf dem Studienkonzept aus Abschnitt 3.3 pro Messsitzung mindestens zwei ERG-Messungen statt. Ein ERG wurde vor (ERG 1) und ein weiteres während (ERG 2) der transokularen DCS aufgenommen. Nach Aufnahme der ERG 1-Messung wurde ein Impedanztest zwischen den Stromstimulationselektroden mittels eines im Stromstimulatorsystem integrierten Impedanztest (Teststrom: Sinus, 200 μ A Spitze zu Spitze, 20 Hz, kein Offset) durchgeführt. Um die DCS starten zu können durfte die Impedanz gemäß den Anforderungen aus Abschnitt 3.4 einen Wert von 8 k Ω nicht überschreiten. Im Anschluss wurde die transokulare DCS gestartet und der Strom linear über eine Fade-In-Zeit von 5 s aufgerampft. Eine Minute nach Beginn der Stromstimulation (ohne Fade-In-Zeit) wurde die zweite ERG-Messung durchgeführt, die innerhalb der Stromstimulationszeit beendet wurde. Nach einer Stromstimulationszeit von 5 min wurde der Strom über eine Fade-Out-Zeit von 5 s linear abgerampft. Die Fade-In- und die Fade-Out-Zeit waren zur Verminderung von Hautirritationen notwendig [108].

Das grundlegende Zeitparadigma ist in Abbildung 4.2 dargestellt. In einigen Studien der vorliegenden Dissertation wurden zudem ERG-Messungen nach Beendigung der transokularen DCS zur Überprüfung von Stromstimulationsnacheffekten durchgeführt. Auf die entsprechenden Messzeitpunkte wird in den einzelnen Studienkapiteln eingegangen.

4 Grundlegende Materialien und Methoden

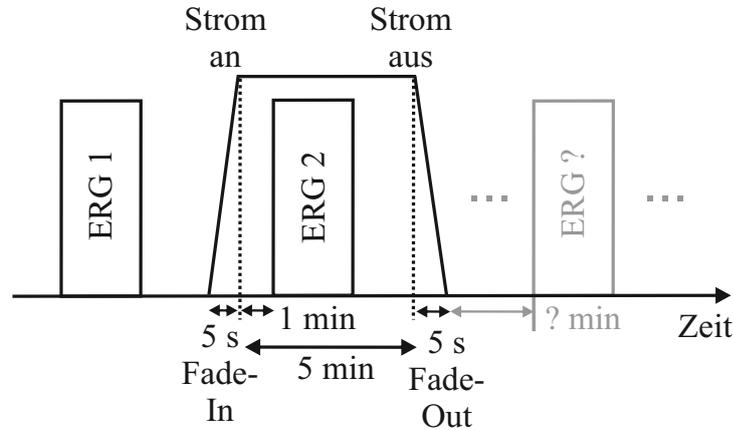


Abbildung 4.2: Grundlegendes Zeitparadigma des Studienablaufs zur Untersuchung des Einflusses der transokularen Gleichstromstimulation (DCS) auf das Elektretinogramm (ERG). Für alle Studien galt, dass minimal zwei ERG-Messungen notwendig waren, eine ERG-Messung vor (ERG 1) und eine während (ERG 2) der transokularen DCS. Nachmessungen zur Untersuchung von Nacheffekten waren möglich. Auf die genauen Zeitpunkte wird in den einzelnen Studien separat eingegangen.

4.4 Signalverarbeitung

Die gemessenen ERG-Signale wurden mit MATLAB (Version 2019a, The Mathworks, Inc., Natick, USA) verarbeitet. Ein gemessenes ERG-Rohsignal wurde vorwärts und rückwärts zur Vermeidung von Phasenverschiebungen mit einem Hochpass- (Butterworth-Filter, Ordnung: 3, halbe Leistungsfrequenz: 0,75 Hz) und Tiefpassfilter (Butterworth-Filter, Ordnung: 10, Musterumkehr-ERGs halbe Leistungsfrequenz: 35 Hz, Vollfeld-ERGs halbe Leistungsfrequenz: 70 Hz) mit unendlicher Impulsantwort (*infinite-impulse-response*, IIR) gefiltert. Je nach ERG-Art wurden Grenzwerte für die Signalamplituden festgelegt. Die Sweeps mit Amplitudenwerten über diesem Grenzwert wurden als artefaktbehaftet definiert und für die Auswertung nicht weiter berücksichtigt. Für die übrigen Sweeps wurde zu einem im Vorfeld definierten und zur ERG-Art passenden Template die Pearson-Korrelation berechnet. Die Anzahl der Sweeps, die für das Averaging verwendet werden sollte, wurde je nach ERG-Art definiert, und die entsprechende Sweeps-Anzahl mit der höchsten Korrelation zum Template wurde verwendet. Das errechnete ERG wurde nachfolgend auf null zentriert. Je nach ERG-Art wurden die charakteristischen Amplituden und Latenzen in Anlehnung an die

4 Grundlegende Materialien und Methoden

Definitionen der ISCEV bestimmt.

Für Vollfeld-ERGs wurden die OPs separat ausgewertet. Dafür wurde das ERG-Rohsignal vorwärts und rückwärts mit einem IIR-Hochpass (Butterworth-Filter, Ordnung: 3, halbe Leistungsfrequenz: 75 Hz) und -Tiefpassfilter (Butterworth-Filter, Ordnung: 10, halbe Leistungsfrequenz: 300 Hz) gefiltert. Bei der Wahl der Filter erfolgte eine Orientierung an der Studie von Gauthier et al. (2019) [72]. Zudem wurde eine Bandsperre bei 50 Hz und bei allen Harmonischen bis einschließlich 300 Hz angewendet (IIR, Butterworth-Filter, Ordnung: 2). Die Sweeps mit Amplitudenwerten $\geq 100 \mu\text{V}$ wurden als artefaktbehaftet definiert und für die Auswertung nicht weiter berücksichtigt. Für die übrigen Sweeps wurde die Pearson-Korrelation zum Mittelwert über alle übrigen Sweeps berechnet. Die 200 Sweeps mit der höchsten Korrelation wurden anschließend für das Averaging verwendet. Das berechnete Average-Signal wurden auf null zentriert. Die drei charakteristischen Wellen (P1, P2 und P3 [4]) des OPs-Signals wurden bestimmt, indem zunächst die drei Maxima detektiert wurden. Anschließend wurde jeweils das nächstliegende lokale Minimum vor dem gefundenen Maximum gesucht. Die Amplitude der jeweiligen charakteristischen Welle wurde vom Minimum zum nachfolgenden Maximum gemessen. Als Latenz wurde für jede der drei Wellen die Latenz des Maximums angegeben.

4.5 Statistische Auswertung

Die statistische Analyse wurde mit IBM Statistics (Version 25, IBM Corp., Armonk, USA) durchgeführt. Die notwendige Probandenanzahl für jede Studie wurde statistisch berechnet (*sample size calculation*; G*Power, Version 3.1.9.6, Universität Kiel). Die dafür festzulegenden Parameter beruhten auf Erfahrungswerten aus der Studie von Freitag et al. 2019 [109]. Dabei wurde angenommen, dass das Signifikanzniveau bei $\alpha = 0,05$, die Power bei 80 % ($1 - \beta = 0,8$) und die Effektstärke nach Cohen bei $d = 0,7$ lag. Des Weiteren wurde die Studie konservativ entworfen, sodass der Fall eines nichtparametrischen Tests angenommen wurde.

4 Grundlegende Materialien und Methoden

Die statistische Analyse der Messungen wurde visuell, deskriptiv und hypothesenprüfend durchgeführt. Zur visuellen Analyse wurden die Mittelwerte der gemessenen ERGs für jede Stromstimulationsgruppe und jeden ERG-Messzeitpunkt (in der gesamten Dissertation als Grand-Mean bezeichnet) berechnet und zusammen dargestellt. Des Weiteren wurden zur Datenverteilungsanalyse Boxplots in Form von violin plots für die Differenz der verschiedenen ERG-Messungen zur ERG 1-Messung für die entsprechenden charakteristischen ERG-Wellen erstellt. Zur Überprüfung der Daten auf Normalverteilung wurden der Shapiro-Wilk-Test, Quantil-Quantil-Diagramme (Q-Q-Diagramm) und Histogramme verwendet. Je nach Ergebnis der Normalverteilungsprüfung wurden die entsprechenden Hypothesentests ausgewählt. Effektstärken wurden nach Cohen berechnet [1].

5 Studie 1: Einfluss der transokularen Gleichstromstimulation auf das Musterumkehr- Elektroretinogramm

5.1 Einleitung

Die transokulare Stromstimulation stellt ein potenzielles Therapieverfahren für neurologische retinale Erkrankungen dar [16, 82, 94]. Bis heute fehlt jedoch ein Konzept für die Wirkung der transokularen Stromstimulation auf die verschiedenen retinalen Zellen. Damit einhergehend ist unbekannt, bei welchen Krankheiten die transokulare Stromstimulation potenziell wirksam sein könnte.

In Tierstudien wurden auf retinaler zellulärer Ebene Einflüsse einer transkornealen Stromstimulation auf die retinalen Ganglienzellen und Photorezeptoren nachgewiesen [17–21, 49, 50, 110–113]. In Humanstudien wurden vor allem verschiedene Krankheitsbilder auf veränderte retinale elektrophysiologische Zellaktivitäten nach längeren therapeutischen Stromstimulationstherapien als objektiv Parameter zur Beurteilung eines veränderten Sehvermögens der Patienten untersucht [23, 24, 31, 34, 36]. In klinischen Studien wurden ausschließlich Arten des Vollfeld-ERGs verwendet, weshalb primär die elektrophysiologische Aktivität der Photorezeptoren und der Bipolarzellen analysiert wurde. Elektrophysiologische Untersuchungen der Stromwirkung auf die retinalen Ganglienzellen sind nicht

5 Studie 1: Einfluss der transokularen Gleichstromstimulation auf das Musterumkehr-Elektroretinogramm

bekannt. Des Weiteren wurden nur Vergleiche vor und nach einer Stromstimulationstherapie durchgeführt. Studien, in denen während einer transokularen Stromstimulation die elektrophysiologische Aktivität retinaler Zellen gemessen wurde, sind nicht bekannt.

Aus tES-Studien in Kombination mit VEP-Messungen ist bekannt, dass eine transkranielle DCS des visuellen Cortex die charakteristischen Amplituden des VEPs polaritätsabhängig beeinflusst [41, 43–45]. Daraus ergab sich die Forschungsfrage, ob eine transokulare DCS ERG-Potentiale, die das retinale Äquivalent zu kortikalen VEPs darstellen, auf ähnliche Weise beeinflussen kann. Die Ergebnisse ermöglichen Aussagen über die elektrophysiologische Beeinflussbarkeit einzelner retinaler Zellschichten durch eine transokulare DCS.

In den Studien von Accornero et al. (2007) [45], Ding et al. (2016) [44] und Wunder et al. (2018) [43] wurden Stromstimulationseffekte auf das VEP nachgewiesen. In allen drei Studien wurde das VEP mittels eines Musterumkehrstimulus ausgelöst. Daraus ergab sich das Ziel, in der ersten Studie im Rahmen der Dissertation die Wirkung einer transokularen DCS auf das PERG zu untersuchen. Auf Grundlage der VEP-Studien in Kombination mit einer transkraniellen DCS wurde die Hypothese aufgestellt, dass ein polaritätsabhängiger Stromstimulationseffekt auf die charakteristischen Wellen des PERG, im Speziellen auf die Amplitudenwerte, auftritt.

Einige Ergebnisse dieses Kapitels der Dissertation wurden in einer Fachzeitschrift veröffentlicht [114] und auf internationalen sowie nationalen Fachkonferenzen vorgestellt [115–119].

5.2 Material und Methoden

5.2.1 Mess- und Stimulationsplatz

Der Mess- und Stimulationsplatz wurde auf Grundlage der in Abschnitt 3.4 aufgeführten Anforderungen entwickelt. Als Anzeigegerät für den visuellen

5 Studie 1: Einfluss der transokularen Gleichstromstimulation auf das Musterumkehr-Elektroretinogramm

Stimulus diente ein 52-Zoll-Display (LE52F96BD, Samsung Group, Seoul, South Korea) mit einer Auflösung von 1920x1080 Pixeln und einer Bildwiederholrate von 60 Hz. Die Ansteuerung wurde über einen digital verbundenen Stimulationsrechner ermöglicht. Die Stimuli wurden mit der Software SLMMOD generiert, die eine freie Programmierung der Stimuli in ihrer Form, ihrem Zeit- und ihrem Frequenzverhalten sowie in der chromatischen Zusammensetzung ermöglichte. Diese Software war im Rahmen einer Diplomarbeit an der Technischen Universität Ilmenau entstanden [120]. Validierungsmessungen der Einschaltcharakteristik sowie der Stimulatorkennlinie und -ausleuchtung des visuellen Stimulationsplatzes sind in der Masterarbeit von B. Solf zu finden [121].

Als visueller Stimulus wurde ein Schachbrettmuster verwendet, das zwei zueinander invertierte Zustände besaß. Die Probanden saßen in einem Abstand von 0,45 m vor dem Bildschirm, was einem Blickwinkel von 98x66 Grad entsprach und stützten den Kopf in einer höhenverstellbaren Kinn-Stirn-Stütze ab. Die Fehlsichtigkeit einiger Probanden wurde durch passende Linsen korrigiert, sodass der visuelle Stimulus scharf wahrgenommen wurde. Während der Messung schauten die Probanden auf einen roten Fixationspunkt in der Mitte des visuellen Stimulus. Zusätzlich zum visuellen Stimulus wurde ein Kreis am linken unteren Bildschirmrand mit angezeigt, der bei jedem Schachbrettmusterzustandswechsel einen von zwei Helligkeitszuständen aufwies. Dieses Signal wurde mit einer Photodiode erfasst und als Triggersignal verwendet. Der Kreis wurde dabei von einer Halterung verdeckt, sodass dieser nicht vom Probanden wahrgenommen werden konnte.

Zur Aufzeichnung des ERGs wurde ein galvanisch vom Rest des Mess- und Stimulationsplatzes getrenntes Verstärkersystem (TheraPrax, neuroCare Group GmbH, München, Deutschland) mit einem Dynamikbereich von ± 140 mV, einem 24-bit Analog-Digital-Wandler, einer Eingangsimpedanz ≥ 10 G Ω und einer Abtastrate von 1024 samples-per-second verwendet. Als Stromstimulator diente ein batteriebetriebenes, mehrkanaliges Stromstimulationssystem (DC-Stimulator MC, neuroCare Group GmbH, München, Deutschland). Die Stromstimulationsgegenelektrode wurde an der ipsilateralen Schläfe in Bezug auf das zu stimulierende Auge positioniert. Die Position wurde auf Grundlage aktueller

5 Studie 1: Einfluss der transokularen Gleichstromstimulation auf das Musterumkehr-Elektroretinogramm

Literatur gewählt [83].

5.2.2 Stimulationsparameter

Die visuelle Musterumkehrstimulation wurde mit einem sich invertierenden Schachbrettmusterstimulus mit einer Gesamtfeldgröße von $16,2^\circ$ durchgeführt. Die einzelnen Quadrate des Schachbrettmusters stimulierten jeweils ein Feld von 1° . Der Stimulus wechselte zwischen den zwei Zuständen mit 4 Umkehrungen pro Sekunde (2 Hz) bei einem Michelson-Kontrast von 99% und einer mittleren Leuchtdichte von 186 cd/m^2 (Messmittel: Konica Minolta LS-100, Konica Minolta Sensing Americas, Inc., New Jersey, United States). Insgesamt wurden 900 Schachbrettmusterwechsel durchgeführt und somit 900 Sweeps aufgezeichnet. Eine ERG Messung beanspruchte eine Messzeit von 3 min 45 s. Die visuelle Stimulation wurde binokular durchgeführt [6].

Für die Stromstimulation wurden $500 \mu\text{A}$ Gleichstrom verwendet. Dieser Parameter wurde gewählt, um über der Phosphenschwelle gesunder Probanden [109], aber gleichzeitig deutlich unter den klinisch verwendeten Stromstärken zu liegen [16, 82, 83]. Dadurch wurde eine möglichst geringe Strombelastung der Probanden sichergestellt.

5.2.3 Studienablauf

Insgesamt nahmen an der Studie 66 gesunde Probanden teil (Mittelwert \pm Standardabweichung: $26,9 \pm 6,6$ Jahre, 28 weiblich, 38 männlich). Das zugrunde liegende Studiendesign und der Studienablauf sind dem Abschnitt 4.3 zu entnehmen. Die Probanden wurden randomisiert auf die drei Stromstimulationsgruppen verteilt. In dieser Studie wurden nur die akuten Stromstimulationseffekte untersucht, wodurch jeder Proband zu einer Messsitzung erschien, in der eine ERG-Messung vor der transokularen DCS (ERG 1) und eine ERG-Messung während der transokularen DCS (ERG 2) durchgeführt wurde. Das Studiendesign am Beispiel eines Probanden ist der Abbildung 5.1 zu entnehmen.

5 Studie 1: Einfluss der transokularen Gleichstromstimulation auf das Musterumkehr-Elektroretinogramm

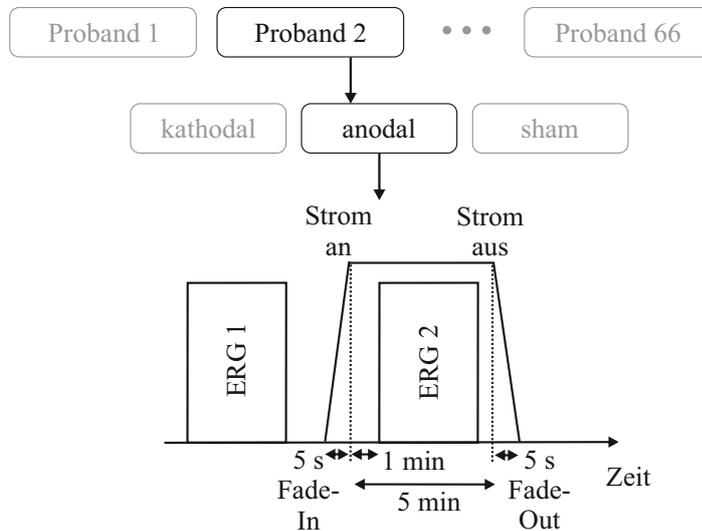


Abbildung 5.1: Studienablauf zur Untersuchung des Einflusses der transokularen Gleichstromstimulation (DCS) auf das Musterumkehr-Elektroretinogramm (*pattern-reversal electroretinogram*, PERG). Die Probanden wurden randomisiert in drei Stromstimulationsgruppen eingeteilt: kathodale Polarität, anodale Polarität und sham Stromstimulation (Scheinstromstimulation, Kontrollgruppe). Der Ablauf zwischen den Stromstimulationsgruppen war stets identisch mit einer PERG-Messung vor (ERG 1) und einer während (ERG 2) der transokularen DCS.

5.2.4 Signalverarbeitung

Die gemessenen ERG-Signale wurden gemäß Abschnitt 4.4 verarbeitet. Als Artefaktgrenzwert wurden $30 \mu\text{V}$ festgelegt. Als Template zur Korrelationsberechnung diente der Mittelwert aus 60 PERG-Messungen, die aus je 200 Sweeps ohne transokuläre DCS (aus einer Vorstudie) bestanden. Als notwendige Anzahl von Sweeps für das Averaging wurden 600 Sweeps festgelegt. Die charakteristischen Amplituden und Latenzen wurden in Anlehnung an die ISCEV [6] bestimmt. Die P50-Amplitude wurde als Maximum des ERG-Signals zwischen 25 ms und 75 ms definiert und die Amplitude vom Nullpotential ausgehend gemessen. Die N95-Amplitude wurde als Spitze-zu-Spitze-Amplitude von der P50-Amplitude zum Minimum zwischen 70 ms und 120 ms gemessen. Als Latenz wurde die implizite Zeit zwischen der P50-Welle und dem Minimum der N95-Welle angegeben. Zusätzlich wurde die N95'-Welle bestimmt, die als Minimum zwischen 70 ms und 120 ms definiert wurde und die Amplitudengröße vom Nullpotential ausgehend gemessen wurde.

5 Studie 1: Einfluss der transokularen Gleichstromstimulation auf das Musterumkehr-Elektroretinogramm

5.2.5 Statistische Auswertung

Für diese Studie lagen im Vergleich innerhalb einer Stromstimulationsgruppe verbundene und zwischen den Stromstimulationsgruppen unverbundene Stichproben vor.

Das primäre Studienziel bestand darin, zu überprüfen, ob zwischen den Amplituden der ERG 1- und der ERG 2-Messung in Bezug auf die drei charakteristischen Wellen (P50-, N95'- und N95-Welle) ein signifikanter Unterschied vorliegt. Die Hypothese der Normalverteilung der Daten wurde bestätigt. Daher wurde für die weitere statistische Analyse der Daten der t-Test für verbundene Stichproben mit zugehöriger Konfidenzintervallanalyse verwendet. Aufgrund der resultierenden neun statistischen Tests wurde der Signifikanzwert um den Faktor neun nach Bonferroni korrigiert ($p^* \leq 0,0056$).

Das sekundären Studienziel bestand darin, zu untersuchen, ob beim Vergleich der drei Stromstimulationsgruppen ein signifikanter Unterschied zwischen den Differenzen der Amplitudenwerte der ERG 1- und ERG 2-Messung hinsichtlich der charakteristischen Wellen vorliegt. Die Normalverteilung der Daten wurde angenommen. Die hypothesenprüfende Auswertung der Daten erfolgte durch die einfaktorielle Varianzanalyse (*analysis of variance*, ANOVA; nach Bonferroni-Korrektur: $p^* \leq 0,0167$).

Als Nebenziel der Studie wurde untersucht, ob ein Stromstimulationseffekt für die drei Stromstimulationsgruppen in Bezug auf die Latenzen besteht. Die Hypothese der Normalverteilung der Daten wurde abgelehnt, weshalb für die statistische Analyse der Latenzen der Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test (Wilcoxon-Test) zwischen den ERG 1- und ERG 2-Messwerten verwendet wurde (nach Bonferroni-Korrektur: $p^* \leq 0,0056$).

5.3 Ergebnisse

5.3.1 Amplitudeneffekte

Von den insgesamt 66 Probanden wiesen nach Beendigung der Studie 57 Probanden ($26,8 \pm 6,7$ Jahre, 24 weiblich, 33 männlich) auswertbare Ergebnisse bei beiden ERG-Messungen auf. Aufgrund eines Problems mit dem Triggersignal, das nicht aufgezeichnet wurde, konnten die ERG-Messungen von fünf Probanden nicht ausgewertet werden. Weiterhin konnten bei vier Probanden die charakteristischen Wellen im ERG-Signal nicht bestimmt werden. Diese Probanden wurden aus der Studiauswertung ausgeschlossen. Jede Stromstimulationsgruppe enthielt nach Beendigung der Studie 19 Probanden.

Bei keinem Probanden traten Hautirritationen unterhalb der Stromstimulations-elektroden oder schmerzhaftes Stromsensitivitäten auf. Die über alle ausgewerteten Probanden errechneten Mittelwerte mit Standardabweichung für die gemessenen charakteristischen Amplituden und Latenzen sind in Tabelle 5.1 zusammengefasst.

Abbildung 5.2 zeigt die Grand-Mean-Darstellung über alle ausgewerteten Probanden für alle Stromstimulationsgruppen und ERG-Messungen. Für die P50-Amplitude ist ein Trend zu geringeren Amplitudenwerten während der DCS in der kathodalen und der anodalen Stromstimulationsgruppe erkennbar. Jedoch ist dieser Effekt ebenfalls in der sham Stromstimulationsgruppe ersichtlich, allerdings weniger ausgeprägt als in den anderen beiden Gruppen. Hinsichtlich der N95'-Welle zeigt die anodale Stromstimulationsgruppe eine leichte Vergrößerung der Amplitude während der DCS.

In Abbildung 5.3 ist die Datenverteilung der Differenz zwischen der ERG 1- und ERG 2-Messung für die Amplitudenwerte der charakteristischen PERG-Wellen und Stromstimulationsgruppen inklusive berechneter Konfidenzintervalle zu sehen. In Tabelle 5.2 sind die statistischen Ergebnisse des primären Studienziels zusammengefasst.

5 Studie 1: Einfluss der transokularen Gleichstromstimulation auf das Musterumkehr-Elektroretinogramm

Tabelle 5.1: Mittlere Amplituden und Latenzen der Elektroretinogrammmessungen zu den Zeitpunkten vor (ERG 1) und während (ERG 2) der transokularen Gleichstromstimulation in den drei Stromstimulationsgruppen (kathodale Polarität, anodale Polarität und sham Stromstimulation).

Gruppe	Messung	P50-Welle		N95'-Welle		N95-Welle	
		Amplitude (μV)	Latenz (ms)	Amplitude (μV)	Latenz (ms)	Amplitude (μV)	Implizite Zeit (ms)
kathodal	ERG 1	1,84 \pm 0,71	33,56 \pm 3,78	-2,46 \pm 1,00	82,39 \pm 7,61	4,30 \pm 1,14	48,83 \pm 6,31
	ERG 2	1,53 \pm 0,61	33,51 \pm 4,13	-2,53 \pm 0,98	84,34 \pm 10,08	4,06 \pm 1,18	50,83 \pm 10,79
anodal	ERG 1	1,80 \pm 0,69	33,56 \pm 3,46	-2,69 \pm 0,72	85,58 \pm 6,79	4,49 \pm 1,18	52,01 \pm 6,64
	ERG 2	1,30 \pm 0,55	31,92 \pm 4,44	-2,95 \pm 0,88	84,04 \pm 6,93	4,25 \pm 1,05	52,12 \pm 6,19
sham	ERG 1	1,88 \pm 0,82	33,66 \pm 3,40	-2,94 \pm 0,64	83,01 \pm 6,36	4,81 \pm 0,89	49,35 \pm 5,64
	ERG 2	1,73 \pm 0,60	33,49 \pm 3,77	-3,05 \pm 0,74	84,50 \pm 6,64	4,78 \pm 0,78	51,01 \pm 5,77

Kathodale Stromstimulationsgruppe

Die kathodale Stromstimulationsgruppe zeigt in der Datenverteilungsdarstellung der Differenz zwischen der ERG 1- und ERG 2-Messung eine Verringerung der P50-Amplitude. Im Mittel verringerte sich diese um $-0,31 \pm 0,34 \mu\text{V}$. Der t-Test für verbundene Stichproben und das berechnete Konfidenzintervall ergaben einen signifikanten Unterschied zwischen der ERG 1- und ERG 2-Messung für die P50-Amplitude ($p = 0,001^*$, [untere Grenze; obere Grenze] = $[-0,55 \mu\text{V}; -0,06 \mu\text{V}]^*$). Die Effektstärke liegt bei $d = 0,91$.

Die N95'-Amplitude erfuhr im Mittel eine Erhöhung beim Vergleich der ERG 1- mit der ERG 2-Messung um $0,07 \pm 0,43 \mu\text{V}$. Der t-Test für verbundene Stichproben und das zugehörige Konfidenzintervall ergaben keinen signifikanten Unterschied zwischen den Messungen.

Für die N95-Amplitude wurde im Mittel eine Verringerung der ERG 2-Messung im Vergleich zur ERG 1-Messung um $-0,24 \pm 0,42 \mu\text{V}$ gemessen. Der t-Test für verbundene Stichproben und das zugehörige Konfidenzintervall wiesen keinen

5 Studie 1: Einfluss der transokularen Gleichstromstimulation auf das Musterumkehr-Elektroretinogramm

signifikanten Unterschied zwischen den Messungen nach.

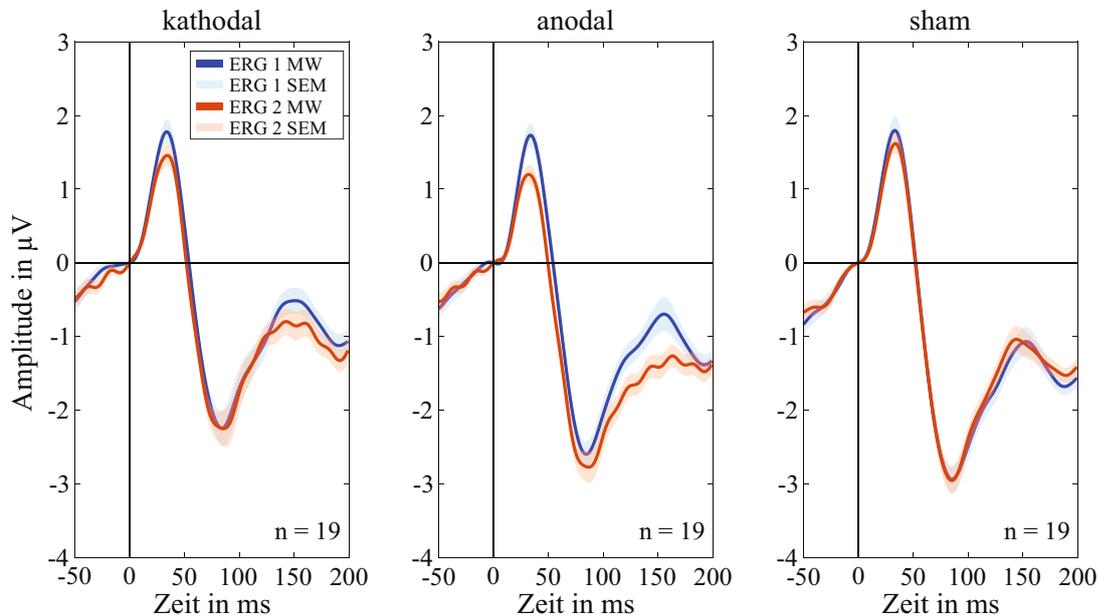


Abbildung 5.2: Über alle Probanden gemittelte Elektroretinogrammmessungen vor (ERG 1) und während (ERG 2) der transokularen Gleichstromstimulation in den drei Stromstimulationsgruppen (kathodale Polarität, anodale Polarität und sham Stromstimulation). *MW*: Mittelwert, *SEM*: Standardfehler des Mittelwerts.

Anodale Stromstimulationsgruppe

Die anodale Stromstimulationsgruppe zeigt sowohl in der Grand-Mean-Darstellung, als auch in der Datenverteilung eine Reduktion der P50-Amplitude während der transokularen DCS. Die N95'-Amplitude ist leicht erhöht, während die N95-Amplitude aufgrund des größeren Effekts in der P50-Amplitude leicht verringert ist.

Im Mittel verringerte sich die P50-Amplitude von der ERG 1- zur ERG 2-Messung um $-0,50 \pm 0,44 \mu\text{V}$. Der t-Test für verbundene Stichproben und das zugehörige Konfidenzintervall ergaben einen signifikanten Stromstimulationseffekt für die P50-Amplitude ($p = 0,000^*$, $[-0,82 \mu\text{V}; -0,19 \mu\text{V}]^*$). Die Effektstärke beträgt $d = 1,14$.

Die N95'-Amplitude resultierte im Mittel in einer Erhöhung der ERG 2-Messung um $0,13 \pm 0,73 \mu\text{V}$. Der t-Test für verbundene Stichproben und das zugehörige Konfidenzintervall wiesen keinen signifikanten Unterschied zwischen beiden

5 Studie 1: Einfluss der transokularen Gleichstromstimulation auf das Musterumkehr-Elektroretinogramm

ERG-Messungen nach.

Die N95-Amplitude als Summe aus der P50- und N95'-Amplitude zeigte im Mittel eine Verringerung von $-0,24 \pm 0,62 \mu\text{V}$ von der ERG 1- zur ERG 2-Messung. Der t-Test für verbundene Stichproben und das zugehörige Konfidenzintervall wiesen keinen signifikanten Stromstimulationseffekt nach.

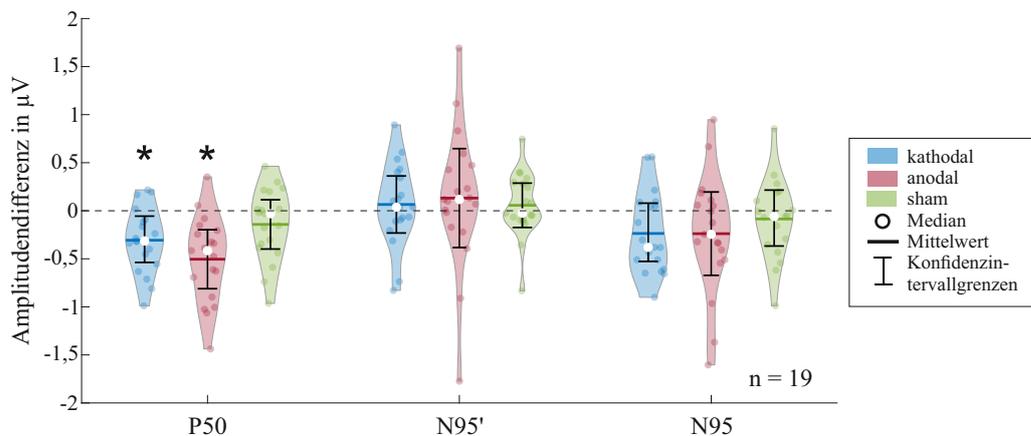


Abbildung 5.3: Violin plots zur Darstellung der Datenverteilung inklusive der Konfidenzintervalle (t-Test für verbundene Stichproben, $p^* \leq 0,0056$). Die Datenverteilung zeigt die Differenz zwischen Musterumkehr-Elektroretinogrammen, die vor (ERG 1) und während (ERG 2) der transokularen Gleichstromstimulation aufgezeichnet wurden, hinsichtlich der charakteristischen ERG-Amplituden (P50, N95' und N95) in den drei Stromstimulationsgruppen (kathodale Polarität, anodale Polarität und sham Stromstimulation). Signifikante Unterschiede zwischen der ERG 1- und der ERG 2-Messung sind mit * gekennzeichnet.

sham Stromstimulationsgruppe

Die ERG 2-Messung der sham Stromstimulationsgruppe zeigt in der Grand-Mean-Darstellung eine leichte Verringerung der P50-Amplitude im Vergleich zur ERG 1-Messung. In der Datenverteilungsdarstellung ist jedoch erkennbar, dass der Median nah an der Nulldifferenz liegt. Im Mittel zeigt die P50-Amplitude eine Veränderung der ERG 2-Messung im Vergleich zur ERG 1-Messung um $-0,14 \pm 0,37 \mu\text{V}$. Die N95'-Amplitude änderte sich um $0,06 \pm 0,34 \mu\text{V}$. Die N95-Amplitude erfuhr eine Veränderung um $-0,09 \pm 0,41 \mu\text{V}$. Statistisch wurde kein signifikanter Unterschied zwischen den ERG-Messungen für alle charakteristischen Amplituden nachgewiesen.

5 Studie 1: Einfluss der transokularen Gleichstromstimulation auf das Musterumkehr-Elektroretinogramm

Tabelle 5.2: Statistische Ergebnisse (t-Tests für verbundene Stichproben, $p^* \leq 0,0056$) der untersuchten Unterschiede zwischen aufgezeichneten Elektroretinogrammen (ERG) vor (ERG 1) und während (ERG 2) der transokulare Gleichstromstimulation in den drei Stromstimulationsgruppen (kathodale Polarität, anodale Polarität und sham Stromstimulation) hinsichtlich der charakteristischen ERG-Wellen (P50, N95' und N95). *Sdw*: Standardabweichung.

Gruppe	Welle	Mittelwert \pm Sdw (μ V)	Konfidenzintervall		p-Wert
			untere Grenze	obere Grenze	
kathodal	P50	-0,31 \pm 0,34	-0,55	-0,06*	0,001*
	N95'	0,07 \pm 0,43	-0,24	0,37	0,483
	N95	-0,24 \pm 0,42	-0,54	0,07	0,024
anodal	P50	-0,50 \pm 0,44	-0,82	-0,19*	0,000*
	N95'	0,13 \pm 0,73	-0,40	0,66	0,060
	N95	-0,24 \pm 0,62	-0,69	0,21	0,109
sham	P50	-0,14 \pm 0,37	-0,44	0,13	0,113
	N95'	0,06 \pm 0,34	-0,19	0,30	0,473
	N95	-0,09 \pm 0,41	-0,38	0,21	0,371

Vergleich zwischen den Stromstimulationsgruppe

Das sekundären Studienziel bestand darin, zu untersuchen, ob ein signifikanter Unterschied zwischen den Amplitudenwerten der Stromstimulationsgruppen vorliegt. Hierfür wurde die Differenz der Amplitudenwerte der ERG 1- und der ERG 2-Messung zwischen den Stromstimulationsgruppen hinsichtlich der drei charakteristischen PERG-Wellen (P50-, N95'- und N95-Amplitude) verglichen. Die ANOVAs wiesen keinen signifikanten Unterschied zwischen den Stromstimulationsgruppen nach ($p_{P50} = 0,020$, $p_{N95'} = 0,935$, $p_{N95} = 0,549$).

5.3.2 Latenzeffekte

Das Nebenziel der Studie war die Untersuchung eines Stromstimulationseffekts auf die Latenzen. In der Grand-Mean-Darstellung der Ergebnisse (Abbildung 5.2) sind keine eindeutigen Unterschiede zwischen den Latenzen erkennbar. Wie

5 Studie 1: Einfluss der transokularen Gleichstromstimulation auf das Musterumkehr-Elektroretinogramm

Tabelle 5.1 zeigt, sind leichte Unterschiede zwischen den Latenz-Mittelwerten der ERG 1- und ERG 2-Messung zu sehen. Diese gehen jedoch mit großen Standardabweichungen einher. Mit dem Wilcoxon-Test wurde kein signifikanter Unterschied beim Vergleich der Latenzen für alle charakteristischen Wellen und Stromstimulationsgruppen nachgewiesen. Die berechneten p-Werte sind der Tabelle 5.3 zu entnehmen.

Tabelle 5.3: Berechnete p-Werte des Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Tests ($p^* \leq 0,0056$) zur Untersuchung, ob zwischen den Latenzwerten der Musterumkehr-Elektroretinogramme (*pattern-reversal electroretinogram*, PERG), die vor und während der transokularen Gleichstromstimulation gemessen wurden, ein signifikanter Unterschied in Bezug auf die charakteristischen PERG-Wellen (P50, N95' und N95) innerhalb der Stromstimulationsgruppen (kathodale Polarität, anodale Polarität und sham Stromstimulation) vorliegt.

	kathodal			anodal			sham		
	P50	N95'	N95	P50	N95'	N95	P50	N95'	N95
p-Wert	0,932	0,810	0,979	0,062	0,758	0,355	0,861	0,101	0,184

5.4 Diskussion

Das Ziel der in diesem Kapitel vorgestellten Studie war, den Einfluss der transokularen DCS auf das PERG zu untersuchen. Auf Grundlage der Literatur war die Hypothese formuliert worden, dass es zu polaritätsabhängigen Veränderungen, speziell bei den Amplitudenwerten der charakteristischen PERG-Wellen, während der transokularen DCS kommt. Wie erwartet wurden signifikante Amplitudenveränderungen während der transokularen DCS im Vergleich zu vor der Stimulation nachgewiesen. Die P50-Amplitude verringerte sich signifikant für die anodale und die kathodale Stromstimulationsgruppe. Für die N95'- und die N95-Amplitude sowie zwischen den Stromstimulationsgruppen wurden keine signifikanten Unterschiede beobachtet. Ebenso wurde kein signifikanter Stromstimulationseffekt innerhalb der sham Stromstimulationsgruppe ermittelt. Für alle Latenzen wurde ebenfalls kein signifikanter Stromstimulationseffekt gefunden.

5 Studie 1: Einfluss der transokularen Gleichstromstimulation auf das Musterumkehr-Elektroretinogramm

Aus Studien der transkraniellen DCS in Kombination mit VEP-Messungen ist bekannt, dass eine kathodale transkranielle DCS zu einer Verringerung der N75- [41] bzw. P100-Amplitude [43,44] des VEPs führt. In der hier durchgeführten Studie wurde eine Verringerung der P50-Amplitude während der kathodalen transokularen DCS nachgewiesen. Für die entgegengesetzte Polarität wurde, wie aus Studien bekannt ist, in denen transkranielle DCS und VEP-Messungen kombiniert wurden, ein invertierter Amplitudeneffekt erwartet [41, 44, 45]. Dieser konnte in der hier durchgeführten Studie nicht beobachtet werden. Die anodale transokulare DCS führte ebenfalls zu einer signifikanten Amplitudenreduktion der P50-Amplitude während der DCS im Vergleich zu vor der Stromstimulation.

Aus diesem Ergebnis lässt sich schlussfolgern, dass die retinalen Zellen durch eine transokulare DCS allgemein in ihrer elektrophysiologischen Aktivität beeinflussbar sind. Somit gilt, dass die gesuchte Gewichtsfunktion $g(t)_{Strom} \neq 0$ für $u(t)_{Strom} \neq 0$ ist. Der gefundene Effekt ist jedoch entgegen der aufgestellten Hypothese polaritätsunabhängig. In Bezug auf die Latenzen wurde kein Stromstimulationseffekt nachgewiesen. Dies stimmt mit den Studien aus der Literatur überein, in denen transkranielle DCS und VEP-Messungen kombiniert wurden [41, 43–45].

Für den nachgewiesenen polaritätsunabhängigen Stromstimulationseffekt wurden Theorien bezüglich der möglichen Gewichtsfunktion $g(t)_{Strom}$ aufgestellt, die die gemessenen Ausgangssignale $y(t)_{ERG2}$ erklären. Diese werden im Folgenden detailliert erläutert.

Allgemein gilt, dass das PERG primär als elektrophysiologische Aktivität der retinalen Ganglienzellen interpretiert wird [63]. Demzufolge ist eine mögliche Erklärung des nachgewiesenen Effekts eine hemmende Wirkung der transokularen DCS auf die retinalen Ganglienzellen für beide Strompolaritäten.

Aus der Literatur ist bekannt, dass die P50-Amplitude auf exzitatorische und inhibitorische postsynaptische Potentiale zurückzuführen ist, die zu den retinalen Ganglienzellen gelangen. Allerdings haben zu einem geringen Anteil auch *pre-spiking* Aktivitäten der Pre-Ganglienzellen einen Einfluss auf die P50-Amplitude [79]. Die N95-Amplitude besteht hingegen primär aus Output-Aktivität der Ganglienzellen [79]. Da der Stromstimulationseffekt nur in Hinblick auf die P50- und nicht auf die N95- bzw. N95'-Amplituden nachgewiesen wurde, ist eine weitere mögliche Erklärung des Stromstimulationseffekts, dass die DCS nicht die

5 Studie 1: Einfluss der transokularen Gleichstromstimulation auf das Musterumkehr-Elektroretinogramm

Ganglienzellen, sondern die Pre-Ganglienzellen beeinflusst. Ob die Verringerung der P50-Amplitude durch eine verminderte Aktivität der Ganglienzellen, der Pre-Ganglienzellen oder eine Kombination beider Zellarten zustande kommt, lässt sich anhand der durchgeführten Studie nicht beurteilen. In fortführenden Studien ist daher die Untersuchung der Beeinflussbarkeit von Pre-Ganglienzellen von Interesse.

Eine weitere Theorie über die Herkunft des nachgewiesenen Stromstimulationseffekts bezieht sich auf die Verarbeitung des visuellen Musterumkehrstimulus. Ein helles Quadrat löst lokal eine On-Antwort aus, während das benachbarte schwarze Quadrat eine Off-Antwort generiert. Im PERG mitteln sich die linearen Anteile beider Antworten heraus und die nicht linearen Anteile der On- und Off-Antworten bleiben bestehen [79]. Eine mögliche Erklärung des Stromstimulationseffekts und der Polaritätsunabhängigkeit ist, dass die transokulare DCS bei unterschiedlichen Polaritäten einen unterschiedlichen Einfluss auf die On- und Off-Ganglienzellen hat, sodass ihre Differenz immer zu einer Verringerung der P50-Amplitude führt. Ein Beispiel wäre, dass die kathodale transokulare DCS nur die elektrophysiologische Aktivität der On-Zellen verringert und die anodische Polarität nur die elektrophysiologische Aktivität der Off-Zellen erhöht. Obwohl die Stromstimulation in diesem Beispiel einen polaritätsabhängigen Einfluss hat, führt die Verrechnung innerhalb des PERG in beiden Fällen zu einer verringerten Amplitude. In diesem Fall wäre die Polaritätsunabhängigkeit des Stromstimulationseffekts rein methodenbedingt. Eine separate Betrachtung der On- und Off-Ganglienzellen in nachfolgenden Studien ist daher von Interesse.

Neben den untersuchten Wellen ist in der Grand-Mean-Darstellung (Abbildung 5.2) eine weitere Welle mit einer Latenz von etwa 150 ms in allen drei Stromstimulationsgruppen zu erkennen. Bei der anodalen und der kathodalen transokularen Stromstimulationsgruppe ist in Bezug auf diese Welle ein deutlicher Unterschied zwischen der ERG 1- und ERG 2-Messung sichtbar. Gemessen vom negativen Peak der N95-Welle erreicht die Welle für beide Polaritäten geringere Amplitudenwerte während der Stromstimulation als davor. Bei der sham Stromstimulation sind ähnliche Amplitudenwerte für die ERG 1- und ERG 2-Messung erkennbar. Die sichtbare Welle wird in der Literatur für das PERG

5 Studie 1: Einfluss der transokularen Gleichstromstimulation auf das Musterumkehr-Elektroretinogramm

nicht beschrieben, weshalb keine Aussagen zur Herkunft dieser Welle möglich sind.

Die Studie ist limitiert durch die Probandenanzahl, den entwickelten Mess- und Stimulationsplatz sowie die Stimulationsparameter. Für den nachgewiesenen signifikanten Stromstimulationseffekt ergab sich eine Power von 97,6% für die anodale und von 85,7% für die kathodale Stromstimulationsgruppe. Um kleinere Effektstärken nachweisen zu können, ist eine größere Anzahl von Probanden notwendig. Aufgrund der hohen Power und der hohen Effektstärken (siehe Unterabschnitt 5.3.1) für beide Strompolaritäten kann angenommen werden, dass der Stromstimulationseffekt höchstwahrscheinlich ein wahrer Stromstimulationseffekt ist.

Der verwendete Mess- und Stimulationsplatz und insbesondere das verwendete Elektrodensetup waren ein Kompromiss zwischen den Anforderungen an die Probandenfreundlichkeit, an die ERG-Messung und an die transokulare DCS. Zunächst ist festzuhalten, dass die ERG-Messungen von neun Probanden nicht ausgewertet werden konnten. Von diesen Messungen konnten fünf aufgrund eines fehlerhaften Triggersignals nicht ausgewertet werden. Bei vier weiteren Probanden konnten keine charakteristischen PERG-Wellen detektiert werden. Dies könnte durch einen schlechten ERG-Elektrodenkontakt entstanden sein. Die ERG-Elektrodenimpedanzen wurden nur einmal nach Anlegung aller Elektroden gemessen. Verschlechterungen der Impedanzwerte durch beispielsweise Kontaktverlust über die Zeit einer Messsitzung sind nicht auszuschließen.

Aufgrund der Nutzung von Hautelektroden als Stromstimulationselektroden konnten typische Nebenwirkungen wie trockene Augen oder korneale Epithelverletzungen vermieden werden [83]. Aus der Literatur ist jedoch bekannt, dass ERGs, die mit Hautelektroden aufgezeichnet werden, geringere Amplitudenwerte aufweisen als ERGs, die mit kornealen Elektroden aufgenommen werden [6].

Die Ringelektrode, die um das Auge herum für die Einspeisung des Gleichstroms angebracht war, hatte eine Aussparung im Bereich des unteren Augenlids, um die Positionierung der aktiven ERG-Elektrode am unteren Augenlid zu ermöglichen. Dadurch wurde der Strom nicht homogen in das Auge eingespeist. Die Wirkung der DCS hängt von der Stromrichtung und dem generierten elektrischen Feld

5 Studie 1: Einfluss der transokularen Gleichstromstimulation auf das Musterumkehr-Elektroretinogramm

und somit stark von den gewählten Elektrodenformen und Elektrodenpositionen ab [88]. Eine homogenere Stromeinspeisung durch ein anderes Elektrodensetup als das im Rahmen der hier vorgestellten Studie kann somit andere Ergebnisse liefern. Ein alternatives Elektrodensetup mit einer homogenen Stromeinspeisung [122] wurde beispielsweise im Rahmen einer Masterarbeit von M. C. Blum (2018) [7] verwendet. Hierbei wurden sechs Gold-Napfelektroden (Durchmesser: 1,2 cm) um das Auge angeordnet, und die zu applizierende Stromstärke wurde gleichmäßig aufgeteilt. Die Stromstimulationsgegenelektrode und deren Position war identisch zu der hier vorgestellten Studie. Beim Elektrodensetup von Blum zeigten sich jedoch hohe Elektrodenimpedanzen zwischen 30 k Ω und 50 k Ω (aus Messprotokollen, einsehbar im Anhang in Tabelle A.1). Da dies der Forderung nach einer möglichst geringen Elektrodenimpedanz widerspricht, wurde das Setup von Blum im Rahmen der Dissertation nicht verwendet.

In dem hier vorgestellten Elektrodensetup für die transokulare DCS wurde die Stromstimulationsgegenelektrode an der ipsilateralen Schläfe angebracht. Diese Anordnung wurde auf Grundlage der Literatur gewählt [83]. Nach einer Simulationsstudie von Hunold et al. (2015) [123] erzeugen Stromstimulationselektroden, die weiter auseinanderliegen und eine der beiden Stromstimulationselektrode auf der Scheitellinie angebracht ist, einen homogenen Stromfluss durch die Retina (Vergleich Fp2–infraorbital und Fp2–Cz). Demgemäß lässt sich die Hypothese aufstellen, dass eine Umpositionierung der Stromstimulationsgegenelektrode von der ipsilateralen Schläfe zu beispielsweise Cz oder zum visuellen Cortex (Position Oz) einen homogenen Stromfluss durch die Retina erzeugt. Dadurch können andere Ergebnisse entstehen [124].

Die Studie ist zudem limitiert durch die Stromstimulationsparameter wie Stromstärke und Stimulationsdauer. Diese haben einen erheblichen Einfluss auf die Wirkung einer DCS [124]. Um eine geringe Strombelastung für die Probanden zu gewährleisten, wurde über 5 min mit einer Stromstärke von 500 μ A stimuliert. Andere Eingangsparameter für $u(t)_{Strom}$ wie eine höhere Stromstärke oder eine längere Stimulationsdauer können andere Effekte erzeugen [124].

Bei keinem der 66 gemessenen Probanden traten Hautrötungen oder anhaltende Nebenwirkungen auf. Lediglich von Kribbeln und leichtem Juckreiz unterhalb der

5 Studie 1: Einfluss der transokularen Gleichstromstimulation auf das Musterumkehr-Elektroretinogramm

Stromstimulationselektroden wurde berichtet. Daher wurde die Forderung nach geringer Probandenbelastung nicht verworfen.

Aus Studien, in denen die transkranielle DCS mit VEP-Messungen kombiniert wurde, ist bekannt, dass Nacheffekte der Stromstimulation auftreten können [41, 43–45]. Der Fokus der hier vorgestellten Studie lag nach dem entwickelten Studienkonzept auf dem Nachweis akuter Stromstimulationseffekte. Dabei sollte eine möglichst geringe Probandenbelastung erreicht werden, weswegen eine geringe Stromstimulationsdauer von 5 min gewählt wurde. Aussagen in Bezug auf Nacheffekte der transokularen DCS sind aufgrund der fehlenden Messungen nicht möglich.

Aus Studien von steady-state PERG-Ableitungen ist bekannt, dass es zu einem Habituationseffekt (Amplitudenabnahme um bis zu 30 %) während der visuellen steady-state Musterumkehrstimulation kommt [125]. Diese Habituation, sollte sie in den hier vorgestellten transienten PERG-Messungen aufgetreten sein, könnte die Amplitudenverminderung innerhalb der sham Stromstimulationsgruppe erklären. Die natürliche Habituation stellt in zwei möglichen Fällen ein Problem für die Vergleichbarkeit zwischen den durchgeführten ERG 1- und ERG 2-Messungen dar: zum einen, wenn die Average-Signale der untersuchten Stromstimulationsgruppen aus Sweeps zu deutlich unterschiedlichen Zeitpunkten zusammengesetzt waren, sodass die natürliche Habituation den verringerten Amplitudeneffekt erklären würde, und zum anderen, wenn die Habituation nach der ersten ERG-Messung einen Einfluss auf die zweite ERG-Messung gehabt hätte. Im entwickelten Studienkonzept, bei dem von Zeitinvarianz ausgegangen wurde (siehe Abschnitt 3.2), wurde dieser Fall nicht beachtet. Zur Diskussion und Absicherung der Ergebnisse wurden beide genannten Fälle detailliert betrachtet. Zur Untersuchung des ersten Falls wurde die Verwendungshäufigkeit der einzelnen Sweeps, die über die Zeit aufgenommen wurden, für die verschiedenen Stromstimulationsgruppen und ERG-Messungen aufgetragen (siehe Abbildung 5.4). Des Weiteren wurden anhand dieser Verteilungen die statistischen Schiefen γ berechnet, die der Abbildung 5.4 zu entnehmen sind. Die Schiefe gibt Informationen, ob in einer Hälfte des Histogramms mehr Daten vorkommen als in der anderen. Ein Wert von null entspricht einer homogenen Zusammensetzung der Sweeps.

5 Studie 1: Einfluss der transokularen Gleichstromstimulation auf das Musterumkehr-Elektroretinogramm

Wie in Abbildung 5.4 erkennbar ist, sind visuell keine Unterschiede in der Sweep-Zusammensetzung zwischen den Stromstimulationsgruppen und ERG-Messungen festzustellen. Die berechneten Schiefen γ der Verteilungen liegen für alle Fälle in einem ähnlich niedrigen Bereich mit einem Mittelwert \pm Standardabweichung von $\bar{\gamma} = -0,15 \pm 0,05$. Daraus folgt, dass der Habituationseffekt in allen Gruppen und bei allen ERG-Messungen gleichermaßen vorhanden war.

Für den zweiten Fall wurde überprüft, ob sich die Amplituden der ersten 200 Sweeps zwischen der ERG 1- und der ERG 2-Messung unterschieden. Nach Analyse der Datenverteilung wurden keine Unterschiede zwischen den Messungen festgestellt. Daraus lässt sich schlussfolgern, dass die natürliche Habituation in allen durchgeführten ERG-Messungen gleichermaßen vorhanden war.

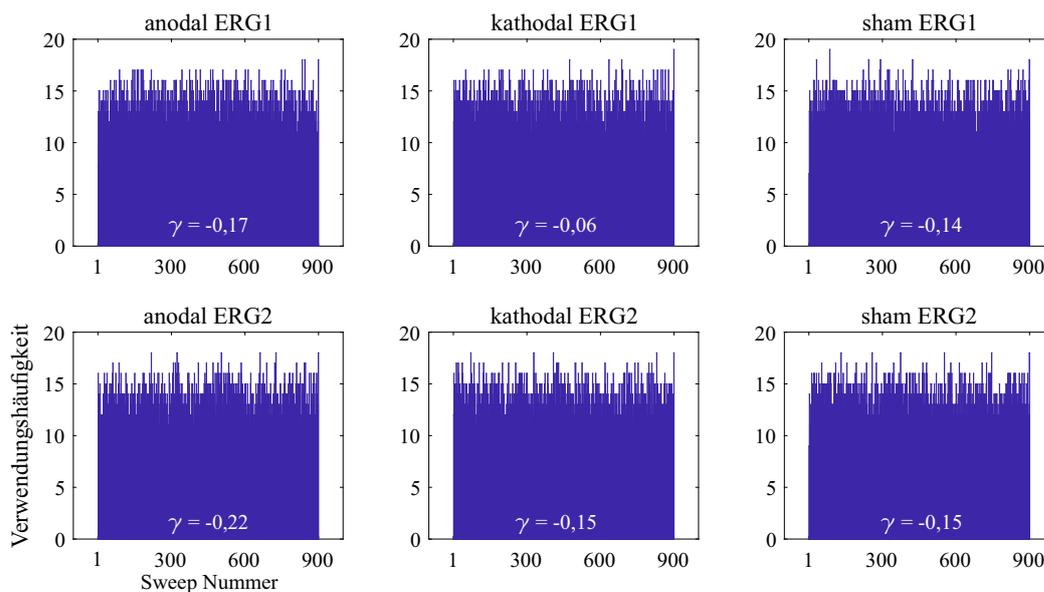


Abbildung 5.4: Häufigkeitsverteilung ($n = 19$ für alle Diagramme) der verwendeten Sweeps zur Auswertung der gemessenen Musterumkehr-Elektroretinogramme vor (ERG 1) und während (ERG 2) der transokularen Gleichstromstimulation in den drei Stromstimulationsgruppen (kathodale Polarität, anodale Polarität und sham Stromstimulation). Der Wert γ gibt die Schiefe der jeweiligen Verteilung an.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass ein signifikanter Stromstimulationseinfluss der kathodalen und der anodalen transokularen DCS auf das PERG nachgewiesen wurde. Somit ist festzuhalten, dass für die gesuchte Gewichtsfunktion des Teilstrangs der transokularen DCS $g(t)_{Strom} \neq 0$ bei $u(t)_{Strom} \neq 0$ gilt. Ob

5 Studie 1: Einfluss der transokularen Gleichstromstimulation auf das Musterumkehr-Elektroretinogramm

der Stromstimulationseffekt durch die Beeinflussung von Ganglienzellen oder Pre-Ganglienzellen entstanden ist, konnte anhand der Studienergebnisse nicht bestimmt werden. Für weiterführende Studien sind Optimierungen des Mess- und Stimulationsplatzes sowie Untersuchungen der Wirkung der transokularen DCS auf die Pre-Ganglienzellen und die On- und Off-Ganglienzellen von Interesse.

6 Studie 2: Einfluss der transokularen Gleichstromstimulation auf das Vollfeld-Elektroretinogramm

6.1 Einleitung

In der vorangegangenen PERG-Studie wurde ein signifikanter Stromstimulationseffekt auf die P50-Amplitude des PERG sowohl während der anodalen als auch während der kathodalen transokularen DCS nachgewiesen. Daraus ließ sich ableiten, dass in Bezug auf das Studienkonzept bei $u(t)_{Strom} \neq 0$ auch $g(t)_{Strom} \neq 0$ ist. Anhand des Studienergebnisses konnte jedoch nicht geschlussfolgert werden, ob der nachgewiesene Stromstimulationseffekt durch die Beeinflussung von Ganglienzellen oder Pre-Ganglienzellen entstanden war. Zur tiefgreifenderen Interpretation der Ergebnisse waren somit Informationen über die Beeinflussbarkeit der Pre-Ganglienzellen notwendig.

Daraus ergab sich das Ziel der nachfolgend entwickelten und durchgeführten Studie, den Einfluss einer transokularen DCS auf das helladaptierte Vollfeld-ERG zu erforschen. Dieses ERG repräsentiert primär die elektrophysiologische Aktivität von Pre-Ganglienzellen, speziell der Zapfen, Bipolarzellen und Amakrinzellen. Da das Vollfeld-ERG andere visuelle Stromstimulationsparameter $u(t)_{visuell}$ benötigt als das PERG, war eine Anpassung des Mess- und Stimulationsplatz notwendig.

In Tierstudien wurden signifikante Einflüsse der transokularen Stromstimulation sowohl auf die Ganglienzellen als auch auf die Photorezeptoren nachgewie-

6 Studie 2: Einfluss der transokularen Gleichstromstimulation auf das Vollfeld-Elektroretinogramm

sen [17–21, 49, 50, 110–113]. Im Zusammenhang mit der vorangegangenen PERG-Studie wurde für die in diesem Kapitel vorgestellte Vollfeld-ERG-Studie daher die Hypothese aufgestellt, dass die transokulare DCS einen polaritätsunabhängigen Stromstimulationseffekt auf die charakteristischen Wellen und die OPs des helladaptierten Vollfeld-ERG hat.

Einige Ergebnisse dieses Kapitels der Dissertation wurden in einer Fachzeitschrift veröffentlicht [126] und auf internationalen sowie nationalen Fachkonferenzen vorgestellt [127–130].

6.2 Material und Methoden

6.2.1 Mess- und Stimulationsplatz

Für den Mess- und Stimulationsplatz galten die Anforderungen gemäß Abschnitt 3.4. Für die Ableitung eines helladaptierten Vollfeld-ERGs nach der ISCEV sind kurze Stimulationsdauern von ≤ 5 ms und die Stimulation des gesamten Gesichtsfeldes notwendig [4]. Daher konnte der in der PERG-Studie verwendete 60 Hz Monitor nicht mehr verwendet werden. Das visuelle Stimulationssystem musste an die notwendigen Vollfeldstimulationsparameter angepasst werden. Aus der Diskussion der PERG-Studie (Abschnitt 5.4) ergab sich zudem die Forderung nach einer Neukonzeptionierung des Triggers. Dieser sollte direkt durch einen zusätzlichen Ausgang am Stimulationssystem abgegriffen werden.

Die visuelle Vollfeldstimulation wurde monokular mit einem kommerziell verfügbaren Vollfeldstimulationssystem (RETI-port/scan 21 Q450, Roland Consult Stasche & Finger GmbH, Brandenburg an der Havel, Deutschland) durchgeführt. Dieses ermöglichte eine Vollfeldstimulation mit freier Einstellung verschiedener Stimulationsparameter. Des Weiteren enthielt das System einen externen Trigger-Ausgang, mit dem das Signal über eine Transistor-Transistor-Logik direkt am Stimulationssystem abgegriffen wurde. Über ein zusätzliches Modul (Triggerbox, neuroCare Group GmbH, München, Deutschland) konnte

6 Studie 2: Einfluss der transokularen Gleichstromstimulation auf das Vollfeld-Elektroretinogramm

das Signal in den Biosignalverstärker eingespeist werden. Zur Verminderung von Bewegungsartefakten wurden über das visuelle Stimulationssystem ein Fixationspunkt in der Mitte des Vollfeldstimulators und eine Kinn-Stütze bereitgestellt.

Für die Aufnahme des ERGs wurde ein externer Biosignalverstärker (Cubias-M, neuroCare Group GmbH, München, Deutschland) mit einem Dynamikbereich von ± 170 mV, einem 24-bit Analog-Digital-Wandler, einem Eingangswiderstand von ≥ 1 G Ω , einem Eigenrauschen von $\leq 0,9$ μ V und einer Abtastrate von 2000 samples-per-second verwendet.

Für die Stromstimulation wurde erneut das batteriebetriebene mehrkanalige Stromstimulationssystem (DC-Stimulator MC, neuroCare Group GmbH, München, Deutschland) genutzt. Die Stromstimulationsgegenelektrode war zwecks Vergleichbarkeit mit der PERG-Studie an der ipsilateralen Schläfe in Bezug auf das zu stimulierende Auge positioniert.

Der Mess- und Stimulationsplatz ist in Abbildung 6.1 dargestellt.



- 1 visuelles Stimulationssystem
- 2 Stromstimulationssystem
- 3 Biosignalverstärkersystem

Abbildung 6.1: Mess- und Stimulationsplatz zur simultanen transokularen Gleichstromstimulation und Aufnahme von Vollfeld-Elektroretinogrammen.

6 Studie 2: Einfluss der transokularen Gleichstromstimulation auf das Vollfeld-Elektroretinogramm

6.2.2 Stimulationsparameter

Der visuelle Stimulus für die Vollfeld-ERG-Messung war ein weißer Blitz mit einer Leuchtdichte von 3 cds/m^2 mit einer Stimulationsdauer $\leq 5 \text{ ms}$ (Parameterangaben aus Datenblatt). Es war keine Hintergrundbeleuchtung im Vollfeldstimulator eingeschaltet. Insgesamt wurden pro Messung 250 Sweeps bei einer Wiederholrate von 2 Hz aufgenommen. Um zwischen den ERG-Messungen eine vergleichbare Messumgebung zu gewährleisten, wurde der Raum während der ERG-Messungen abgedunkelt. Um Ermüdungserscheinungen der Probanden zu verhindern, wurde er jedoch zwischen den Messungen wieder beleuchtet.

Als Stromstärke wurden $800 \mu\text{A}$ gewählt. Im Vergleich zur vorangegangenen PERG-Studie wurde die Stromstärke leicht erhöht, um näher an die in klinischen Studien verwendeten Stromstärken heranzukommen [16, 82, 94].

6.2.3 Studienablauf

An der Vollfeld-ERG-Studie nahmen 15 gesunde Probanden ($27,5 \pm 4,5$ Jahre, 8 weiblich, 7 männlich) teil. Entgegen der PERG-Studie wurde diese Studie als verbundene Stichprobenstudie designt, sodass jeder Proband jede der drei möglichen Stromstimulationen in randomisierter Reihenfolge erhielt. Daher musste jeder Proband an drei unterschiedlichen Tagen zur Studienteilnahme erscheinen. Die Sitzungen unterschieden sich lediglich in der Art der Stromstimulation (kathodale Polarität, anodale Polarität oder sham Stromstimulation). Die Reihenfolge der applizierten Stromstimulationen wurde randomisiert.

Aus Studien zur Wirkung einer transkraniellen DCS auf evozierte Potentiale ist bekannt, dass kurze Stimulationsdauern von wenigen Minuten mit Strömen im niedrigen mA-Bereich Nacheffekte erzeugen können, diese jedoch nur für kurze Zeit anhalten ($\leq 120 \text{ min}$) [41, 89, 104]. Da keine Studien über das Abklingverhalten der Wirkung einer transokularen DCS bekannt sind, wurde eine Pause von mindestens 24 h zwischen den Messsitzungen gewählt.

6 Studie 2: Einfluss der transokularen Gleichstromstimulation auf das Vollfeld-Elektroretinogramm

In jeder der drei Sitzungen die ein Proband durchlief, wurden sechs ERG-Messungen vorgenommen. Eine ERG-Messung wurde vor (ERG 1), eine während (ERG 2) und vier nach (ERG 3–ERG 6) der transokularen DCS durchgeführt. Die Nachmessungen wurden 1 min (ERG 3), 5 min (ERG 4), 10 min (ERG 5) und 15 min (ERG 6) nach Beendigung der Stromstimulation gestartet. In Abbildung 6.2 ist der Messablauf am Beispiel einer Messsitzung dargestellt.

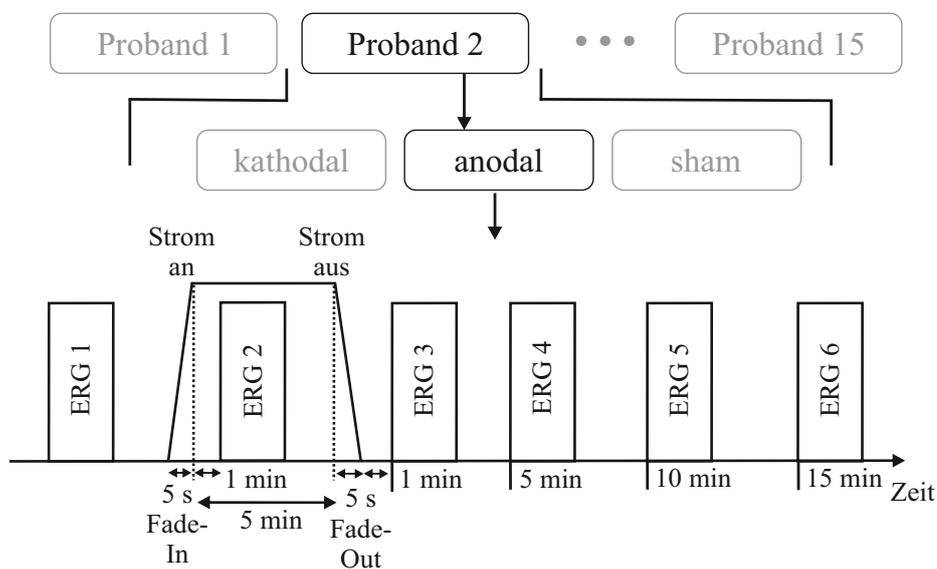


Abbildung 6.2: Studienablauf der Vollfeld-Elektroretinogramm-Studie (Vollfeld-ERG) am Beispiel einer Messsitzung eines Probanden. Insgesamt durchlief jeder Proband drei Messsitzungen (unterschiedliche Tage) die sich lediglich in der Stromstimulation (kathodale Polarität, anodale Polarität oder sham Stromstimulation; randomisierte Reihenfolge) unterschieden. Jede Sitzung bestand aus sechs Vollfeld-ERG-Messungen, um sowohl akute Effekte als auch Nacheffekte der transokularen Gleichstromstimulation zu untersuchen.

6.2.4 Signalverarbeitung

Die Signalverarbeitung wurde gemäß Abschnitt 4.4 vorgenommen. Als Artefaktgrenzwert wurden $100 \mu\text{V}$ festgelegt. Die Anzahl der notwendigen Sweeps für das Averaging wurde auf 200 terminiert. Für die Auswertung des ERGs wurden die charakteristischen Wellen in Anlehnung an die ISCEV bestimmt [4]. Die a-Welle wurde als das erste Minimum nach der visuellen Stimulusapplikation definiert.

6 Studie 2: Einfluss der transokularen Gleichstromstimulation auf das Vollfeld-Elektroretinogramm

Die Amplitudengröße wurde von der Nulllinie ausgehend gemessen. Die b-Welle wurde als das Maximum nach der a-Welle definiert, und die Amplitudengröße wurde von der a-Welle ausgehend gemessen. Für die b-Welle wurde die implizite Zeit zwischen der a- und der b-Welle bestimmt. Zusätzlich zu den nach der ISCEV definierten Amplituden wurde eine b'-Welle definiert, die von der Nulllinie zum Maximum der b-Welle gemessen wurde. Als Latenz für diese Welle wurde der Auftrittszeitpunkt des b-Wellen-Maximums nach der visuellen Stimulusapplikation angegeben. Zudem wurde das ERG-Rohsignal für die Analyse der OPs gemäß Abschnitt 4.4 verarbeitet.

6.2.5 Statistische Auswertung

In diese Studie lagen beim Vergleich der ERG-Messungen innerhalb einer Gruppe und zwischen den Stromstimulationsgruppen verbundene Stichproben vor. Die Annahme der Normalverteilung der Daten wurde für alle Studienziele verworfen, weswegen ausschließlich nichtparametrische Testverfahren verwendet wurden.

Vollfeld-ERG-Wellen (a-, b'- und b-Welle)

Das primäre Studienziel war die Identifikation akuter Stromstimulationseffekte auf die Amplitudenwerte der charakteristischen Wellen (a-, b'- und b-Welle) durch den Vergleich der ERG-Messungen vor und während der transokularen DCS. Hierfür wurde der Wilcoxon-Test auf die Amplitudenwerte der ERG 1- und der ERG 2-Messung für die charakteristischen Wellen und die verschiedenen Stromstimulationsgruppen (kathodale Polarität, anodale Polarität und sham Stromstimulation) angewendet. Aufgrund des multiplen Testproblems durch die neun durchzuführenden Tests wurde der Signifikanzwert zu $p^* \leq 0,0056$ nach Bonferroni korrigiert.

Als sekundäres Studienziel wurde der Unterschied zwischen den drei Stromstimulationsgruppen für die Amplitudenwerte der ERG-Messung während der transokularen DCS (ERG 2) untersucht. Die ERG 1-Messung wurde für alle Gruppen vor der Stromapplikation auf identische Weise aufgenommen, weshalb davon ausgegangen werden konnte, dass kein Unterschied zwischen den Gruppen bei der ERG 1-Messung vorliegt. Zur Analyse des sekundären Studienziels wurde

6 Studie 2: Einfluss der transokularen Gleichstromstimulation auf das Vollfeld-Elektroretinogramm

der Friedman-Test zwischen den ERG 2-Messungen für die drei Stromapplikationsgruppen und charakteristischen Amplituden verwendet. Hierbei ergab sich ein multiples Testproblem von drei durchzuführenden Tests. Nach Bonferroni-Korrektur lag der adjustierte Signifikanzwert bei $p^* \leq 0,016$.

Als Nebenziel wurde der Unterschied zwischen den Stimulationsgruppen nach der transokularen DCS (ERG 3–ERG 6, Nacheffekte) mit dem Friedman-Test untersucht. Aufgrund der zwölf notwendigen Friedman-Tests wurde der p-Wert nach Bonferroni korrigiert ($p^* \leq 0,0042$).

Oszillatorische Potentiale

Das Primärziel der Studie in Bezug auf die Auswertung der OPs war die Untersuchung der Amplitudenwerte der ERG 1- und der ERG 2-Messung hinsichtlich der charakteristischen OPs-Wellen (P1, P2 und P3). Als sekundäres Ziel wurde die Untersuchung der Latenzen für diese beiden Messungen festgelegt. Zur Erreichung beider Studienziele wurde der Wilcoxon-Test verwendet. Aufgrund des Mehrfachtestproblems wurden der Signifikanzwert bei beiden Studienzielen nach Bonferroni korrigiert ($p^* \leq 0,0055$).

Als Nebenziel für die Auswertung der OPs wurden die Nacheffekte für die Amplituden und Latenzen untersucht. Hierfür wurde der Friedman-Test zwischen den ERG-Messungen 1, 3, 4, 5 und 6 im Hinblick auf die Amplituden- und Latenzwerte für alle charakteristischen Wellen angewendet. Auch diese Auswertung musste aufgrund des Mehrfachtestproblems nach Bonferroni korrigiert werden ($p^* \leq 0,0027$).

6.3 Ergebnisse

6.3.1 Akute Stromstimulationseffekte

Für alle 15 Probanden konnten alle 18 Vollfeld-ERG-Messungen durchgeführt und ausgewertet werden. In Tabelle 6.1 sind die mittleren ERG-Amplituden und -Latenzen des primären Studienziels der drei Stromstimulationsgruppen zusammengefasst.

6 Studie 2: Einfluss der transokularen Gleichstromstimulation auf das Vollfeld-Elektroretinogramm

Sowohl die Auswertung der Latenzen durch die grafische Analyse der Grand-Mean-Signale (Abbildung 6.3) als auch die Datenverteilungsanalyse mittels violin plots (Abbildung 6.4) ergaben keine Hinweise auf Veränderungen über alle sechs ERG-Messungen hinweg, weshalb auf eine weitere statistische Analyse der Latenzen verzichtet wurde.

Tabelle 6.1: Mittelwerte und Standardabweichungen der Amplituden- und Latenzwerte für die drei Stromstimulationsgruppen (kathodale Polarität, anodale Polarität und sham Stromstimulation) zu den Elektroretinogrammmessungen vor (ERG 1) und während (ERG 2) der transokularen Gleichstromstimulation.

Gruppe	Messung	a-Welle		b'-Welle		b-Welle	
		Amplitude (μV)	Latenz (ms)	Amplitude (μV)	Latenz (ms)	Amplitude (μV)	Implizite Zeit (ms)
kathodal	ERG 1	$-22,41 \pm 5,77$	$15,50 \pm 1,28$	$36,16 \pm 11,26$	$35,17 \pm 1,39$	$58,57 \pm 13,98$	$19,67 \pm 0,94$
	ERG 2	$-22,18 \pm 5,77$	$15,40 \pm 1,11$	$37,17 \pm 11,84$	$35,27 \pm 1,37$	$59,34 \pm 14,44$	$19,87 \pm 0,79$
anodal	ERG 1	$-22,21 \pm 4,92$	$15,57 \pm 0,98$	$36,92 \pm 12,12$	$35,83 \pm 1,67$	$58,12 \pm 13,08$	$20,27 \pm 1,08$
	ERG 2	$-21,12 \pm 5,40$	$15,53 \pm 1,04$	$36,75 \pm 11,40$	$35,73 \pm 1,29$	$57,87 \pm 13,81$	$20,20 \pm 1,05$
sham	ERG 1	$-22,38 \pm 5,29$	$15,37 \pm 0,94$	$39,49 \pm 10,00$	$35,57 \pm 1,18$	$61,87 \pm 13,03$	$20,20 \pm 0,89$
	ERG 2	$-22,07 \pm 4,76$	$15,53 \pm 0,88$	$40,52 \pm 12,10$	$35,70 \pm 1,17$	$62,59 \pm 13,83$	$20,17 \pm 0,87$

Abbildung 6.3 zeigt die Grand-Mean-Signale für die ERG 1- und ERG 2-Messung aller Probanden in den drei Stromstimulationsgruppen. Bei allen Gruppen sind keine eindeutigen Unterschiede zwischen den ERG-Messungen vor und während der transokularen DCS erkennbar.

Abbildung 6.4 zeigt die Datenverteilung der Differenz zwischen der ERG 1- und ERG 2-Messung hinsichtlich der charakteristischen Amplituden (a-, b'- und b-Welle) in den Stromstimulationsgruppen (kathodale Polarität, anodale Polarität und sham Stromstimulation).

6 Studie 2: Einfluss der transokularen Gleichstromstimulation auf das Vollfeld-Elektroretinogramm

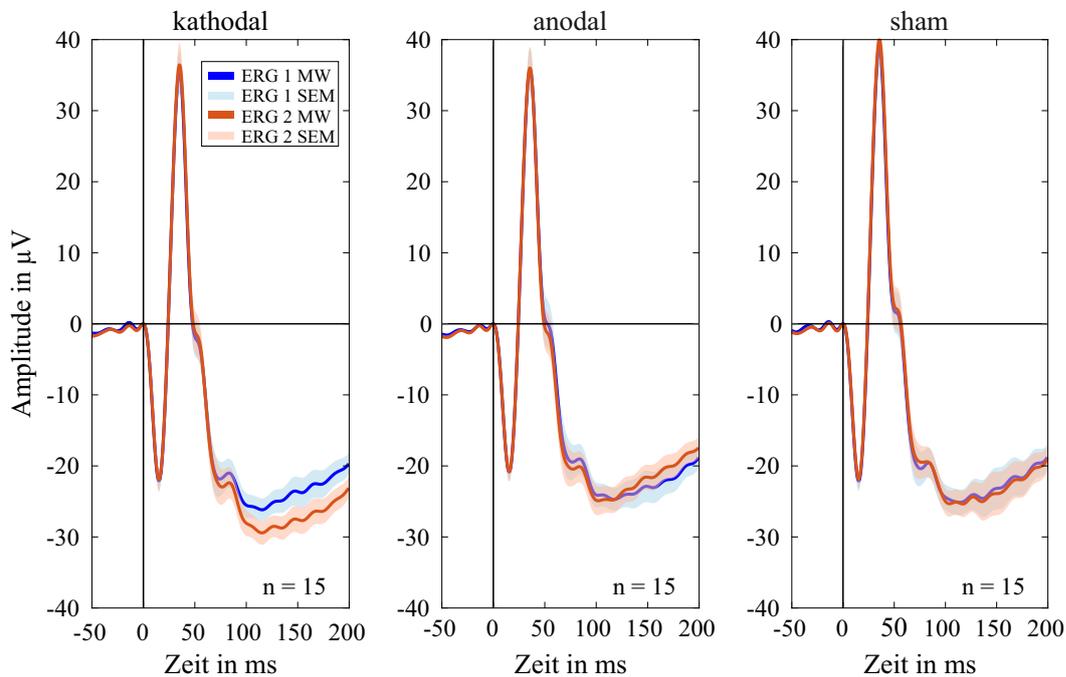


Abbildung 6.3: Über alle Probanden gemittelte Messungen der Vollfeld-Elektroretinogramme vor (ERG 1) und während (ERG 2) der transokularen Gleichstromstimulation in den drei Stromstimulationsgruppen (kathodale Polarität, anodale Polarität und sham Stromstimulation). *MW*: Mittelwert, *SEM*: Standardfehler des Mittelwerts.

Bei der a-Wellen-Amplitude ist aus der Differenzdarstellung erkennbar, dass die Amplitude für alle Stromstimulationsgruppen eine Verminderung während der DCS im Vergleich zu vor der DCS erfuhr. Während der kathodalen und der anodalen transokularen DCS verringerte sich die Amplitude um $-0,23 \pm 1,25 \mu\text{V}$ und $-0,09 \pm 2,75 \mu\text{V}$, was Änderungen von $-1,0\%$ und $-0,4\%$ entspricht. Für die sham Stromstimulation wurde eine mittlere Verringerung von $-0,32 \pm 1,69 \mu\text{V}$ ($-1,4\%$) festgestellt. Der Wilcoxon-Test wies keinen signifikanten Unterschied zwischen der ERG 1- und ERG 2-Messung für die a-Wellen Amplitude aller Stromstimulationsgruppen nach ($p^* \leq 0,0056$; $p_{kathodal} = 0,532$, $p_{anodal} = 0,427$, $p_{sham} = 0,570$). Die Effektstärke beträgt für alle Stromstimulationsgruppen $\leq 0,1$ ($d_{kathodal} = 0,034$, $d_{anodal} = 0,019$, $d_{sham} = 0,059$).

Die b'-Wellen-Amplitude zeigt in der Datenverteilungsdarstellung für die kathodale und sham Stromstimulationsgruppe eine Erhöhung während der transokularen

6 Studie 2: Einfluss der transokularen Gleichstromstimulation auf das Vollfeld-Elektroretinogramm

DCS, wohingegen die anodale DCS zu einer Verminderung der Amplitude führte. Die b'-Wellen-Amplitude änderte sich im Mittel während der kathodalen DCS um $1,00 \pm 2,03 \mu\text{V}$ (3,0 %) und bei der sham Stromstimulation um $1,03 \pm 2,43 \mu\text{V}$ (2,6 %). Bei der anodalen Stromstimulation verringerte sich die Amplitude während der DCS leicht um $-0,17 \pm 2,24 \mu\text{V}$ (-0,5 %). Auch für die b'-Wellen-Amplituden wurde mit dem Wilcoxon-Test kein signifikanter Unterschied zwischen der ERG 1- und der ERG 2-Messung nachgewiesen ($p^* \leq 0,0056$; $p_{kathodal} = 0,078$, $p_{anodal} = 0,955$, $p_{sham} = 0,140$). Die Effektstärke ist für alle Stromstimulationsgruppen $\leq 0,1$ ($d_{kathodal} = 0,087$, $d_{anodal} = 0,017$, $d_{sham} = 0,086$).

Für die b-Welle, die die Summe aus der a- und der b'-Welle darstellt, ist eine leichte Amplitudenerhöhung bei der kathodalen und der sham Stromstimulation aus der Datenverteilungsdarstellung erkennbar. Während der kathodalen transokularen DCS erhöhte sich die Amplitude im Mittel um $0,78 \pm 2,20 \mu\text{V}$ (1,3 %) im Vergleich zu vor der DCS. Bei der sham Stromstimulation wurde eine Amplitudenerhöhung von $0,72 \pm 2,28 \mu\text{V}$ (1,2 %) gemessen. Die anodale Stromstimulation zeigte eine leichte Amplitudenverringerng von $-0,26 \pm 3,26 \mu\text{V}$, was einer prozentualen Änderung von -0,4 % entsprach. Auch für alle b-Wellen-Amplituden wurde kein signifikanter Unterschied zwischen der ERG 1- und der ERG 2-Messung durch den Wilcoxon-Test nachgewiesen ($p^* \leq 0,0056$; $p_{kathodal} = 0,233$, $p_{anodal} = 0,691$, $p_{sham} = 0,156$). Die Effektstärke ist für alle Stromstimulationsgruppen $\leq 0,1$ ($d_{kathodal} = 0,050$, $d_{anodal} = 0,015$, $d_{sham} = 0,0052$).

Als sekundäres Studienziel wurde untersucht, ob ein signifikanter Unterschied zwischen den Stromstimulationsgruppen für die ERG-Messung während der transokularen DCS (ERG 2) besteht. Die deskriptive Verteilungsanalyse der Messdaten (Abbildung 6.4) zeigt einen leichten Trend, dass zwischen der anodalen und den anderen beiden Stromstimulationsgruppen ein Unterschied in Bezug auf die b'- und b-Wellen vorliegt. Mit dem Friedman-Test wurde jedoch kein signifikanter Unterschied zwischen den drei Stromstimulationsgruppen bei der ERG 2-Messung für alle drei charakteristischen Amplituden nachgewiesen ($p^* \leq 0,016$; $p_{a-Welle} = 0,189$, $p_{b'-Welle} = 0,085$, $p_{b-Welle} = 0,041$).

6 Studie 2: Einfluss der transokularen Gleichstromstimulation auf das Vollfeld-Elektroretinogramm

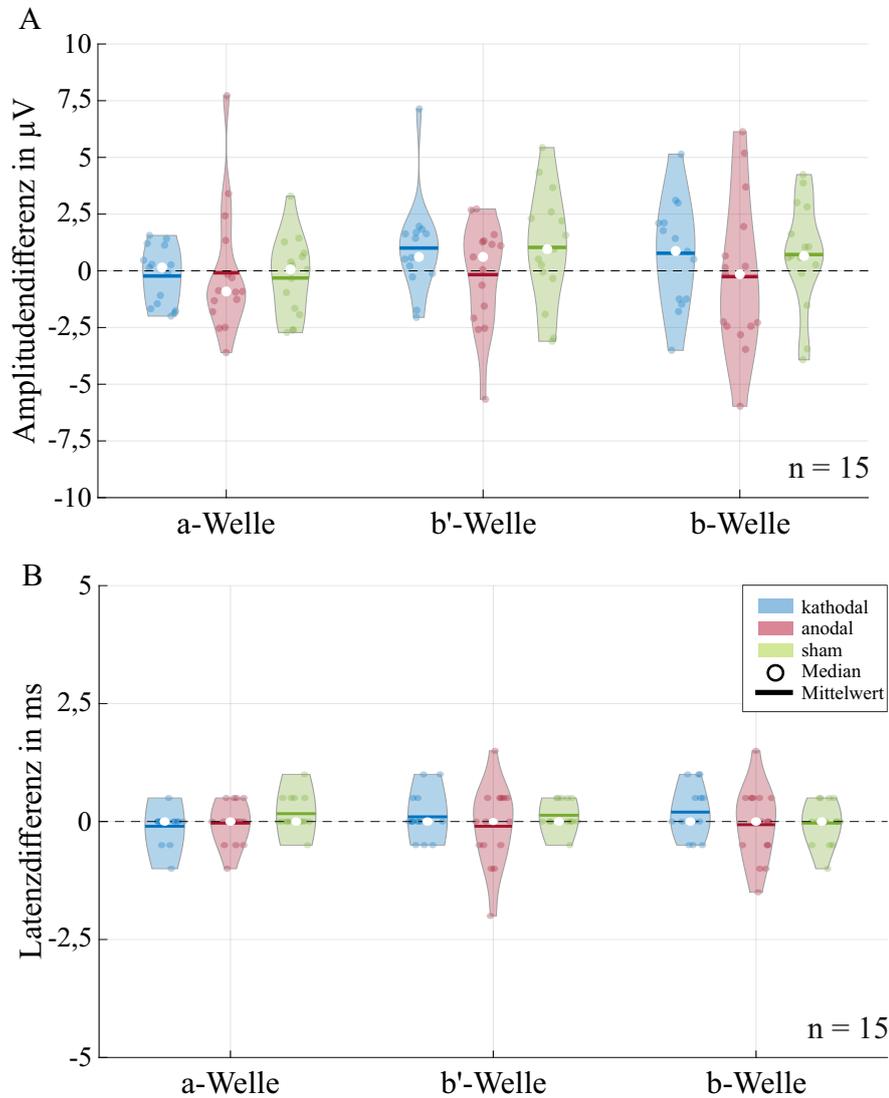


Abbildung 6.4: Violin plots zur Darstellung der Datenverteilung der Differenz zwischen der Elektroretinogrammmessung vor (ERG 1) und während (ERG 2) der transokularen Gleichstromstimulation hinsichtlich der (A) Amplituden- und (B) Latenzwerte der charakteristischen Wellen (a-, b'- und b-Welle).

6.3.2 Nacheffekte

In Abbildung 6.5 sind die Grand-Mean-Signale für die Messzeitpunkte vor (ERG 1) und nach (ERG 3–ERG 6) der transokularen DCS für die drei Stromstimulationsgruppen dargestellt. Hier ist für die a-Welle innerhalb der kathodalen Stromstimulationsgruppe ein Trend für einen Nacheffekt der transokularen DCS

6 Studie 2: Einfluss der transokularen Gleichstromstimulation auf das Vollfeld-Elektroretinogramm

in Form einer Amplitudenverringering erkennbar. Für die b'- und b-Welle ist in allen Gruppen eine leichte Erhöhung der Amplitude über die Zeit zu beobachten. Dieser Effekt ist am geringsten in der sham Stromstimulationsgruppe ausgeprägt.

Für die statistische Analyse der Nacheffekte wurde untersucht, ob ein signifikanter Unterschied zwischen den drei Stromstimulationsgruppen in Bezug auf die charakteristischen Vollfeld-ERG-Wellen (a-, b'- und b-Welle) existiert. Hierbei wies der Friedman-Test keinen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen für die vier Messzeitpunkte nach der Stromstimulation (ERG 3–ERG 6) nach (siehe Anhang Tabelle A.2).

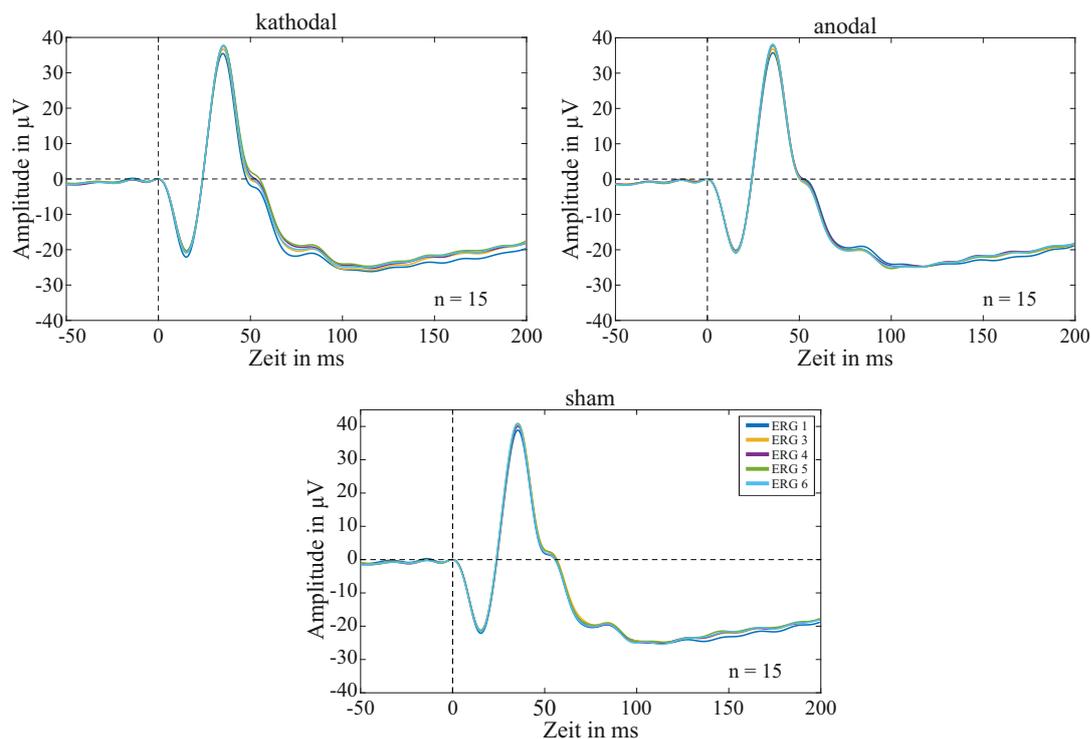


Abbildung 6.5: Gemittelte Elektroretinogrammmessungen über alle Probanden und Stromstimulationsgruppen (kathodale Polarität, anodale Polarität und sham Stromstimulation). Dargestellt sind die Messzeitpunkte vor (ERG 1) und nach (ERG 3–ERG 6) der transokularen Gleichstromstimulation.

6 Studie 2: Einfluss der transokularen Gleichstromstimulation auf das
Vollfeld-Elektroretinogramm

6.3.3 Oszillatorische Potentiale

Die OPs konnten für allen 15 Probanden und alle ERG-Messungen ausgewertet werden. In der Grand-Mean-Darstellung (Abbildung 6.6) sind keine eindeutigen Veränderungen der charakteristischen Amplituden (P1, P2 und P3) und deren Latenzen erkennbar.

Der Wilcoxon-Test wies sowohl für die Amplituden (primäres Studienziel) als auch für die Latenzen (sekundäres Studienziel) keine signifikanten Unterschiede zwischen der ERG 1- und der ERG 2-Messung nach (Tabelle 6.2). Als Nebenziel wurden die Nacheffekte der Stromstimulation (ERG 1 zu ERG 3, ERG 4, ERG 5, und ERG 6) mit dem Friedman-Test für die Amplituden- und Latenzwerte untersucht. Auch hier wurden keine statistisch signifikanten Stromstimulationseffekte ermittelt (Tabelle 6.2).

Tabelle 6.2: Statistische Ergebnisse der hypothesenprüfenden Auswertung der oszillatorischen Potentiale (OPs). Der Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test ($p^* \leq 0,0056$) wurde auf die Amplituden und Latenzen der charakteristischen OPs-Wellen (P1, P2 und P3) zwischen der Elektroretinogrammmessung vor (ERG 1) und während (ERG 2) der transokularen Gleichstromstimulation (DCS) angewendet (primäres und sekundäres Studienziel). Der Friedman-Test ($p^* \leq 0,0027$) wurde zur Auswertung der Nacheffekte zwischen der Elektroretinogrammmessung vor (ERG 1) und den Messungen nach (ERG 3–ERG 6) der transokularen DCS angewendet.

Stimulationsgruppe	Welle	Wilcoxon-Test p-Werte		Friedman-Test p-Werte	
		Amplituden	Latenzen	Amplituden	Latenzen
kathodal	P1	0,691	0,557	0,965	0,331
	P2	0,609	0,757	0,100	0,891
	P3	0,191	0,593	0,818	0,007
anodal	P1	0,776	0,782	0,053	0,041
	P2	0,570	0,537	0,421	0,152
	P3	0,820	0,140	0,865	0,177
sham	P1	0,955	0,317	0,534	0,028
	P2	0,910	0,132	0,056	0,004
	P3	0,053	0,366	0,491	0,309

6 Studie 2: Einfluss der transokularen Gleichstromstimulation auf das Vollfeld-Elektroretinogramm

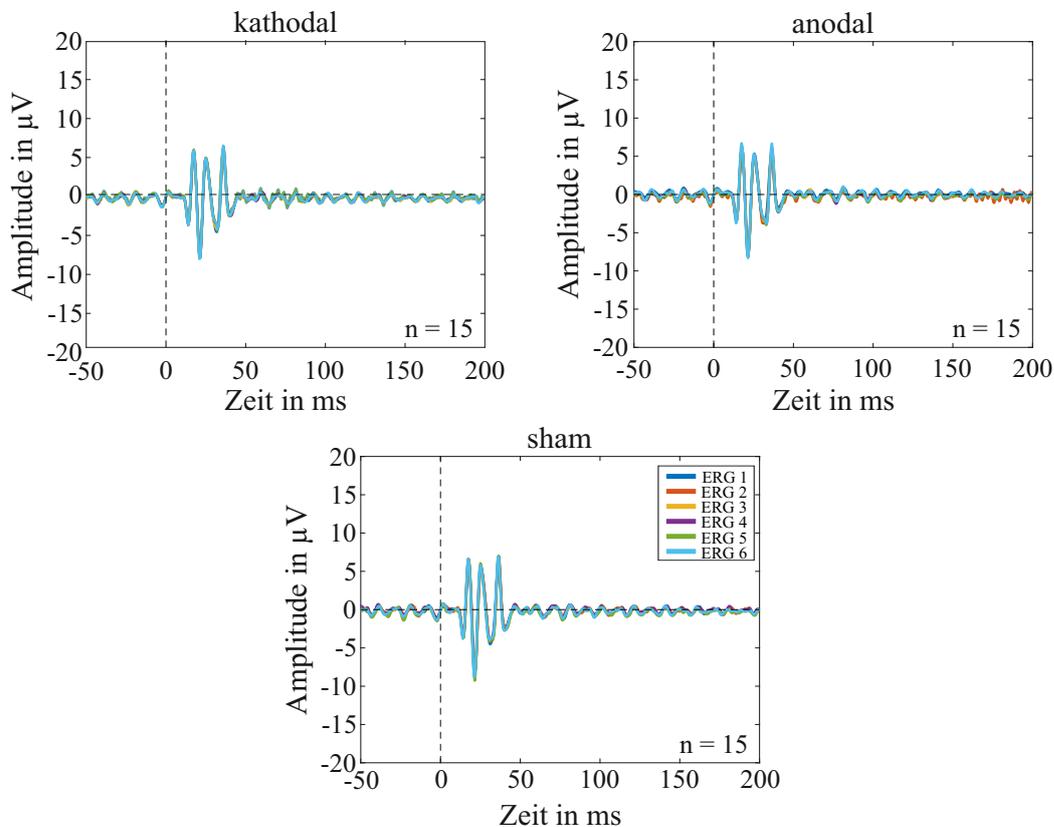


Abbildung 6.6: Über alle Probanden gemittelte oszillatorische Potentiale in den drei Stromstimulationsgruppen (kathodale Polarität, anodale Polarität und sham Stromstimulation). Dargestellt sind die durchgeführten Elektroretinogrammmessungen vor (ERG 1), während (ERG 2) und nach Beendigung der transokularen Gleichstromstimulation (ERG 3–ERG 6).

6.4 Diskussion

In der Vollfeld-ERG-Studie wurde der Fragestellung nachgegangen, ob eine transokulare DCS einen Einfluss auf die charakteristischen Wellen des Vollfeld-ERGs hat. Für alle Amplituden und Latenzen wurden keine signifikanten Unterschiede zwischen den ERG-Messungen vor und während der transokularen DCS nachgewiesen. Auch in der Analyse der Nacheffekte sowie zwischen den Stromstimulationsgruppen wurde kein Einfluss der transokularen DCS gefunden. Für die OPs wurden ebenfalls keine signifikanten Veränderungen in Abhängigkeit von der transokularen DCS nachgewiesen.

6 Studie 2: Einfluss der transokularen Gleichstromstimulation auf das Vollfeld-Elektroretinogramm

Die charakteristischen Wellen des helladaptierten Vollfeld-ERGs und dessen OPs stammen primär von den Pre-Ganglienzellen, speziell von den Zapfen, den Bipolarzellen und den Amakrinzellen. Aus dem Ergebnis, dass für keine der untersuchten Wellen ein Einfluss der transokularen DCS nachgewiesen wurde, lässt sich schlussfolgern, dass die untersuchten retinalen Zellen nicht durch die angewendete transokulare DCS beeinflussbar sind. Für das Vollfeld-ERG und dessen retinale Herkunft gilt somit, dass $g(t)_{Strom} = 0$ für $u(t)_{Strom} \neq 0$ ist.

In der vorangegangenen PERG-Studie (Kapitel 5) wurde ein signifikanter Stromstimulationseffekt auf die P50-Amplitude nachgewiesen. Ob dieser durch die Beeinflussung von Ganglienzellen oder Pre-Ganglienzellen entstanden war, konnte nicht beurteilt werden. Durch die Ergebnisse der vorliegenden Vollfeld-ERG-Studie wird die Annahme gestärkt, dass der gefundenen Stromstimulationseffekt innerhalb der PERG-Studie auf eine Beeinflussung der Ganglienzellen und nicht der Pre-Ganglienzellen zurückzuführen ist. Daraus folgt zudem die Stärkung der Theorie, dass die nachgewiesene Polaritätsunabhängigkeit des Stromstimulationseffekts der PERG-Studie auf eine unterschiedliche Beeinflussung von On- und Off-Ganglienzellen zurückzuführen ist.

Der Mess- und Stimulationsplatz, der in der PERG-Studie entwickelt wurde, wurde an die neuen Anforderungen der Vollfeldstimulation angepasst. Aus der PERG-Studie konnten nicht alle 66 Probandenmessungen aufgrund technischer Probleme bzw. zu geringer Signalqualität verwendet werden. Eine Ursache war eine fehlerhafte Triggeraufzeichnung, die mithilfe des Mess- und Stimulationsplatzes in dieser Studie optimiert wurde. In der Vollfeld-ERG-Studie konnten für alle 15 Probanden alle 18 ERG-Messungen aufgezeichnet und ausgewertet werden. Dies zeigt, dass die Ursachen der Messausfälle aus der PERG-Studie behoben wurden. Jedoch ist zu vermerken, dass beim Vollfeld-ERG von Natur aus größere Amplituden generiert werden als beim PERG, wodurch die Auswertbarkeit der Studie begünstigt wurde.

Die Vollfeld-ERG-Studie ist ähnlich wie die PERG-Studie, durch die Stromstimulationsparameter, die Stromstimulationselektroden und die Anzahl der Probanden limitiert. Basierend auf der vorangegangenen PERG-Studie und

6 Studie 2: Einfluss der transokularen Gleichstromstimulation auf das Vollfeld-Elektroretinogramm

der Studie von Freitag et al. (2019) [109] wurde die erwartete Effektstärke des Stromstimulationseffekts auf $d = 0,7$ festgelegt. Unter dieser Bedingung weist die Studie eine Power von 81 % auf. Die Differenzen zwischen den Amplituden der ERG 1- und der ERG 2-Messung zeigen alle Effektstärken $\leq 0,1$, was ein starker Hinweis auf die Abwesenheit eines Stromstimulationseffekts ist.

Einen weiteren limitierenden Faktor stellen die verwendeten Stromstimulations-elektroden dar. Diese und deren Positionen wurden zur Vergleichbarkeit mit der vorangegangenen PERG-Studie nicht verändert. Auch für diese Studie gilt, dass eine Vergrößerung, eine Verkleinerung oder eine stärkere Fokussierung des elektrischen Feldes andere Ergebnisse hervorbringen kann [124]. Ferner bleibt eine Umpositionierung der Stromstimulationsgegenelektrode an den visuellen Cortex für einen homogenen Stromfluss in der Retina (wie bereits in Abschnitt 5.4 ausführlich diskutiert wurde) von Interesse. Durch eine solche Studie ist eine Beurteilung des Einflusses des veränderten Eingangsparameters $u(t)_{Strom}$ möglich. Des Weiteren kann damit überprüft werden, ob die Pre-Ganglienzellen mit einem anderen optimierten elektrischen Feld durch eine simultan stattfindende transokulare DCS beeinflusst werden.

Die Studie ist weiterhin durch die verwendeten Stromstimulationsparameter, speziell durch die Stromstärke und die Stimulationsdauer, limitiert. Der Zusammenhang zwischen dem applizierten Stromparametern und den auftretenden elektrophysiologischen und neurologischen Effekten ist nicht linear [124], womit auch in dieser Studie nicht ausgeschlossen werden kann, dass andere Stromstimulationsparameter andere Stromstimulationseffekte ergeben.

Die Nacheffekte der transokularen DCS wurden bis zu 15 min nach DCS-Beendigung untersucht. Ob spätere Stromstimulationseffekte aufgetreten sind, lässt sich nicht beurteilen.

Für alle Stromstimulationsgruppen trat in der Grand-Mean-Darstellung eine negative Amplitude nach einer Latenz von etwa 100 ms auf (Abbildung 6.3). In der kathodalen Stromstimulationsgruppe war für die ERG 2-Messung eine deutliche Erhöhung dieser Amplitude erkennbar. Diese negative Amplitude kann in Zusammenhang mit der PhNR-Welle gebracht werden. Die PhNR ist eine

6 Studie 2: Einfluss der transokularen Gleichstromstimulation auf das Vollfeld-Elektroretinogramm

negative Amplitude des Vollfeld-ERGs, die von den Ganglienzellen stammt (ausführliche Informationen befinden sich im Unterabschnitt 2.2.5). Die größten Amplituden treten allgemein bei einem chromatischen Vollfeldstimulus mit einem roten Blitz auf einem blauen Hintergrund auf [5, 78]. In der hier vorgestellten Vollfeld-ERG-Studie wurde das ERG mit einem weißen Blitz auf schwarzen Hintergrund generiert, wodurch die PhNR-Welle in modifizierter Form auftrat. Zugunsten der statistischen Auswertung der Nebenziele dieser Studie wurde auf eine statistische Analyse der modifizierten PhNR-Welle verzichtet. Aufgrund des sichtbaren Trends ist jedoch eine Studie, in der der Einfluss einer transokularen DCS auf die PhNR-Welle, aufgenommen nach dem ISCEV-Standard [5], untersucht wird, für zukünftige Arbeiten von Interesse. Da die PhNR-Amplitude ein Summensignal der Ganglienzellaktivität ohne lokale Unterschiede in der Aktivität der On- und Off-Ganglienzellen darstellt, kann sie Hinweise darauf geben, ob polaritätsabhängige Beeinflussungen der Ganglienzellen durch eine transokulare DCS möglich sind. Des Weiteren können die Ergebnisse der beiden vorausgegangenen Studien reproduziert und überprüft werden, da sowohl die Ganglienzellen durch die PhNR-Welle als auch die Pre-Ganglienzellen durch die a- und b-Welle sowie die OPs untersucht werden können.

Zusammenfassend lässt sich schlussfolgern, dass in der vorgestellten Vollfeld-ERG-Studie kein Einfluss der transokularen DCS auf das Vollfeld-ERG und damit keine Beeinflussbarkeit der Pre-Ganglienzellen durch eine transokulare DCS nachweisbar war. Somit gilt für das Vollfeld-ERG und dessen retinale Herkunft: $g(t)_{Strom} = 0$ bei $u(t)_{Strom} \neq 0$. Dadurch intensiviert sich die Annahme, dass der innerhalb der PERG-Studie nachgewiesene Stromstimulationseffekt auf eine Beeinflussung der Ganglienzellen zurückzuführen ist. Für zukünftige Studien ist eine Umpositionierung der Stromstimulationsgegenelektrode sowie die Untersuchung der PhNR-Welle von Interesse.

7 Studie 3: Einfluss der transokularen Gleichstromstimulation zwischen Auge und visuellem Cortex auf das Vollfeld-Elektroretinogramm

7.1 Einleitung

In der vorangegangenen Vollfeld-ERG-Studie wurde kein Einfluss der transokularen DCS auf die charakteristischen Wellen und OPs des Vollfeld-ERG nachgewiesen. Unbekannt bleibt, welchen Einfluss die Stromstimulationsparameter, insbesondere das generierte elektrische Feld, auf die Ergebnisse haben. Eine Umpositionierung der Stromstimulationsgegenelektrode von der ipsilateralen Schläfe zum visuellen Cortex erzeugt nach einer Simulationsstudie von Hunold et al. (2015) [123] einen homogeneren Stromfluss durch die Retina. Dies könnte einen Effekt auf die Beeinflussbarkeit der retinalen Zellen durch die transokulare DCS haben. Daraus ergab sich das Ziel, in einer weiteren Studie den Einfluss der transokularen DCS zwischen Auge und visuellem Cortex auf das Vollfeld-ERG zu erforschen. Die Ergebnisse der Studie werden sowohl separat ausgewertet und interpretiert als auch in Zusammenhang mit der vorangegangenen Vollfeld-ERG-Studie gebracht.

7 Studie 3: Einfluss der transokularen Gleichstromstimulation zwischen Auge und visuellem Cortex auf das Vollfeld-Elektroretinogramm

Einige Ergebnisse dieses Kapitels der Dissertation wurden auf einer internationalen Fachkonferenzen vorgestellt und als Konferenz-Paper veröffentlicht [131].

7.2 Material und Methoden

7.2.1 Mess- und Stimulationsplatz

In dieser Studie wurde der Mess- und Stimulationsplatz der vorangegangenen Vollfeld-ERG-Studie verwendet (siehe Unterabschnitt 6.2.1). Lediglich die Position der Stromstimulationsgegenelektrode unterschied sich zum bisherigen verwendeten Elektrodensetup. Die Stromstimulationselektrode, die in den vorangegangenen beiden Studien an der ipsilateralen Schläfe angebracht war, wurde in dieser Studie am visuellen Cortex, mittig auf Oz positioniert. Das Elektrodensetup für diese Studie ist in Abbildung 7.1 dargestellt.

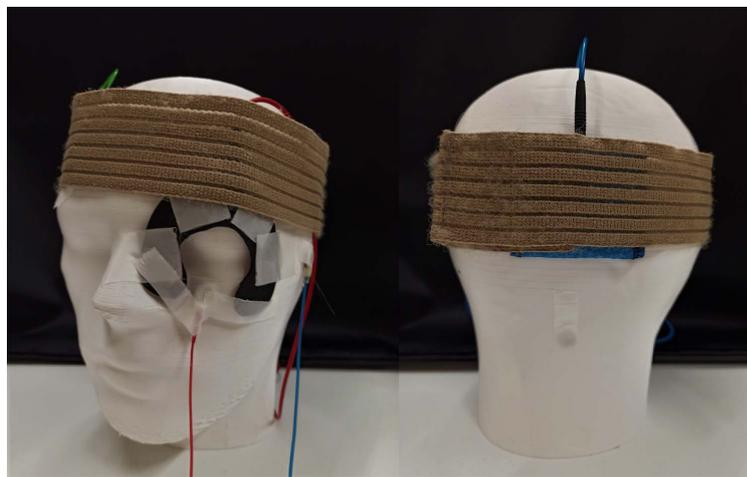


Abbildung 7.1: Elektrodensetup für die transokuläre Gleichstromstimulation zwischen Auge und visuellem Cortex simultan zur Aufnahme eines Elektroretinogramms (ERG). Als ERG-Elektroden wurden gesinterte Ag/AgCl-Ringelektroden verwendet. Die aktive Elektrode wurde am unteren Augenlid, die Referenzelektrode am ipsilateralen Ohrläppchen und die Erdungselektrode an der Stirn angebracht. Als Stromstimulationselektroden wurden Gummi-Grafit-Elektroden verwendet, von denen eine um das Auge herum und eine weitere am visuellen Cortex positioniert war.

7 Studie 3: Einfluss der transokularen Gleichstromstimulation zwischen Auge und visuellem Cortex auf das Vollfeld-Elektroretinogramm

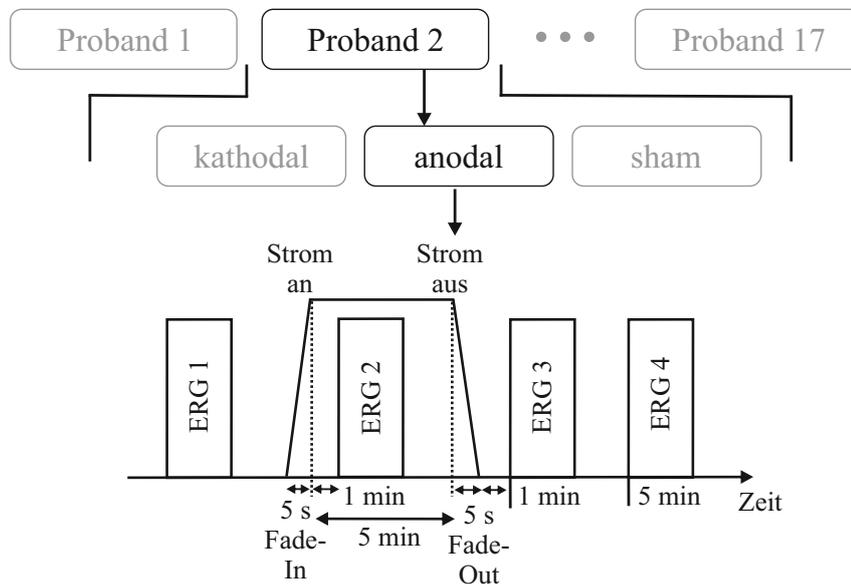


Abbildung 7.2: Studienablauf der in diesem Kapitel vorgestellten Vollfeld-Elektroretinogramm-Studie am Beispiel einer Messsitzung. Insgesamt durchlief jeder Proband drei Messsitzungen (unterschiedliche Tage, mindestens 24 h Pause), die sich lediglich in der Stromstimulation (kathodale Polarität, anodale Polarität oder sham Stromstimulation; randomisierte Reihenfolge) unterschieden.

7.2.2 Stimulationsparameter und Studiendesign

Wie nach dem entwickelten Studienkonzept vorgegeben (Abschnitt 3.3) wurden alle Stromstimulationsparameter und visuellen Stimulationsparameter, mit Ausnahme der veränderten Position der Stromstimulationsgegenelektrode zur vorangegangenen Vollfeld-ERG-Studie identisch gehalten. Sie sind dem Unterabschnitt 6.2.2 zu entnehmen.

An dieser Vollfeld-ERG-Studie nahmen 17 gesunden Probanden ($22,0 \pm 1,9$ Jahre, 9 weiblich, 8 männlich) teil. Im Studiendesign und -ablauf musste die Anzahl der durchgeführten Messungen pro Messsitzung aufgrund der Coronaschutzmaßnahmen, die während der Durchführung der Studie an der Technischen Universität Ilmenau galten (maximal 20 min ohne Lüftungspause), auf vier ERG-Messung reduziert werden. Es wurde eine ERG-Messung vor (ERG 1), eine während (ERG 2) und zwei weitere ERG-Messungen nach (ERG 3 und ERG 4) der transokularen DCS durchgeführt. Die Nachmessungen wurden 1 min (ERG 3)

7 Studie 3: Einfluss der transokularen Gleichstromstimulation zwischen Auge und visuellem Cortex auf das Vollfeld-Elektroretinogramm

und 5 min (ERG 4) nach Beendigung der Stromstimulation gestartet.

Insgesamt nahm jeder Proband an drei Messsitzungen an drei verschiedenen Tagen mit mindestens 24 h Pause zwischen den Messsitzungen teil. Die Messsitzungen unterschieden sich nur in der applizierten Stromstimulation (kathodale Polarität, anodale Polarität oder sham Stromstimulation). Die Reihenfolge der applizierten Stromstimulationen wurde randomisiert. Das Studiendesign ist am Beispiel einer Messsitzung in Abbildung 7.2 dargestellt.

7.2.3 Signalverarbeitung

Die Signalverarbeitung wurde wie im entwickelten Studienkonzept gefordert identisch zur vorangegangenen Vollfeld-ERG-Studie durchgeführt. Diesbezügliche Informationen sind dem Abschnitt 4.4 und dem Unterabschnitt 6.2.4 zu entnehmen. Lediglich die Definition, ab wann ein Sweep als artefaktbehaftet zu definieren ist, wurde auf Amplitudenwerte $\geq 115 \mu\text{V}$ erhöht, da zwei Probanden Amplitudenwerte knapp über $\geq 100 \mu\text{V}$ aufwiesen. Auch in dieser Studie wurden sowohl die charakteristischen Wellen des Vollfeld-ERGs (a-, b'- und b-Welle) als auch die OPs ausgewertet.

7.2.4 Statistische Auswertung

Einzelstudienbetrachtung der Vollfeld-ERG-Wellen

In dieser Studie lagen sowohl beim Vergleich innerhalb einer Gruppe als auch zwischen den Stromstimulationsgruppen verbundene Stichproben vor.

Das Primärziel der Auswertung der Einzelstudie war der Vergleich der Amplitudenwerte der charakteristischen Vollfeld-ERG-Wellen (a-, b'- und b-Welle) der ERG 1- und ERG 2-Messung, um akute Stromstimulationseffekte zu identifizieren. Für diese Daten wurde die Annahme der Normalverteilung bestätigt. Somit wurde für die hypothesenprüfende Auswertung der t-Test für verbundene Stichproben verwendet. Aufgrund des Mehrfachtestproblems wurde der Signifikanzwert nach Bonferroni korrigiert ($p^* \leq 0,0056$).

7 Studie 3: Einfluss der transokularen Gleichstromstimulation zwischen Auge und visuellem Cortex auf das Vollfeld-Elektroretinogramm

Im Sekundärziel wurde untersucht, ob ein signifikanter Unterschied zwischen den Stromstimulationsgruppen in Bezug auf die Differenz zwischen der ERG 1- und ERG 2-Messung besteht. Der Shapiro-Wilk-Test ergab für die b'-Amplitude der sham Stromstimulationsgruppe einen Wert kleiner als das definierte Signifikanzniveau. Nach Betrachtung des Q-Q-Diagramms wurde festgestellt, dass die Abweichung von der Normalverteilung durch einen Ausreißer entstanden war. Wird dieser aus der Betrachtung herausgenommen, zeigt das Q-Q-Diagramm eine akzeptable Normalverteilung der Daten. Daher wurde zur Untersuchung des Sekundärziels die Normalverteilung angenommen. Für die Auswertung wurde eine ANOVA mit Messwiederholung angewendet. Da hier drei separate ANOVAs notwendig waren (drei Wellen), wurde der Signifikanzwert um den Faktor drei nach Bonferroni korrigiert ($p^* \leq 0,0167$).

Die Nebenziele der Auswertung der Einzelstudie bestanden in der Untersuchung der Amplitudennacheffekte und der Analyse der Latenzen. Für die Nacheffekte der Amplitudenwerte wurde die Annahme der Normalverteilung verworfen, weshalb für die Auswertung der Friedman-Test angewendet wurde. Auch hier wurde der Signifikanzwert nach Bonferroni korrigiert ($p^* \leq 0,0056$). Die Differenzen der Latenzen wiesen lediglich Schwankungen um die Auflösungsgrenze von 0,5 ms auf. Daher wurde auf eine statistische Analyse der Latenzen verzichtet.

Einzelstudienbetrachtung der oszillatorischen Potentiale

Das primäre Ziel hinsichtlich der statistische Auswertung der OPs der Einzelstudie war der Vergleich der Amplitudenwerte der ERG 1- und ERG 2-Messung innerhalb einer Stromstimulationsgruppe. Die Annahme der Normalverteilung wurde für diese Daten bestätigt. Daher wurde für die statistische Analyse der t-Test für verbundene Stichproben angewendet. Aufgrund des Mehrfachtestproblems wurde der Signifikanzwert nach Bonferroni korrigiert ($p^* \leq 0,0056$).

Das sekundäre Studienziel war der Vergleich der Differenzen der ERG 1- und ERG 2-Messungen zwischen den verschiedenen Stromstimulationsgruppen. Die Annahme der Normalverteilung wurde nicht angenommen, weshalb der Friedman-Test auf die Daten angewendet wurde. Auch hier musste aufgrund des Mehrfachtestproblem der Signifikanzwert auf $p^* \leq 0,0168$ nach Bonferroni korrigiert werden.

Die Nebenziele der Analyse der OPs waren die Auswertung der Nacheffekte und

7 Studie 3: Einfluss der transokularen Gleichstromstimulation zwischen Auge und visuellem Cortex auf das Vollfeld-Elektroretinogramm

die Analyse der Latenzen. Für die Untersuchung der Nacheffekte auf die Amplituden wurde der Friedman-Test gewählt. Der Signifikanzwert wurde auch hier nach Bonferroni korrigiert ($p^* \leq 0,0056$). Die Latenzwerte zeigten Schwankungen um die Auflösungsgrenze von 0,5 ms, weshalb auch hier auf eine weitere statistische Analyse verzichtet wurde.

Studienvergleich in Bezug auf die Vollfeld-ERG-Wellen

Um eine Aussagen über den Einfluss des elektrischen Feldes auf die akuten Wirkungen und Nacheffekte der transokularen DCS treffen zu können, wurden die Ergebnisse der beiden im Rahmen der Dissertation durchgeführten Vollfeld-ERG-Studien miteinander verglichen. Dieses Vorgehen ist dem entwickelten Studienkonzept (Abschnitt 3.3) zu entnehmen.

Das primäre Ziel des Vergleichs war, zu untersuchen, ob zwischen beiden Studien in Bezug auf die Amplitudendifferenzen (Differenz ERG 1- zur ERG 2-Messung) bei den charakteristischen Vollfeld-ERG-Wellen (a-, b'- und b-Welle) und Stromstimulationsgruppen Unterschiede vorliegen. Die Annahme der Normalverteilung der Daten wurde verworfen, weshalb der Mann-Whitney-U-Test angewendet wurde. Aufgrund der Mehrfachtestproblems wurde der Signifikanzwert nach Bonferroni korrigiert ($p^* \leq 0,0056$). Für die grafische Verdeutlichung der Ergebnisse wurde die Datenverteilung der Differenz zwischen der ERG 1- und ERG 2-Messung für die charakteristische Amplituden und die Stromstimulationsgruppen beider Studien nebeneinander dargestellt.

Das sekundäre Ziel des Vergleichs war die Analyse, ob die Latenzdifferenzen der ERG 1- und ERG 2-Messung für die Stromstimulationsgruppen zwischen den beiden Studien einen signifikanten Unterschied aufzeigen. Da sich in beide Studien für die Latenzdifferenzen zwischen beiden ERG-Messungen lediglich Schwankungen um die Auflösungsgrenze von 0,5 ms ergaben, wurde auf eine Auswertung der Latenzen verzichtet.

Das Nebenziel des Studienvergleichs bestand darin, zu prüfen, ob in den Nacheffekten der Amplituden ein Unterschied zwischen den Studien besteht. Da in der zweiten Studie nur zwei Nachmessungen (1 min und 5 min nach Beendigung der transokularen DCS) durchgeführt wurden, konnten in Bezug auf die Nacheffekte nur diese beiden ERG-Messungen zwischen den Studien verglichen werden. Die Normalverteilung der Daten wurde verworfen, woraufhin der Mann-Whitney-U-

7 Studie 3: Einfluss der transokularen Gleichstromstimulation zwischen Auge und visuellem Cortex auf das Vollfeld-Elektroretinogramm

Test angewendet wurde. Da insgesamt in der Auswertung der Nacheffekte somit 18 Tests notwendig waren (ERG 1 zu ERG 3 und ERG 1 zu ERG 4), wurde der Signifikanzwert auf $p^* \leq 0,0027$ nach Bonferroni korrigiert.

Studienvergleich der oszillatorischen Potentiale

Weiterhin wurden die Ergebnisse der Auswertung der OPs zwischen den Studien verglichen. Da für alle Vergleiche die Annahme der Normalverteilung verworfen wurde, wurde der Mann-Whitney-U-Test als hypothesenprüfender statistischer Test verwendet.

Das Primärziel war der Studienvergleich der Amplitudendifferenzen (ERG 1-zur ERG 2-Messung) in den drei Stromstimulationsgruppen hinsichtlich der drei charakteristischen OPs-Wellen (P1, P2 und P3). Der Signifikanzwert wurde auf $p^* \leq 0,0056$ nach Bonferroni korrigiert.

Das Sekundärziel war die Analyse der Latenzdifferenzen zwischen der ERG 1- und ERG 2-Messung zwischen den Studien. Da beide Studien in der Differenz eine Schwankung um die Auflösungsgrenze von 0,5 ms aufwiesen, wurde auf eine Auswertung der Latenzen verzichtet.

Das Nebenziel des Vergleichs bestand darin, die Amplitudendifferenzen der Nacheffekte (ERG 1 zu ERG 3 und ERG 1 zu ERG 4) zwischen den Studien zu vergleichen. Aufgrund der damit durchzuführenden 18 Tests wurde der Signifikanzwert nach Bonferroni auf $p^* \leq 0,0027$ korrigiert.

7.3 Ergebnisse

7.3.1 Akute Stromstimulationseffekte in der Einzelstudienbetrachtung

Für die 17 Probanden konnten alle durchgeführten 12 Vollfeld-ERG-Messungen ausgewertet werden. In Tabelle 7.1 sind die mittleren Amplituden und Latenzen der ERG-Messung vor (ERG 1) und während (ERG 2) der transokularen DCS in den verschiedenen Stromstimulationsgruppen zusammengefasst.

7 Studie 3: Einfluss der transokularen Gleichstromstimulation zwischen Auge und visuellem Cortex auf das Vollfeld-Elektroretinogramm

Tabelle 7.1: Amplituden- und Latenzmesswerte der drei Stromstimulationsgruppen (kathodale Polarität, anodale Polarität und sham Stromstimulation) in den aufgenommenen Vollfeld-Elektroretinogrammen vor (ERG 1) und während (ERG 2) der transokularen Gleichstromstimulation zwischen Auge und visuellem Cortex.

Gruppe	Mes- sung	a-Welle		b'-Welle		b-Welle	
		Amplitu- de (μV)	Latenz (ms)	Amplitu- de (μV)	Latenz (ms)	Amplitu- de (μV)	Implizite Zeit (ms)
kathodal	ERG 1	$-18,62 \pm 3,24$	$14,29 \pm 0,95$	$28,18 \pm 8,71$	$34,94 \pm 1,79$	$46,81 \pm 9,48$	$20,65 \pm 1,25$
	ERG 2	$-19,69 \pm 4,03$	$14,14 \pm 1,09$	$27,61 \pm 9,89$	$34,65 \pm 1,59$	$47,30 \pm 11,45$	$20,24 \pm 1,11$
anodal	ERG 1	$-18,07 \pm 4,63$	$14,38 \pm 0,99$	$26,68 \pm 6,56$	$35,00 \pm 1,61$	$44,74 \pm 8,40$	$20,62 \pm 1,07$
	ERG 2	$-18,33 \pm 4,55$	$14,74 \pm 1,08$	$26,14 \pm 6,88$	$35,24 \pm 1,80$	$44,47 \pm 8,60$	$20,05 \pm 1,13$
sham	ERG 1	$-17,89 \pm 4,10$	$14,24 \pm 0,83$	$28,54 \pm 7,23$	$35,15 \pm 2,04$	$46,42 \pm 8,43$	$20,91 \pm 1,54$
	ERG 2	$-18,37 \pm 4,15$	$14,47 \pm 0,86$	$27,45 \pm 6,88$	$34,85 \pm 1,93$	$45,82 \pm 9,28$	$20,38 \pm 1,48$

Abbildung 7.3 zeigt die Grand-Mean-Signale der ERG 1- und ERG 2-Messung in den drei Stromstimulationsgruppen. Zwischen den beiden ERG-Messungen ist anhand dieser Darstellung kein Unterschied in Bezug auf die charakteristischen Amplituden der a-, b'- und b-Welle erkennbar.

Die Datenverteilung der Amplitudendifferenz zwischen der ERG 1- und ERG 2-Messung hinsichtlich der verschiedenen charakteristischen Wellen und Stromstimulationsgruppen ist in Abbildung 7.4 dargestellt.

Die a-Wellen-Amplitude erfuhr in allen drei Stromstimulationsgruppen eine leichte Erhöhung von der ERG 1- zur ERG 2-Messung. Am stärksten war diese in der kathodalen Stromstimulationsgruppe mit einer mittleren Amplitudenänderung von $1,07 \pm 1,88 \mu\text{V}$ (5,73 %) ausgeprägt. Die a-Wellen-Amplitude änderte sich in der anodalen Stromstimulationsgruppe im Mittel um $0,26 \pm 2,58 \mu\text{V}$ (1,46 %) und für die sham Stromstimulationsgruppe im Mittel um $0,48 \pm 1,73 \mu\text{V}$ (2,70 %). Der t-Test für verbundene Stichproben ergab keinen signifikanten Unterschied zwischen

7 Studie 3: Einfluss der transokularen Gleichstromstimulation zwischen Auge und visuellem Cortex auf das Vollfeld-Elektroretinogramm

der ERG 1- und der ERG 2-Messung in Bezug auf die a-Welle in den drei Stromstimulationsgruppen ($p^* \leq 0,0056$; $p_{kathodal} = 0,032$, $p_{anodal} = 0,680$, $p_{sham} = 0,265$). Die berechneten Effektstärken sind $d_{kathodal} = 0,21$, $d_{anodal} = 0,04$ und $d_{sham} = 0,08$.

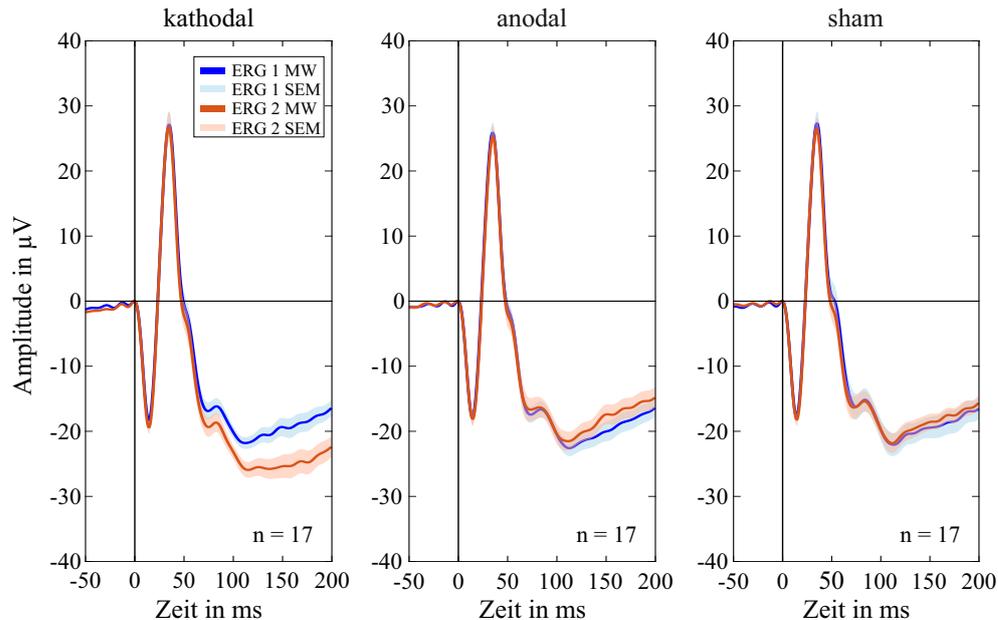


Abbildung 7.3: Über alle Probanden gemittelte Vollfeld-Elektroretinogramme, die vor (ERG 1) und während (ERG 2) der transokularen Gleichstromstimulation zwischen Auge und visuellem Cortex in den drei Stromstimulationsgruppen (kathodale Polarität, anodale Polarität und sham Stromstimulation) aufgezeichnet wurden. *MW*: Mittelwert, *SEM*: Standardfehler des Mittelwerts.

Die b'-Wellen-Amplitude ist bei allen drei Stromstimulationsgruppen in der ERG 2-Messung leicht verringert im Vergleich zur ERG 1-Messung. Am stärksten veränderte sich im Mittel die sham Stromstimulationsgruppe mit einer Differenz von $-1,09 \pm 3,51 \mu\text{V}$ (-3,82%). Die anodale und die kathodale Stromstimulationsgruppe änderte sich um $-0,54 \pm 3,19 \mu\text{V}$ (-2,01%) und um $-0,58 \pm 2,91 \mu\text{V}$ (-2,05%). Auch hier ergab der t-Test für verbundene Stichproben keinen signifikanten Unterschied zwischen der ERG 1- und ERG 2-Messung ($p^* \leq 0,0056$; $p_{kathodal} = 0,425$, $p_{anodal} = 0,498$, $p_{sham} = 0,219$). Die Effektstärken sind $d_{kathodal} = 0,04$, $d_{anodal} = 0,06$ und $d_{sham} = 0,11$.

7 Studie 3: Einfluss der transokularen Gleichstromstimulation zwischen Auge und visuellem Cortex auf das Vollfeld-Elektroretinogramm

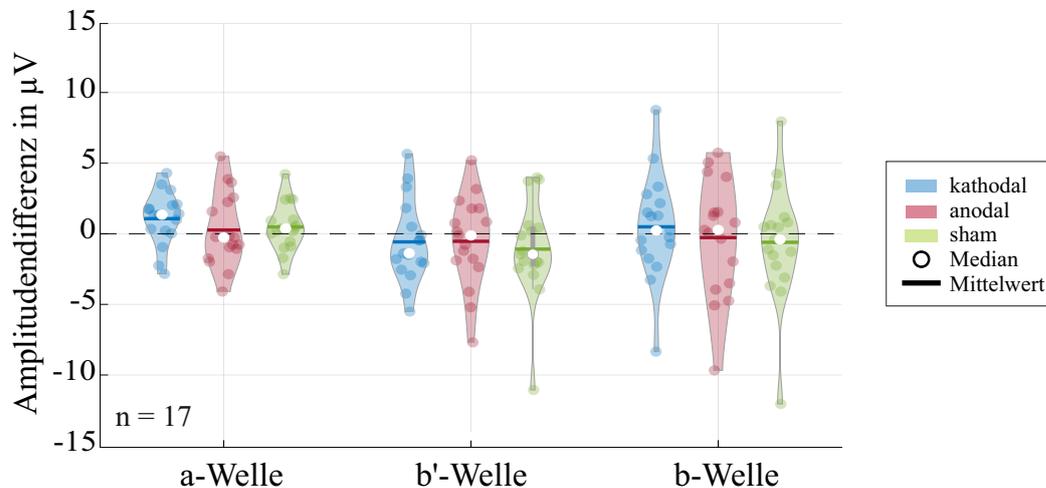


Abbildung 7.4: Violin plots zur Darstellung der Datenverteilung der Amplitudendifferenz zwischen den gemessenen Vollfeld-Elektroretinogrammen vor (ERG 1) und während (ERG 2) der transokularen Gleichstromstimulation zwischen Auge und visuellem Cortex.

Bezüglich der b-Welle zeigt sich in der kathodalen Stromstimulationsgruppe eine leichte Erhöhung der Amplitude von der ERG 1- zur ERG 2-Messung, während in der anodalen und in der sham Stromstimulationsgruppe eine leichte Verminderung der Amplitude zu beobachten ist. Die Werte der kathodalen Stromstimulationsgruppe änderten sich im Mittel um $0,49 \pm 3,72 \mu\text{V}$ (1,05 %). In der anodalen Stromstimulationsgruppe sind Änderungen um $-0,27 \pm 4,13 \mu\text{V}$ (-0,61 %) erkennbar, und in der sham Stromstimulationsgruppe ergaben sich Änderungen von $-0,61 \pm 4,22 \mu\text{V}$ (-1,31 %). Der t-Test für verbundene Stichproben führte zu keinem signifikanten Unterschied zwischen der ERG 1- und ERG 2-Messung ($p^* \leq 0,0056$; $p_{kathodal} = 0,593$, $p_{anodal} = 0,790$, $p_{sham} = 0,562$). Die Effektstärken sind für alle Stromstimulationsgruppen $\leq 0,1$ ($d_{kathodal} = 0,03$, $d_{anodal} = 0,02$, $d_{sham} = 0,05$).

In Tabelle 7.2 sind die statistischen Ergebnisse des primären Studienziels der Einzelstudienbetrachtung zusammengefasst.

7 Studie 3: Einfluss der transokularen Gleichstromstimulation zwischen Auge und visuellem Cortex auf das Vollfeld-Elektroretinogramm

Tabelle 7.2: Statistische Ergebnisse des t-Tests für verbundene Stichproben inklusive Konfidenzintervalle ($p^* \leq 0,0056$) für die gemessenen Vollfeld-Elektroretinogramme vor (ERG 1) und während (ERG 2) der transokularen Gleichstromstimulation zwischen Auge und visuellem Cortex. *Sdw*: Standardabweichung.

Stromart	Welle	Mittelwert \pm Sdw (μ V)	Konfidenzintervall		p-Wert
			untere Grenze	obere Grenze	
kathodal	a-Welle	-1,07 \pm 1,88	-0,39	2,52	0,032
	b'-Welle	-0,58 \pm 2,91	-1,68	2,84	0,425
	b-Welle	0,49 \pm 3,72	-3,37	2,39	0,593
anodal	a-Welle	-0,26 \pm 2,58	-1,74	2,27	0,680
	b'-Welle	-0,54 \pm 3,19	-1,94	3,01	0,498
	b-Welle	-0,27 \pm 4,14	-2,94	3,48	0,790
sham	a-Welle	-0,48 \pm 1,73	-0,86	1,82	0,265
	b'-Welle	-1,09 \pm 3,51	-1,64	3,82	0,219
	b-Welle	-0,61 \pm 4,22	-2,67	3,88	0,562

Als sekundäres Studienziel galt es zu analysieren, ob für die Differenz zwischen der ERG 1- und ERG 2-Messung ein signifikanter Unterschied zwischen den Stromstimulationsgruppen existierte. Die Datenanalyse mittels violin plots ergab keinen Hinweis auf einen signifikanten Unterschied (Abbildung 7.4). Die ANOVAs mit Messwiederholung bestätigten dies und wiesen keine signifikanten Unterschiede zwischen den Stromstimulationsgruppen nach ($p^* \leq 0,016$; $p_{a-Welle} = 0,414$, $p_{b'-Welle} = 0,866$, $p_{b-Welle} = 0,685$).

7.3.2 Nacheffekte in der Einzelstudienbetrachtung

Abbildung 7.5 zeigt die Grand-Mean-Signale der ERG-Messungen vor (ERG 1) und nach (ERG 3 und ERG 4) der transokularen DCS in den drei Stromstimulationsgruppen. Hier ist ein Trend zu kleineren a-Wellen-Amplituden nach der kathodalen und der sham Stromstimulation erkennbar. Bei der anodalen Stromstimulationsgruppe ist eine leichte Verringerung der b-Wellen-Amplitude zu

7 Studie 3: Einfluss der transokularen Gleichstromstimulation zwischen Auge und visuellem Cortex auf das Vollfeld-Elektroretinogramm

erkennen.

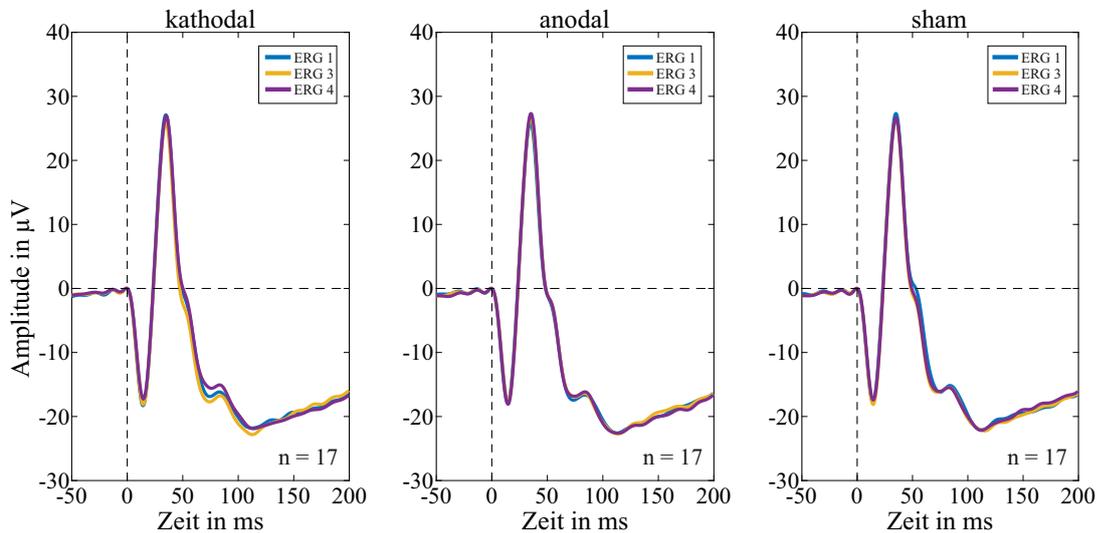


Abbildung 7.5: Über alle Probanden gemittelte Vollfeld-Elektroretinogramme zu den Messzeitpunkten vor (ERG 1) sowie 1 min (ERG 3) und 5 min (ERG 4) nach der transokularen Gleichstromstimulation in den drei Stromstimulationsgruppen (kathodale Polarität, anodale Polarität und sham Stromstimulation). Die Stromstimulation wurde zwischen dem Auge und dem visuellem Cortex durchgeführt.

Für die deskriptive Auswertung der Daten wurde die Datenverteilung der Amplitudendifferenz zwischen der ERG 1- zur ERG 3- und der ERG 1- zur ERG 4-Messung mittels violin plots dargestellt (Abbildung 7.6). In der Differenzbetrachtung der ERG 1- zur ERG 3-Messung zeigen die Mediane und Mittelwerte der a-Wellen keine eindeutigen Abweichungen von der Nulldifferenz. Für die b'- und b-Welle ist eine Verminderung der Amplitude bei der kathodalen und der sham Stromstimulationsgruppe erkennbar, während die anodale Stromstimulationsgruppe kaum eine Abweichung von der Nulldifferenz aufweist. Die Differenzdarstellung der ERG 1- zur ERG 4-Messung zeigt für die kathodale Stromstimulationsgruppe eine leichte Verminderung in Bezug auf die a-Welle, wie diese bereits in der Grand-Mean-Darstellung zu erkennen ist. Für die b'-Welle ist eine leichte Erhöhung der anodalen Stromstimulationsgruppe im Vergleich zur kathodalen und sham Stromstimulationsgruppe erkennbar. In Bezug auf die b-Welle ergibt sich eine Erhöhung der Amplitude nach der anodalen Stromstimulation und eine Verminderung nach der sham Stromstimulation. In der kathodalen Stromstimulationsgruppe ist eine Verminderung der Amplitude von der ERG 1- zur ERG 4-Messung zu erkennen.

7 Studie 3: Einfluss der transokularen Gleichstromstimulation zwischen Auge und visuellem Cortex auf das Vollfeld-Elektroretinogramm

Der Friedman-Test konnte keinen signifikanten Unterschied zwischen der ERG 1-, der ERG 3- und der ERG 4-Messung bei den verschiedenen Stromstimulationsgruppen nachweisen ($p \geq 0,0056$). Die berechneten p-Werte des Friedman-Tests sind der Tabelle A.3 im Anhang zu entnehmen.

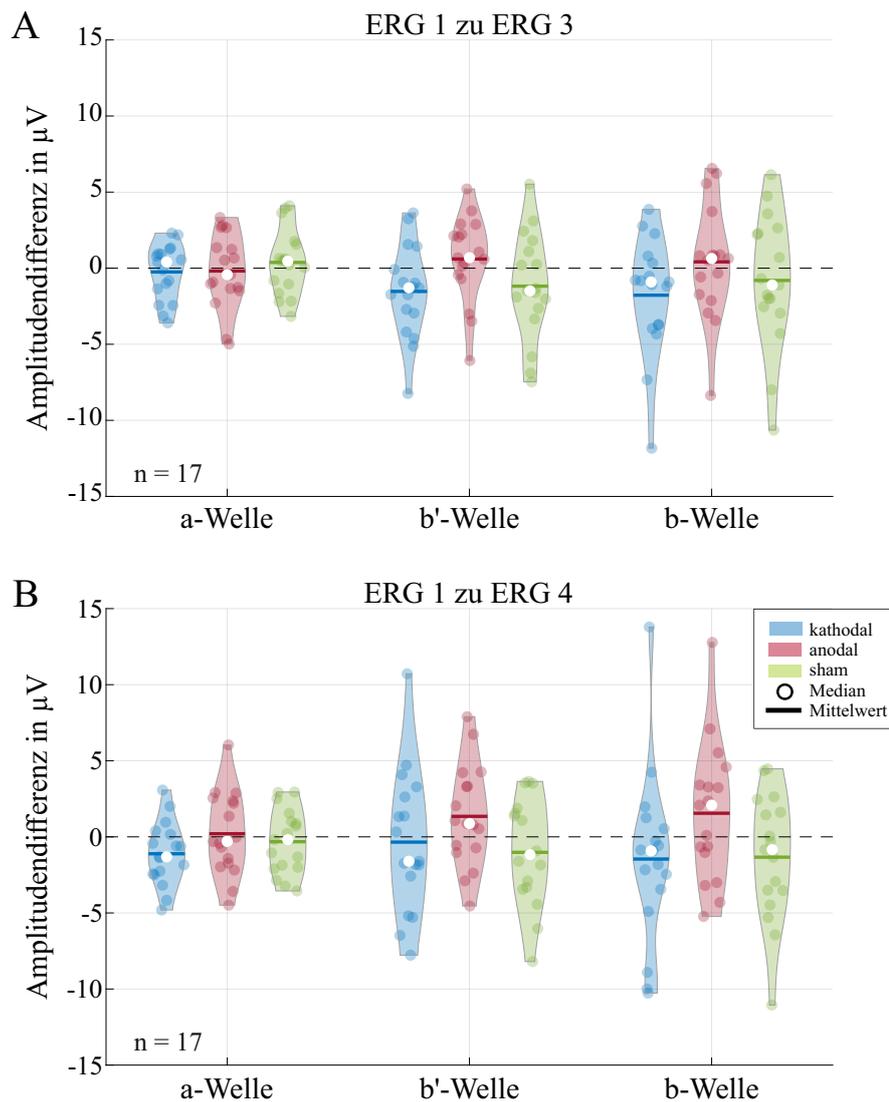


Abbildung 7.6: Violin plots zur Darstellung der Datenverteilung der Amplitudendifferenz zwischen den gemessenen Vollfeld-Elektroretinogrammen vor (ERG 1) und (A) 1 min (ERG 3) und (B) 5 min (ERG 4) nach Beendigung der transokularen Gleichstromstimulation zwischen Auge und visuellem Cortex.

7 Studie 3: Einfluss der transokularen Gleichstromstimulation zwischen Auge und visuellem Cortex auf das Vollfeld-Elektroretinogramm

7.3.3 Oszillatorische Potentiale in der Einzelstudienbetrachtung

Die Grand-Mean-Signale der drei Stromstimulationsgruppen und charakteristischen Wellen der OPs der ERG 1- und der ERG 2-Messung sind in Abbildung 7.7 dargestellt. Die Signale der beiden ERG-Messungen überlagern sich deutlich, sodass die Grand-Mean-Darstellung keinen Hinweis auf eine Beeinflussung der elektrophysiologischen Aktivität während der transokularen DCS liefert.

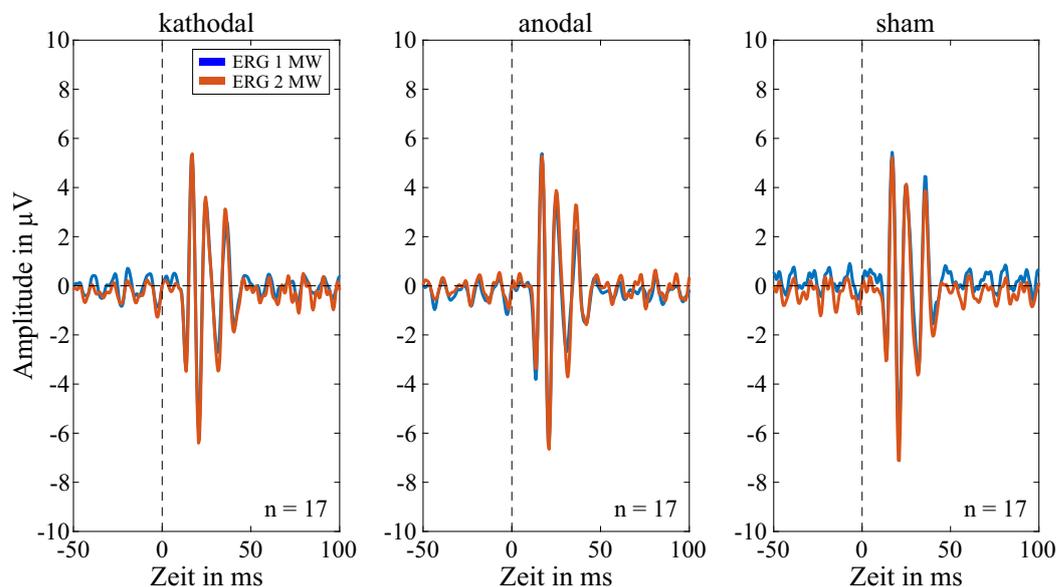


Abbildung 7.7: Über alle Probanden gemittelte oszillatorische Potentiale der aufgenommenen Vollfeld-Elektroretinogramme vor (ERG 1) und während (ERG 2) der transokularen Gleichstromstimulation zwischen Auge und visuellem Cortex in den drei Stromstimulationsgruppen (kathodale Polarität, anodale Polarität und sham Stromstimulation). *MW*: Mittelwert

Als Primärziel wurde untersucht, ob zwischen der ERG 1- und ERG 2-Messung innerhalb einer Stromstimulationsgruppe ein signifikanter Unterschied vorherrscht. Der t-Test für verbundene Stichproben ergab keinen signifikanten Unterschied. Die ermittelten p-Werte und Konfidenzintervalle sind der Tabelle 7.3 zu entnehmen. Bei der Auswertung der Amplitudendifferenzen (ERG 1 zur ERG 2-Messung) der OPs zwischen den Stromstimulationsgruppen konnte der Friedman-Test keinen signifikanten Unterschied nachweisen (sekundäres Studienziel; $p^* \leq 0,0167$;

7 Studie 3: Einfluss der transokularen Gleichstromstimulation zwischen Auge und visuellem Cortex auf das Vollfeld-Elektroretinogramm

$p_{P1} = 0,120$, $p_{P2} = 0,113$, $p_{P3} = 0,025$).

In Bezug auf das Nebenziel der Studie wurde nach dem Friedman-Test zwischen der ERG 1-, ERG 3- und ERG 4-Messung kein signifikanter Unterschied zwischen den Amplitudenwerten in allen Stromstimulationsgruppen nachgewiesen. Die berechneten p-Werte sind der Tabelle A.4 im Anhang zu entnehmen.

Tabelle 7.3: Statistische Ergebnisse der t-Tests für verbundene Stichproben inklusive Konfidenzintervalle ($p^* \leq 0,0056$) zur Untersuchung, ob zwischen den oszillatorischen Potentialen vor und während der transokularen Gleichstromstimulation zwischen Auge und visuellem Cortex ein signifikanter Unterschied vorliegt. *Sdw*: Standardabweichung.

Stromart	Welle	Mittelwert \pm Sdw (μ V)	Konfidenzintervall		p-Wert
			untere Grenze	obere Grenze	
kathodal	P1	-0,51 \pm 1,52	-1,69	0,67	0,183
	P2	-1,18 \pm 2,12	-2,83	0,46	0,035
	P3	-1,21 \pm 1,95	-2,72	0,30	0,021
anodal	P1	-0,06 \pm 1,88	-1,52	1,39	0,893
	P2	-0,90 \pm 3,21	-3,40	1,59	0,264
	P3	0,18 \pm 2,16	-1,50	1,86	0,739
sham	P1	0,43 \pm 1,09	-0,42	1,28	0,123
	P2	-0,30 \pm 1,76	-1,67	1,07	0,491
	P3	0,97 \pm 2,33	-0,84	2,78	0,105

7.3.4 Vergleich der Vollfeld-ERG-Studien

Vergleich der Vollfeld-ERG-Wellen

Durch die in diesem Kapitel vorgestellte Vollfeld-ERG-Studie ist es möglich, den Einfluss des elektrischen Feldes durch Umpositionierung der Stromstimulationsgegenelektrode von der ipsilateralen Schläfe zum visuellen Cortex (Position Oz) auf die akuten Auswirkungen und die Nacheffekte einer transokularen DCS auf das Vollfeld-ERG zu untersuchen.

7 Studie 3: Einfluss der transokularen Gleichstromstimulation zwischen Auge und visuellem Cortex auf das Vollfeld-Elektroretinogramm

Für die statistische Auswertung wurden die Differenzen der ERG 1- zur ERG 2-Messung beider im Rahmen der Dissertation durchgeführten Vollfeld-ERG-Studien im Hinblick auf einen signifikanten Unterschied verglichen. Abbildung 7.8 zeigt die Datenverteilung in beiden Studien hinsichtlich der charakteristischen Wellen des Vollfeld-ERGs und der verschiedenen Stromstimulationsgruppen nebeneinander. Es sind leichte Abweichungen von der Nulldifferenz für die b'-Welle der kathodalen und für die b- und b'-Welle der sham Stromstimulationsgruppe erkennbar. Der Mann-Whitney-U-Test ergab im Hinblick auf das Primärziel des Studienvergleichs keinen signifikanten Unterschied zwischen den Studien bei den ERG 1-ERG 2-Messdifferenzen für alle charakteristischen Wellen. Die berechneten p-Werte sind der Tabelle 7.4 zu entnehmen.

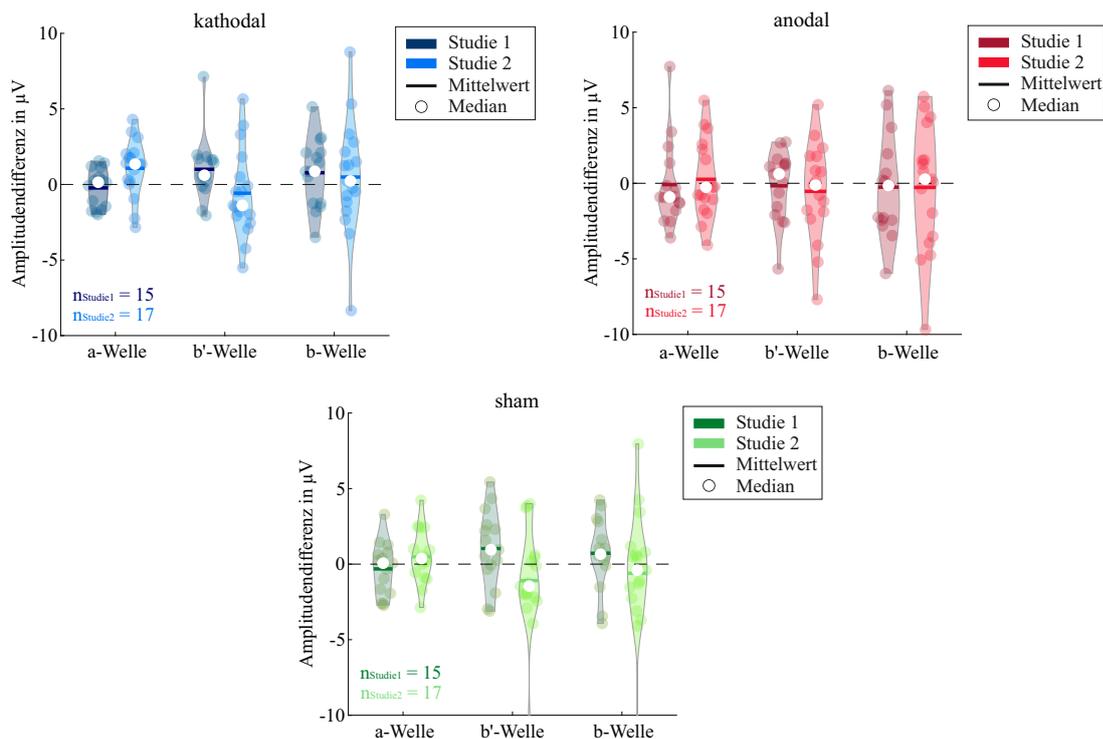


Abbildung 7.8: Datenverteilung der Differenzen zwischen den Elektroretinogrammmessungen vor (ERG 1) und während (ERG 2) der transokularen Gleichstromstimulation (DCS) beider innerhalb der Dissertation durchgeführten Vollfeld-Elektroretinogramm-Studien. Studie 1 ist dem Kapitel 6 der Dissertation zu entnehmen. Hier wurde die transokuläre DCS zwischen dem Auge und der ipsilateralen Schläfe durchgeführt. Studie 2 wird in Kapitel 7 der Dissertation beschrieben. Hier wurde die transokuläre DCS zwischen Auge und visuellem Cortex durchgeführt.

7 Studie 3: Einfluss der transokularen Gleichstromstimulation zwischen Auge und visuellem Cortex auf das Vollfeld-Elektroretinogramm

Im Nebenziel der Studie wurden die Differenzen der ERG 1- zur ERG 3-Messung sowie ERG 1- zur ERG 4-Messung analysiert. Der Mann-Whitney-U-Test wies keinen signifikanten Unterschied zwischen den Studien nach. Die berechneten p-Werte sind der Tabelle 7.4 zu entnehmen.

Tabelle 7.4: Statistische Ergebnisse des Mann-Whitney-U-Tests ($p^*_{ERG1-ERG2} \leq 0,0056$, $p^*_{ERG1-ERG3,ERG4} \leq 0,0027$) zur Untersuchung, ob zwischen den beiden im Rahmen der Dissertation durchgeführten Vollfeld-Elektroretinogramm-Studien ein signifikanter Unterschied vor und während (ERG 1 zu ERG 2) sowie vor und nach (ERG 1 zu ERG 3 sowie ERG 1 zu ERG 4) der transokularen Gleichstromstimulation vorliegt.

Stromart	Welle	p-Wert Mann-Whitney-U-Test		
		ERG 1–ERG 2	ERG 1–ERG 3	ERG 1–ERG 4
kathodal	a-Welle	0,027	0,086	0,375
	b'-Welle	0,040	0,007	0,079
	b-Welle	0,835	0,193	0,141
anodal	a-Welle	0,439	0,763	0,180
	b'-Welle	0,806	0,821	0,806
	b-Welle	0,835	0,734	0,597
sham	a-Welle	0,317	0,131	0,734
	b'-Welle	0,067	0,016	0,100
	b-Welle	0,206	0,180	0,308

Vergleich der oszillatorischen Potentiale

Zusätzlich zur Untersuchung der charakteristischen Wellen des Vollfeld-ERGs wurde der Einfluss der transokularen DCS auf die OPs in Bezug auf beide Studien untersucht. Beim Vergleich der Studien bestand das primäre Ziel darin, den akuten Stromstimulationseffekt (Differenz der ERG 1- zur ERG 2-Messung) der drei charakteristischen OPs-Wellen (P1-, P2- und P3-Welle) zwischen den beiden Studien zu vergleichen. Der Mann-Whitney-U-Test führte zu keinem signifikanten Unterschied für den akuten Stromstimulationseffekt der OPs zwischen den Studien ($p^* \leq 0,0056$). Die ermittelten p-Werte sind der Tabelle 7.5 zu entnehmen.

In der Analyse der Nacheffekte (Nebenziel des Studienvergleichs) wurde kein signifikanter Unterschied zwischen den Studien durch den Mann-Whitney-U-Test

7 Studie 3: Einfluss der transokularen Gleichstromstimulation zwischen Auge und visuellem Cortex auf das Vollfeld-Elektroretinogramm

nachgewiesen. Die berechneten p-Werte sind der Tabelle 7.5 zu entnehmen.

Tabelle 7.5: Statistische Ergebnisse des Mann-Whitney-U-Tests ($p^*_{ERG1-ERG2} \leq 0,0056$; $p^*_{ERG1-ERG3,ERG4} \leq 0,0027$) zu Untersuchung, ob zwischen den beiden im Rahmen des Dissertation durchgeführten Vollfeld-Elektroretinogramm-Studien ein signifikanter Unterschied bei den jeweiligen Differenzen der oszillatorischen Potentiale vor und während (ERG 1 zu ERG 2) sowie vor und nach (ERG 1 zu ERG 3, ERG 1 zu ERG 4) der transokularen Gleichstromstimulation vorliegt.

Stromart	Welle	p-Wert Mann-Whitney-U-Test		
		ERG 1–ERG 2	ERG 1–ERG 3	ERG 1–ERG 4
kathodal	P1	0,835	0,766	0,766
	P2	0,168	0,737	0,390
	P3	0,020	0,246	0,478
anodal	P1	0,748	0,502	0,970
	P2	0,439	0,246	0,433
	P3	0,865	0,911	1,000
sham	P1	0,375	0,911	0,882
	P2	0,835	0,331	0,941
	P3	0,018	0,089	0,132

7.4 Diskussion

In der in diesem Kapitel vorgestellten Vollfeld-ERG-Studie wurden die akuten Auswirkungen und Nacheffekte einer transokularen DCS zwischen Auge und visuellem Cortex auf die charakteristischen Wellen des Vollfeld-ERGs und dessen OPs untersucht. Beim Vergleich innerhalb der Stromstimulationsgruppen als auch zwischen den Gruppen wurden keine akuten Stromstimulationseffekte auf die Amplituden- oder Latenzwerte nachgewiesen. Auch beim Vergleich der Werte vor und nach der transokularen DCS wurden keine Unterschiede bezüglich der charakteristischen Wellen und OPs gefunden. Des Weiteren wurde zwischen den beiden im Rahmen der Dissertation durchgeführten Vollfeld-ERG-Studien (Unterschied in der Positionierung der Stromstimulationsgegenelektrode) kein signifikanter Unterschied in Bezug auf die Wirkung der transokularen DCS auf

7 Studie 3: Einfluss der transokularen Gleichstromstimulation zwischen Auge und visuellem Cortex auf das Vollfeld-Elektroretinogramm

das Vollfeld-ERG ermittelt.

Aus den Ergebnissen der Studie lässt sich schlussfolgern, dass die untersuchten Pre-Ganglienzellen (Zapfen, Bipolarzellen und Amakrinzellen) durch die transokulare DCS nicht in ihrer elektrophysiologischen Aktivität beeinflusst wurden. Damit wurde die Aussage $g(t)_{Strom} = 0$ für $u(t)_{Strom} \neq 0$ aus der vorangegangenen Vollfeld-ERG-Studie bestätigt. Beide Studien unterscheiden sich nur in der Elektrodenposition der Stromstimulationsgegenelektrode (Studie 1: ipsilaterale Schläfe, Studie 2: Oz) und damit im generierten elektrischen Feld der Stromstimulation. In beiden Studien wurde kein akuter und kein Nacheffekt der transokularen DCS auf die charakteristischen Wellen des Vollfeld-ERGs sowie auf die OPs nachgewiesen.

Beim Vergleich beider Vollfeld-ERG-Studien wurde sowohl für die charakteristischen Wellen des Vollfeld-ERGs (a-, b'- und b-Welle) als auch für die charakteristischen Wellen der OPs (P1, P2 und P3) kein signifikanter Unterschied festgestellt. Daraus folgt, dass die durchgeführte Variation von $u(t)_{Strom}$ keinen signifikanten Einfluss auf die elektrophysiologische Beeinflussbarkeit der untersuchten Pre-Ganglienzellen hat. Dadurch verstärkt sich die Annahme, dass der in der PERG-Studie nachgewiesene Stromstimulationseffekt durch eine Beeinflussung der Ganglienzellen und nicht der Pre-Ganglienzellen entstanden ist.

Die vorliegende Studie wurde im Jahr 2020 designt und im Februar und März 2021 durchgeführt. In Simulationen, die von Hunold 2021 veröffentlicht wurden [84], wurden verschiedene transokulare Elektrodensetups untersucht. Innerhalb dieser Simulationen wurden auch zwei Elektrodenkonfigurationen verglichen, die zu denen in den beiden Vollfeld-ERG-Studien ähnlich waren. In diesen Simulationen ergab sich bei der transokularen Stimulation kein Unterschied für die Richtung und die Amplitude des generierten elektrischen Feldes bei Stimulation zwischen Auge und ipsilateraler Schläfe und Stimulation zwischen Auge und visuellem Cortex [84]. Das experimentelle Ergebnis der in diesem Kapitel vorgestellten Studie stimmt somit mit den simulierten Ergebnissen von Hunold 2021 überein. Aus den Simulationen geht jedoch auch hervor, dass für eine andere elektrische Feldorientierung neue Elektrodensetups entwickelt werden müssen bei denen

7 Studie 3: Einfluss der transokularen Gleichstromstimulation zwischen Auge und visuellem Cortex auf das Vollfeld-Elektroretinogramm

beide notwendigen Stromstimulationselektroden um das Auge angeordnet sind. Für zukünftige Studien ist dies von Interesse, um zu überprüfen, ob mit einer anderen Feldorientierung die Pre-Ganglienzellen in ihrer elektrophysiologischen Aktivität beeinflusst werden.

In der Grand-Mean-Darstellung der gemessenen Vollfeld-ERG-Messungen (Abbildung 7.3) ist nach einer Latenz von etwa 100ms (wie bereits in der vorangegangenen Vollfeld-ERG-Studie) die modifizierte PhNR-Welle (nicht nach ISCEV-Standard aufgenommen) sichtbar. Diese zeigt auch hier bei der kathodalen Stromstimulationsgruppe eine deutliche Erhöhung der Amplitude während der transokularen DCS im Vergleich zu davor. Dagegen sind in der anodalen und in der sham Stromstimulationsgruppe leichte Verringerung der Amplitude erkennbar. Somit verstärkt sich der Hinweis, dass die PhNR-Amplitude, die eine Summenantwort elektrophysiologischer Ganglienzellaktivität darstellt, durch die transokulare DCS polaritätsabhängig beeinflussbar ist. Jedoch lag auch in dieser Vollfeld-ERG-Studie die PhNR-Welle nur in modifizierter Form vor. Zugunsten der statistischen Auswertung der Nebenziele dieser Studie wurde auch hier auf eine statistische Analyse der modifizierten PhNR-Welle verzichtet. Eine Studie, in der die PhNR-Welle nach ISCEV-Standard [5] aufgenommen wird und auf ihre Beeinflussbarkeit durch eine simultan durchgeführte transokulare DCS untersucht wird, ist aufgrund der sichtbaren Trends für zukünftige Arbeiten von Interesse. Sollte sich der Hinweis aus den beiden Vollfeld-ERG-Studien bestätigen, können reproduzierbar die Ganglienzellen durch eine transokulare DCS beeinflusst werden. Des Weiteren sind durch die Untersuchung der PhNR-Welle Aussagen über die Polaritätsabhängigkeit des Stromstimulationseffekts möglich. Dies gibt Aufschluss darüber, ob die Polaritätsunabhängigkeit des Stromstimulationseffekts in der PERG-Studie methodenbedingt war.

Die in diesem Kapitel vorgestellte Vollfeld-ERG-Studie ist durch die Anzahl der Probanden und die Stromstimulationsparameter limitiert. Bei der Studie wurde von einer Effektstärke nach Cohen von $d = 0,7$ sowie einem Signifikanzniveau von $\alpha = 0,05$ ausgegangen. Bei der untersuchten Anzahl von 17 Probanden hat die Studie eine Power von 97%. Um kleinere Effektstärken signifikant nachweisen zu können, müsste eine höhere Anzahl von Probanden untersucht werden. Allerdings

7 Studie 3: Einfluss der transokularen Gleichstromstimulation zwischen Auge und visuellem Cortex auf das Vollfeld-Elektroretinogramm

zeigen die berechneten Effektstärken der a-, b'- und b-Welle Werte $\leq 0,21$. Dies ist ein Hinweis darauf, dass kein Stromstimulationseffekt vorliegt.

In der in diesem Kapitel vorgestellten Vollfeld-ERG-Studie wurden zwei ERG-Messungen nach Beendigung der Stromstimulation zur Überprüfung der Nacheffekte durchgeführt. In der vorangegangenen Vollfeld-ERG-Studie waren zwei weitere ERG-Messungen (eine 10 min und eine weitere 15 min nach Beendigung der transokularen DCS) aufgenommen worden. Diese Minimierung der ERG-Messung war aufgrund der epidemiologischen Situation im Jahr 2021 notwendig, um die Zeit der Studie ohne Lüftungspause auf 20 min zu begrenzen. Aufgrund dessen sind keine Aussagen möglich, ob zu einem späteren Zeitpunkt ein Nacheffekt der Stromstimulation eingetreten wäre.

Für die transokuläre DCS wurden die Probanden mit $800 \mu\text{A}$ über 5 min zwischen Auge und visuellem Cortex stimuliert. Andere Stromstimulationsparameter können andere Effekte bewirken [124].

Zusammenfassend lässt sich schlussfolgern, dass die Umpositionierung der Stromstimulationsgegenelektrode an den visuellen Cortex keinen Einfluss auf die Wirkung der transokularen DCS auf die Pre-Ganglienzellen hatte. Dadurch verstärkt sich der Hinweis, dass die transokuläre DCS eine Wirkung auf retinalen Ganglienzellen, aber keinen Einfluss auf Pre-Ganglienzellen hat. Für zukünftige Arbeiten ist die Untersuchung der PhNR-Welle von Interesse, um zum einen die bisherigen Ergebnisse auf ihre Reproduzierbarkeit zu untersuchen und zum anderen den Zusammenhang des Stromstimulationseffekts bezüglich der Strompolarität tiefgreifender zu erforschen.

8 Studie 4: Einfluss der transokularen Gleichstromstimulation auf die photopic negative response Welle

8.1 Einleitung

In den drei vorangegangenen ERG-Studien ergaben sich Hinweise darauf, dass die retinalen Ganglienzellen in ihrer elektrophysiologischen Aktivität während der transokularen DCS beeinflussbar sind. In den beiden vorangegangenen Vollfeld-ERG-Studien wurden Hinweise darauf gefunden, dass die PhNR-Welle des Vollfeld-ERGs, das eine Summenantwort der Ganglienzellaktivität darstellt, polaritätsabhängig während einer transokularen DCS beeinflussbar ist. Daraus ergab sich die Studienfrage, ob die PhNR-Welle, wenn sie mit optimierten Stimulationsparametern aufgenommen wird, polaritätsabhängig durch eine transokulare DCS beeinflussbar ist. Durch diese Studie ist es möglich zu prüfen, ob die Beeinflussbarkeit der retinalen Ganglienzellen durch eine transokulare DCS reproduziert werden kann und damit eine Überprüfung der Hypothese $g(t)_{Strom} \neq 0$ bei $u(t)_{Strom} \neq 0$ für diese Zellen möglich ist. Des Weiteren ist eine Beurteilung der vermuteten methodenbedingten Polaritätsunabhängigkeit des bisher nachgewiesenen Stromstimulationseffekts möglich.

Einige Ergebnisse dieses Kapitels der Dissertation wurden bereits in einem Fachjournal veröffentlicht [132].

8.2 Material und Methoden

8.2.1 Mess- und Stimulationsplatz

Für diese Studie wurde der Mess- und Stimulationsplatz aus den beiden vorangegangenen Vollfeld-ERG-Studie (Unterabschnitt 6.2.1) verwendet. Das verwendete kommerzielle Vollfeldstimulationssystem ermöglichte die Durchführung chromatischer visueller Stimulationen. Das Verstärkersystem und das Stromstimulationssystem waren ebenfalls identisch zu den Systemen in den beiden Vollfeld-ERG-Studien. Für eine bessere Vergleichbarkeit mit dem bereits nachgewiesenen Stromstimulationseffekt aus der PERG-Studie, wurde die Stromstimulationsgegenelektrode an der ipsilateralen Schläfe positioniert.

8.2.2 Stimulationsparameter und Studiendesign

Für das Eingangssignal der visuellen Stimulation $u(t)_{visuell}$ wurden die Parameter an eine chromatische visuelle Stimulation zur optimalen Generierung der PhNR-Welle gemäß ISCEV-Standard angepasst [5]. Die nachfolgenden Parameterangaben stammen aus dem Datenblatt des visuellen Stimulationssystems. Für die Hintergrundbeleuchtung wurde ein blauer Hintergrund mit einer Wellenlänge von 455 nm und einer Leuchtdichte von 10 cd/m² verwendet. Als visueller Stimulus diente ein roter Blitz mit einer Wellenlänge von 625 nm und einer Leuchtdichte von 1,505 cds/m² bei einer Stimulationsdauer von ≤ 5 ms. Der visuelle Stimulus wurde mit einer Wiederholrate von 2 Hz appliziert [133].

Insgesamt wurden für jede ERG-Messung 250 Sweeps aufgenommen. Der Untersuchungsraum wurde während einer Messung abgedunkelt und zwischen den Messungen wieder beleuchtet, um Ermüdungserscheinungen der Probanden zu vermindern.

Um eine Vergleichbarkeit zu den Vollfeld-ERG-Studien zu gewährleisten und näher an die in klinischen Studien verwendeten Stromstärken heranzukommen [16,82,94] wurde die transokulare DCS mit einer Stromstärke von 800 μ A durchgeführt.

Insgesamt nahmen an dieser Studie 17 gesunde Probanden ($25,2 \pm 3,1$ Jahre,

8 Studie 4: Einfluss der transokularen Gleichstromstimulation auf die photopic negative response Welle

9 weiblich, 8 männlich) teil. Das Studiendesign und der Studienablauf entsprechen dem Design und Ablauf der ersten im Rahmen der Dissertation durchgeführten Vollfeld-ERG-Studie (Siehe Unterabschnitt 6.2.3).

8.2.3 Signalverarbeitung

Die Signalverarbeitung wurde gemäß Abschnitt 4.4 durchgeführt. Der Artefaktgrenzwert wurde auf $100 \mu\text{V}$ festgelegt. Als Template für die Korrelationsberechnung wurde der Mittelwert über alle Sweeps bestimmt, die nach der Artefaktbereinigung noch berücksichtigt wurden. Die Anzahl notwendiger Sweeps für das Averaging wurde auf 200 festgelegt. Für die Auswertung des ERG wurden die charakteristischen Wellen gemäß ISCEV bestimmt [4,5]. Die PhNR-Amplitude wurde als das Minimum zwischen 55 ms und 85 ms nach Applikation des Lichtblitzes definiert. Die Amplitudenhöhe wurde vom Nullpotential als BT-Amplitude gemessen [5]. Zusätzlich zur PhNR-Welle wurden die a-, die b'- und die b-Welle des Vollfeld-ERGs gemäß den Definitionen aus dem Unterabschnitt 6.2.4 bestimmt.

Die Signalverarbeitung zur Auswertung der OPs wurde gemäß Abschnitt 4.4 durchgeführt. Aus der Studie von Rangaswamy et al. (2007) [78] ist bekannt, dass auch für Vollfeld-ERGs, die mit einem roten Blitz auf einem blauen Hintergrund ausgelöst werden, OPs auftreten. Die Amplituden sind aber deutlich kleiner als bei einer Vollfeldstimulation mit einem weißen Blitz. Daher wurde für die OPs-Analyse zunächst das SNR berechnet, um zu bewerten, ob eine Detektion der OPs-Wellen überhaupt möglich ist. Das SNR wurde über den quadratischen Mittelwert (*root-mean-square*, rms) nach:

$$SNR_{dB} = 10 \lg \frac{\text{rms}(ERG(i))^2}{\text{rms}(ERG(j))^2} \quad (2)$$

geschätzt [65]. Der Parameter i beschreibt den Zeitbereich zwischen 0 ms und 50 ms, in dem die OPs auftreten sollten, während j den Zeitbereich zwischen 50 ms und 100 ms charakterisiert, in dem keine OPs mehr zu finden sein sollten.

8.2.4 Statistische Auswertung

In dieser Studie lagen sowohl beim Vergleich innerhalb einer Stromstimulationsgruppe als auch beim Vergleich der Gruppen verbundene Stichproben vor.

Das Hauptziel der Studie war die Identifikation akuter Stromstimulationseffekte der transokularen DCS auf die Amplitude der PhNR-Welle. Primär wurde die Differenz der Amplitudenwerte der ERG 1- und der ERG 2-Messung innerhalb einer Stromstimulationsgruppe untersucht. Die Annahme der Normalverteilung der Daten wurde bestätigt, weshalb für die statistische Auswertung ein parametrisches Testverfahren gewählt wurde. In diesem Fall wurde der t-Test für verbundene Stichproben inklusive Konfidenzintervallanalyse angewendet. Aufgrund des Mehrfachtestproblems war eine Bonferroni-Korrektur mit dem Faktor drei notwendig, woraufhin sich ein adjustierter Signifikanzwert von $p^* \leq 0,0167$ ergab.

Das sekundäre Ziel der Studie war die Analyse, ob in Bezug auf die PhNR-Welle zwischen den Stromstimulationsgruppen ein signifikanter Unterschied in der Differenz zwischen der ERG 1- und der ERG 2-Messung vorliegt. Hierfür wurde eine ANOVA mit Messwiederholung in Bezug auf die Differenzwerte angewendet ($p^* \leq 0,05$). Als Post-hoc-Test wurde der t-Test für verbundene Stichproben genutzt ($p^* \leq 0,0167$ nach Bonferroni-Korrektur).

Das Nebenziel der Studie war die Untersuchung der Latenzveränderungen über alle ERG-Messungen und die Analyse der Nacheffekte der transokularen DCS auf die PhNR-Amplitude. Die Ergebnisse der vorangegangenen ERG-Studien gaben keine Hinweise auf einen Stromstimulationseffekt der transokularen DCS auf die Latenzen. Aufgrund dessen wurde zugunsten einer geringeren Bonferroni-Korrektur bei der Auswertung der Nacheffekte auf die Amplitudenwerte die Auswertung der Latenzdifferenzen nur mittels einer Datenverteilungsanalyse durchgeführt. Die Normalverteilung der Daten der Nacheffekte auf die Amplitudenwerte wurde nicht für alle ERG-Messungen angenommen. Daher wurde der Friedman-Test zwischen der ERG 1-, ERG 3-, ERG 4-, ERG 5- und ERG 6-Messung angewendet ($p^* \leq 0,006$). Als Post-hoc-Test wurde der Wilcoxon-Test bei der Analyse der

8 Studie 4: Einfluss der transokularen Gleichstromstimulation auf die photopic negative response Welle

ERG 1-Messung zu den vier ERG-Messungen nach Beendigung der transokularen DCS angewendet (ERG 3–ERG 6; $p^* \leq 0,004$). Zudem wurde mittels Friedman-Tests untersucht, ob ein signifikanter Unterschied zwischen den Stromstimulationsgruppen bei den ERG-Messungen 1, 3, 4, 5 und 6 vorliegt ($p^* \leq 0,006$).

Neben der PhNR-Welle wurden auch die charakteristischen a-, b'- und b-Wellen des Vollfeld-ERGs analysiert. Aufgrund der beiden vorangegangenen Vollfeld-ERG-Studien wurde die Hypothese aufgestellt, dass kein signifikanter Stromstimulationseffekt der transokularen DCS auf diese Wellen vorliegt. Zur Überprüfung dieser Hypothese wurden die Amplitudenwerte der genannten charakteristischen Wellen mittels Datenverteilungsanalysen auf einen akuten Effekt der transokularen DCS untersucht. Auf die Überprüfung von Stromstimulationseffekten auf die Latenzen wurde aufgrund der vorangegangenen Studienergebnisse, dass Latenzen nicht durch eine transokulare DCS beeinflusst werden, verzichtet.

8.3 Ergebnisse

8.3.1 Akute Stromstimulationseffekte auf die PhNR-Amplitude

Bei allen 17 Probanden konnten die ERG-Messungen des primären Studienziels (ERG 1- und ERG 2-Messung) und bei 16 Probanden konnten alle durchgeführten ERG-Messungen (ERG 1–ERG 6) ausgewertet werden. Bei einem Probanden konnten die ERG-Messungen 4, 5 und 6 der sham Stromstimulationsgruppe aufgrund eines Gerätebedienfehlers nicht ausgewertet werden. In Tabelle 8.1 sind die mittleren Amplituden- und Latenzwerte der PhNR-Welle für die ERG-Messungen vor (ERG 1) und während (ERG 2) der transokularen DCS zusammengefasst.

In Abbildung 8.1 sind die Grand-Mean-Signale der ERG 1- und ERG 2-Messungen aller drei Stromstimulationsgruppen inklusive des Standardfehlers des Mittelwerts zu sehen. Für die kathodale Stromstimulationsgruppe ist eine Erhöhung der PhNR-Amplitude während der transokularen DCS im Vergleich zur ERG-Messung vor der Stromstimulation erkennbar. Die anodale Stromstimulationsgruppe zeigt

8 Studie 4: Einfluss der transokularen Gleichstromstimulation auf die photopic negative response Welle

dagegen eine Verminderung der PhNR-Amplitude, wobei der Effekt schwächer ausgeprägt ist als in der kathodalen Stromstimulationsgruppe. Bei der sham Stromstimulationsgruppe ist ebenfalls eine leichte Verminderung der PhNR-Amplitude zu beobachten, wobei dieser Effekt schwach ausgeprägt ist. Für die PhNR-Latenzen wurde kein Hinweis auf einen akuten Stromstimulationseffekt der transokularen DCS gefunden.

Tabelle 8.1: Mittelwert und Standardabweichung für die photopic negative response Amplitude und Latenz in den drei Stromstimulationsgruppen (kathodale Polarität, anodale Polarität und sham Stromstimulation) für die Elektroretinogrammmessungen vor (ERG 1) und während (ERG 2) der transokularen Gleichstromstimulation.

Stromart	Messung	PhNR-Welle	
		Amplitude (μV)	Latenz (ms)
kathodal	ERG 1	$-11,29 \pm 2,88$	$68,71 \pm 5,21$
	ERG 2	$-12,52 \pm 3,07$	$69,00 \pm 5,42$
anodal	ERG 1	$-11,86 \pm 3,31$	$68,03 \pm 4,12$
	ERG 2	$-11,08 \pm 3,02$	$69,12 \pm 4,93$
sham	ERG 1	$-12,08 \pm 3,67$	$69,09 \pm 5,21$
	ERG 2	$-11,71 \pm 3,43$	$68,62 \pm 4,80$

Die Datenverteilung inklusive der berechneten Konfidenzintervalle (Ergebnis des t-Tests für verbundene Stichproben) der Differenzen zwischen der ERG 1- und der ERG 2-Messung in allen drei Stromstimulationsgruppen ist in Abbildung 8.2 dargestellt.

Die kathodale Stromstimulationsgruppe zeigt im Mittel eine deutliche Erhöhung der PhNR-Amplitude um $1,23 \pm 1,60 \mu\text{V}$ von der ERG 1- zur ERG 2-Messung, was einer Änderung von 10,9% entspricht. Der t-Test für verbundene Stichproben inklusive des berechneten Konfidenzintervalls ergab einen signifikanten Unterschied zwischen den beiden ERG-Messungen für die kathodale Stromstimulationsgruppe ($p^* \leq 0,0167$; $p_{kathodal} = 0,006^*$; $[0,20\mu\text{V}; 2,27\mu\text{V}]^*$). Die Effektstärke nach Cohen ist $d = 0,77$.

8 Studie 4: Einfluss der transokularen Gleichstromstimulation auf die photopic negative response Welle

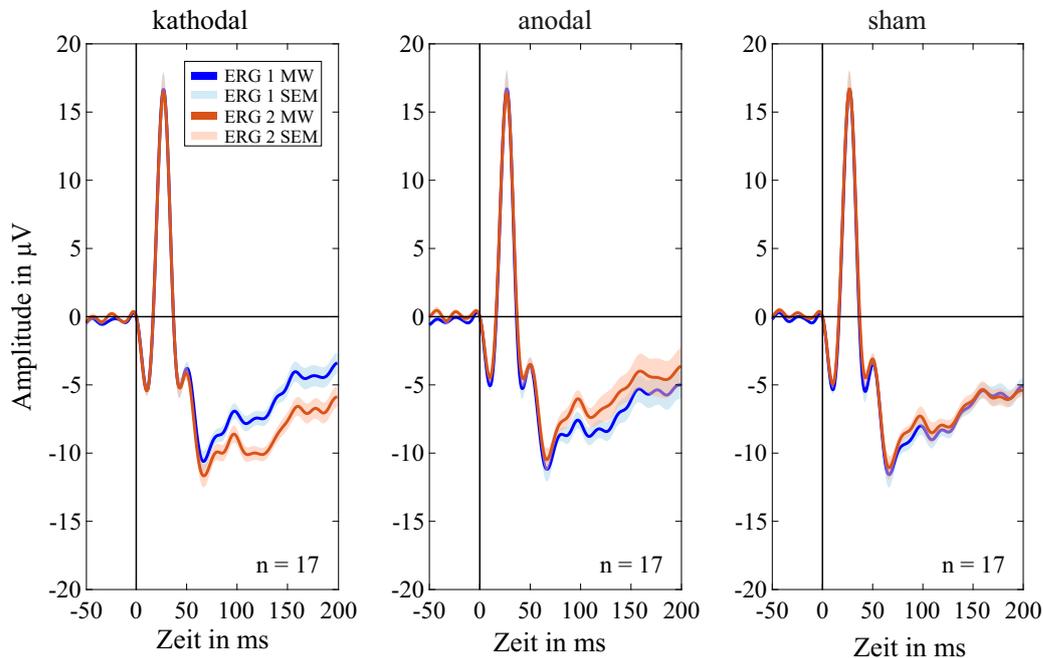


Abbildung 8.1: Über alle Probanden gemittelte Elektroretinogramme zu den Messzeitpunkten vor (ERG 1) und während (ERG 2) der transokularen Gleichstromstimulation in allen drei Stromstimulationsgruppen (kathodale Polarität, anodale Polarität und sham Stromstimulation). *MW*: Mittelwert, *SEM*: Standardfehler des Mittelwerts.

In der anodalen und sham Stromstimulationsgruppe zeigt die Datenverteilungsdarstellung jeweils eine Verringerung der PhNR-Amplitude, die jedoch in der anodalen Stromstimulationsgruppe größer ausgeprägt ist. Die mittlere PhNR-Amplitude änderte sich in der anodalen Stromstimulationsgruppe um $-0,78 \pm 1,40 \mu\text{V}$ (-6,6%) und in der sham Stromstimulationsgruppe um $-0,37 \pm 1,25 \mu\text{V}$ (-3%). Der t-Test für verbundene Stichproben führte zu keinem signifikanten Unterschied zwischen der ERG 1- und ERG 2-Messung in der anodalen und sham Stromstimulationsgruppe ($p^* \leq 0,0167$; anodal: $p_{anodal} = 0,036$, $[-1,69 \mu\text{V}; 0,13 \mu\text{V}]$; sham: $p_{sham} = 0,246$, $[-1,18 \mu\text{V}; 0,45 \mu\text{V}]$). Die Effektstärke liegt in der anodalen Stromstimulationsgruppe bei $d = 0,55$ und in der sham Stromstimulationsgruppe bei $d = 0,29$.

Das sekundäre Studienziel war die Analyse, ob zwischen den Stromstimulationsgruppen in Bezug auf die Amplitudendifferenz der PhNR-Welle zwischen der ERG 1- und der ERG 2-Messung ein signifikanter Unterschied vorliegt. Die ANO-

8 Studie 4: Einfluss der transokularen Gleichstromstimulation auf die photopic negative response Welle

VA mit Messwiederholung ergab einen signifikanten Unterschied zwischen den drei Stromstimulationsgruppen ($p^* \leq 0,05$; $p = 0,001^*$). Der Post-hoc-Test ergab einen signifikanten Unterschied zwischen der kathodalen und der anodalen sowie zwischen der kathodalen und der sham Stromstimulationsgruppe ($p^* \leq 0,0167$; $p_{kathodal - anodal} = 0,002^*$, $p_{kathodal - sham} = 0,011^*$, $p_{anodal - sham} = 0,305$).

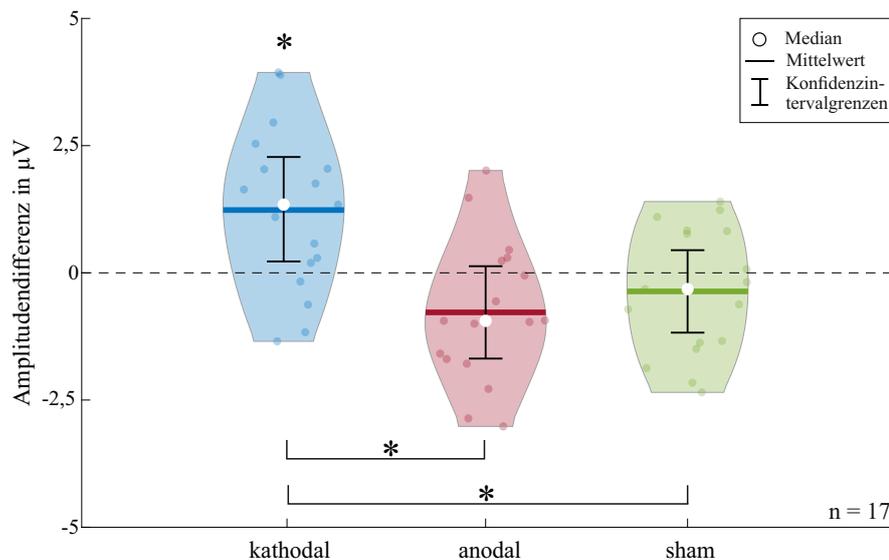


Abbildung 8.2: Violin plots inklusive der Konfidenzintervalle (t-Test für verbundene Stichproben innerhalb einer Stromstimulationsgruppe, $p^* \leq 0,0167$) zur Darstellung der Datenverteilung der photopic negative response Amplitudendifferenz zwischen der Elektroretinogrammmessung vor und während der transokularen Gleichstromstimulation. Für den Vergleich zwischen den Stromstimulationsgruppen wurde eine ANOVA mit Messwiederholung und als Post-hoc-Test wurde der t-Test für verbundene Stichproben verwendet ($\alpha = 0,05$). Signifikante Ergebnisse sind mit * gekennzeichnet.

8.3.2 Nacheffekte auf die PhNR-Amplituden

Ein Nebenziel der Studie war die Untersuchung der Nacheffekte der transokularen DCS auf die Amplitudenwerte der PhNR-Welle. Abbildung 8.3 zeigt die Datenverteilung der Amplitudenwerte vor (ERG 1) und nach (ERG 3–ERG 6) der transokularen DCS. In allen drei Stromstimulationsgruppen ist ein Trend zu kleineren Amplitudenwerten nach Beendigung der transokularen DCS erkennbar.

8 Studie 4: Einfluss der transokularen Gleichstromstimulation auf die photopic negative response Welle

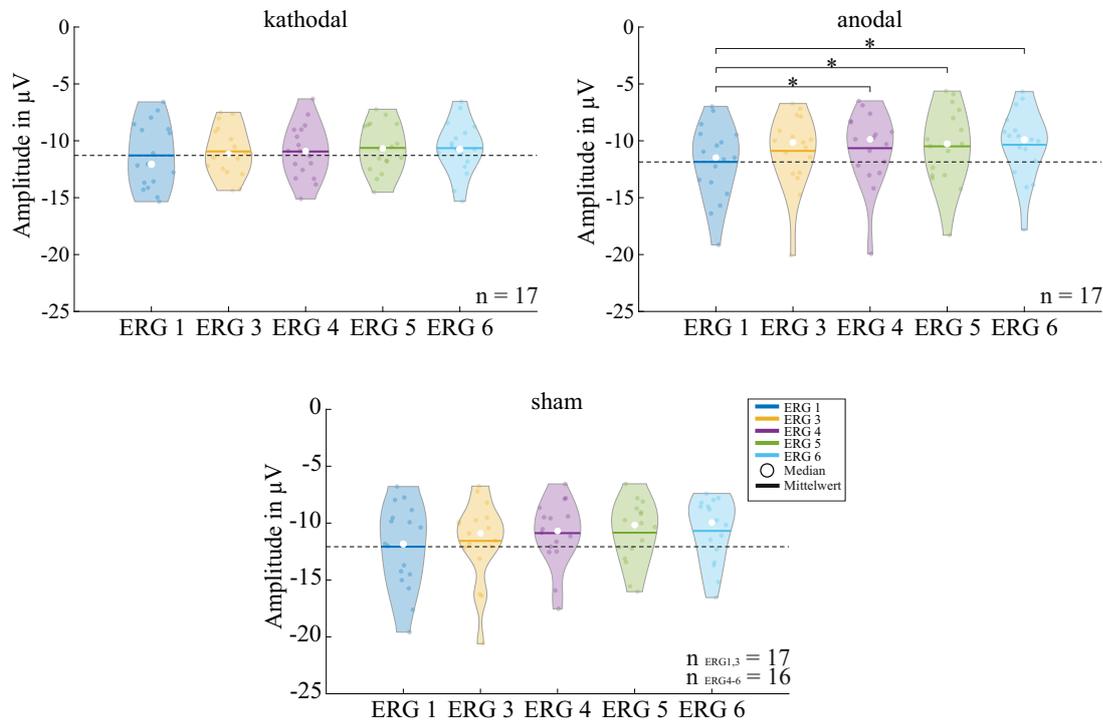


Abbildung 8.3: Violin plots zur Darstellung der Datenverteilung der gemessenen photopic negative response Amplitudenwerte für die gemessenen Elektretinogramme vor (ERG 1) und nach (ERG 3–ERG 6) der transokularen Gleichstromstimulation. Die violin plots der kathodale und der anodale Stromstimulationsgruppe enthalten jeweils 17 Probandenmessungen. Die ERG 1- und die ERG 3-Messungen der sham Stromstimulationsgruppe umfassen ebenfalls 17 Probandenmessungen. Bei den ERG-Messungen 4, 5 und 6 der sham Stromstimulationsgruppe konnten aufgrund eines Gerätebedienfehlers jeweils nur die Werte von 16 Probanden verwendet werden. Signifikante Unterschiede zwischen den Amplitudenwerten nach dem Friedman-Test und dem zugehörigen Post-hoc-Test sind mit * gekennzeichnet ($\alpha = 0,05$).

Der Friedman-Test zwischen den ERG-Messungen 1, 3, 4, 5 und 6 ergab einen signifikanten Unterschied innerhalb der anodalen Stromstimulationsgruppe ($p^* \leq 0,006$; $p_{anodal} = 0,001^*$, $p_{kathodal} = 0,079$, $p_{sham} = 0,272$). Bei den nachfolgende Post-hoc-Wilcoxon-Tests zwischen der ERG 1-Messung und den jeweiligen Messungen nach Beendigung der transokularen DCS zeigten sich signifikante Unterschiede beim Vergleich der ERG 1- mit der ERG 4-, ERG 5- und ERG 6-Messung ($p^* \leq 0,004$; $p_{ERG1-ERG3} = 0,011$, $p_{ERG1-ERG4} = 0,002^*$, $p_{ERG1-ERG5} = 0,004^*$, $p_{ERG1-ERG6} = 0,000^*$). Die Effektstärken betragen $d_{ERG1-ERG3} = 0,30$, $d_{ERG1-ERG4} = 0,37$, $d_{ERG1-ERG5} = 0,41$, $d_{ERG1-ERG6} = 0,47$. Allerdings wurde kein signifikanter Unterschied zwischen den

8 Studie 4: Einfluss der transokularen Gleichstromstimulation auf die photopic negative response Welle

drei Stromstimulationsgruppen nachgewiesen. Somit gab es kein Unterschied zwischen einer realen transokularen DCS und einer sham Stromstimulation in Bezug auf die Amplitudennacheffekte ($p^* \leq 0,006$; $p_{ERG1} = 0,589$, $p_{ERG3} = 0,161$, $p_{ERG4} = 0,269$, $p_{ERG5} = 0,305$, $p_{ERG6} = 0,305$).

8.3.3 PhNR-Latenzen

Da die Latenzen in den vorangegangenen ERG-Studien nicht durch eine transokulare DCS beeinflusst wurden, wurden die akuten Auswirkungen und Nacheffekte der transokularen DCS auf die Latenzen zugunsten einer geringeren Bonferroni-Korrektur bei den anderen Studienzielen nur mittels einer Datenverteilungsanalyse ausgewertet. Zur Überprüfung eines akuten Stromstimulationseffekts wurde wie bei den Amplitudenwerten die Differenz zwischen der ERG 1- und der ERG 2-Messung analysiert. Wie Abbildung 8.4 zu entnehmen ist, zeigen die Mediane und die Mittelwerte nur geringe Abweichungen von der Nulldifferenz.

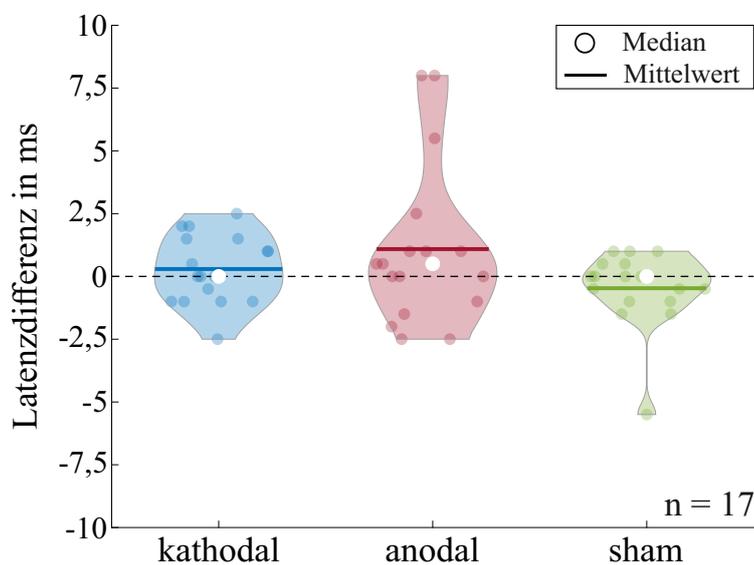


Abbildung 8.4: Violin plots zu Darstellung der Datenverteilung der Latenzdifferenz der photopic negative response Welle zwischen den Elektroretinogrammmessungen vor und während der transokularen Gleichstromstimulation.

8 Studie 4: Einfluss der transokularen Gleichstromstimulation auf die photopic negative response Welle

Im Mittel liegt die Differenz in der kathodalen Stromstimulationsgruppe bei $0,29 \pm 1,37$ ms und in der sham Stromstimulationsgruppe bei $-0,47 \pm 1,53$ ms. Die anodale Stromstimulationsgruppe zeigt eine mittlere Latenzveränderung von $1,08 \pm 3,24$ ms. Diese entstand vor allem durch zwei Ausreißer mit einer Latenzveränderung von jeweils 8 ms. Werden diese aus der Analyse herausgenommen, entsteht eine Veränderung von $0,17 \pm 2,06$ ms. Aus der Datenverteilung ist kein akuter Stromstimulationseffekt auf die Latenzen der PhNR-Welle erkennbar.

Zur Analyse von Nacheffekten der transokularen DCS auf die Latenzen der PhNR-Welle wurde eine Datenverteilungsanalyse der absoluten Messwerte der ERG-Messungen 1, 3, 4, 5 und 6 durchgeführt. Sie ist in Abbildung A.1 im Anhang dargestellt. Auch hier sind keine Hinweise auf einen Stromstimulationseffekt der transokularen DCS auf die Latenzen der PhNR-Welle nach Beendigung der Stromstimulation erkennbar.

8.3.4 Vollfeld-ERG-Wellen

Abbildung 8.5 zeigt die Datenverteilung der Amplitudendifferenz zwischen der ERG 1- und der ERG 2-Messung für die charakteristische a-, b'- und b-Welle. Die Mediane und Mittelwerte der drei Stromstimulationsgruppen und charakteristischen Wellen schwanken leicht um die Nulldifferenz.

Die a-Wellen-Amplitude in der kathodalen Stromstimulationsgruppe erhöhte sich im Mittel um $0,04 \pm 0,70$ μ V (0,7%), bei der b'-Wellen-Amplitude betrug die Änderung $-0,23 \pm 1,38$ μ V (-1,4%) und um $-0,20 \pm 1,39$ μ V (-0,9%) veränderte sich die Amplitude der b-Welle. In der anodalen Stromstimulationsgruppe ergaben sich Amplitudenverringernungen um $-0,51 \pm 0,97$ μ V (-10,0%) für die a-Welle, um $-0,32 \pm 1,45$ μ V (-1,9%) für die b'-Welle und um $-0,83 \pm 2,01$ μ V (-3,7%) für die b-Welle. Innerhalb der sham Stromstimulationsgruppe änderte sich die a-Welle um $-0,41 \pm 0,62$ μ V (-7,5%), die b'-Welle um $-0,09 \pm 1,36$ μ V (-0,5%) und die b-Welle um $-0,32 \pm 1,26$ μ V (-1,4%).

8 Studie 4: Einfluss der transokularen Gleichstromstimulation auf die photopic negative response Welle

In der Abbildung 8.5 ist erkennbar, dass die auffällig große prozentuale Änderung der a-Wellen-Amplitude der anodalen Stromstimulationsgruppe durch einen Ausreißer entsteht, der auch in der b-Wellen-Amplitude sichtbar ist. Nimmt man diesen aus der Auswertung der anodalen Stromstimulationsgruppe heraus verringert sich die a-Wellen-Amplitude im Mittel um $-0,34 \pm 0,65 \mu\text{V}$ (-6,5 %) und die b-Wellen-Amplitude um $-0,58 \pm 1,49 \mu\text{V}$ (-2,6 %).

Anhand der Datenverteilung konnte kein Trend zu einem akuten Stromstimulationseffekt auf die a-, b'- und b-Welle nachgewiesen werden.

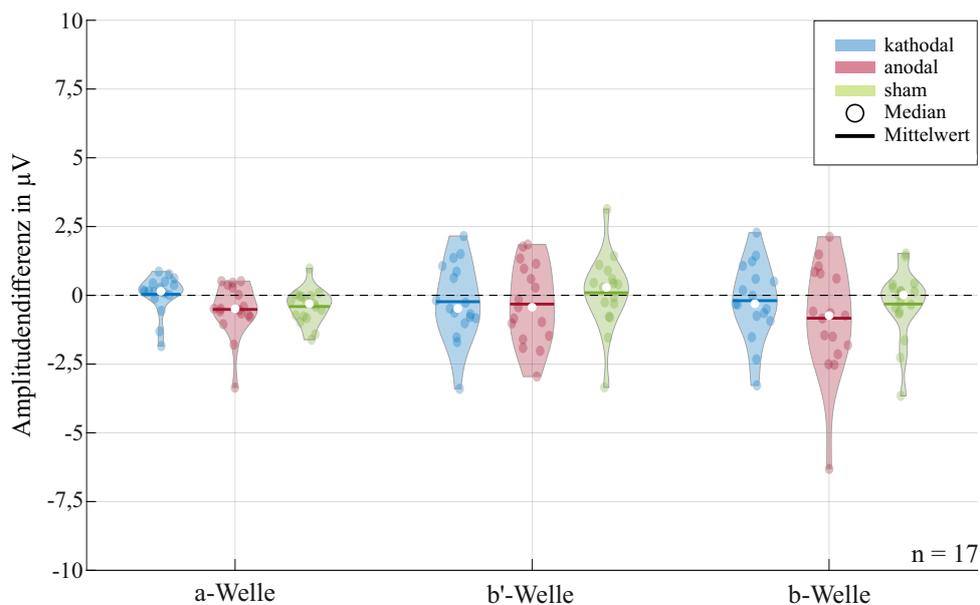


Abbildung 8.5: Violin plots zur Darstellung der Datenverteilung der photopic negative response Amplitudendifferenz zwischen den Elektroretinogrammmessungen vor und während der transokularen Gleichstromstimulation hinsichtlich der charakteristische a-, b'- und b-Welle in den drei Stromstimulationsgruppen (kathodale Polarität, anodale Polarität und sham Stromstimulation).

8.3.5 Oszillatorische Potentiale

Im Mittel ergaben sich für die OPs während der transokularen DCS über alle Probanden folgende SNRs: $SNR_{kathodal} = 3,29$ dB, $SNR_{anodal} = 3,19$ dB und $SNR_{sham} = 7,47$ dB. Wie im Unterabschnitt 2.2.2 beschrieben wurde, werden mindestens 10 dB für eine sichere Signaldetektion benötigt [65]. Die SNRs der OPs reichten demnach nicht aus, um sichere Amplitudendetektionen in den gemessenen Signalen durchzuführen. Die Analyse der OPs wurde folglich in dieser Studie nicht durchgeführt.

8.4 Diskussion

In der vorgestellten PhNR-ERG-Studie wurden die akuten Auswirkungen und die Nacheffekte einer transokularen DCS auf die PhNR-Welle des Vollfeld-ERGs untersucht. Hierbei wurde ein polaritätsabhängiger signifikanter Stromstimulationseffekt auf die PhNR-Amplitude während der transokularen DCS nachgewiesen. Die kathodale Stromstimulation führte zu einer signifikanten PhNR-Amplitudenerhöhung, die signifikant unterschiedlich zu den Werten in der anodalen und der sham Stromstimulationsgruppe war. Die PhNR-Latenzen sowie die Amplituden der charakteristischen a-, b'-, b-Wellen des Vollfeld-ERGs zeigten keinen Stromstimulationseffekt. Des Weiteren wurden keine Unterschiede zwischen einer sham transokularen DCS und einer tatsächlich durchgeführten transokularen DCS in Bezug auf die Nacheffekte beobachtet.

Die PhNR-Welle wird in ihrem Ursprung einer Summenaktivität der retinalen Ganglienzellen zugeordnet. Das PERG, das in der ersten Studie der vorliegenden Dissertation untersucht wurde (siehe Kapitel 5), stellt ebenfalls eine elektrophysiologische Antwort der retinalen Ganglienzellen dar. In der PERG-Studie wurde ein signifikanter Effekt während der kathodalen und der anodalen transokularen DCS auf die P50-Amplitude nachgewiesen. Für die PhNR-Welle wurde sowohl ein signifikanter Effekt der transokularen DCS innerhalb der kathodalen Stromstimulationsgruppe als auch zwischen der kathodalen und der anodalen sowie zwischen der kathodalen und der sham Stromstimulationsgruppe nachgewiesen. Daraus

8 Studie 4: Einfluss der transokularen Gleichstromstimulation auf die photopic negative response Welle

lässt sich schlussfolgern, dass die Beeinflussbarkeit der retinalen Ganglienzellen und damit die Aussage $g(t)_{Strom} \neq 0$ bei $u(t)_{Strom} \neq 0$, für diese retinalen Zellen, durch eine transokulare DCS reproduziert und bestätigt ist.

Aus Studien der transkraniellen DCS in Kombination mit VEP-Messungen ist bekannt, dass die VEP-Amplituden polaritätsabhängig durch die DCS beeinflusst werden [41, 43–45]. Diese Polaritätsabhängigkeit des Stromstimulationseffekts wurde in der vorliegenden PhNR-ERG-Studie bestätigt. Dies stärkt die Theorie, dass der polaritätsunabhängige Stromstimulationseffekt, der auf das PERG nachgewiesen wurde, methodenbedingt war. Um diese Theorie zu überprüfen, ist eine Separierung der elektrophysiologischen On- und Off-Ganglienzellaktivität für zukünftige Studien von Interesse.

Eine weitere Theorie für die Polaritätsunabhängigkeit des Stromstimulationseffekts der PERG-Studie ist, dass durch die transokulare DCS nicht die Ganglienzellen, sondern die Pre-Ganglienzellen beeinflusst wurden. In der PhNR-ERG-Studie wurden jedoch keine Hinweis auf eine Beeinflussbarkeit der Pre-Ganglienzellen durch die transokulare DCS nachgewiesen. Dieses Ergebnis stimmt mit den Ergebnissen der vorangegangenen Vollfeld-ERG-Studien überein. Dies stärkt die Theorie, dass die Pre-Ganglienzellen nicht durch die transokulare DCS beeinflusst werden.

Des Weiteren wurden keine Effekte der transokularen DCS auf die Latenzen nachgewiesen. Dieses Ergebnis stimmt sowohl mit den vorangegangenen Studien als auch mit den VEP-Studien überein.

In Bezug auf die Nacheffekte der transokularen DCS wurden, wie in den vorangegangenen Studien, keine signifikanten Unterschiede zwischen einer tatsächlichen transokularen DCS und einer sham Stromstimulation nachgewiesen. Aus den VEP-Studien ist bekannt, dass Nacheffekte auf die Amplituden auftreten. Allerdings wurde in diesen Studien mit längeren Stromstimulationsdauern oder größeren Stromstärken gearbeitet [41, 43–45].

8 Studie 4: Einfluss der transokularen Gleichstromstimulation auf die photopic negative response Welle

Die in diesem Kapitel vorgestellte PhNR-ERG-Studie ist limitiert durch die Anzahl der Probanden und die Stromstimulationsparameter. Die Power der kathodalen Stromstimulationsgruppe liegt bei 92% basierend auf einer Effektstärke von $d_{kathodal} = 0,77$, einer Probandenanzahl von 17 Probanden und der Verwendung eines parametrischen Testverfahrens. Um kleinere Effektstärken wie die der anodalen Stromstimulationsgruppe von $d_{anodal} = 0,55$ mit einer Power von 80% und $\alpha = 0,05$ als signifikant nachzuweisen, ist eine größere Anzahl von Probanden notwendig.

Auch für diese Studie gilt, dass die Wirkung der transokularen DCS stark vom elektrischen Feld und dessen Ausrichtung zu den stimulierten Neuronen abhängt. Wie bereits ausführlich in Abschnitt 7.4 diskutiert wurde, sind für zukünftige Studien die Entwicklung neuer Elektroden setups für die transokulare Stromstimulation von Interesse.

Die verwendeten Stromstimulationsparameter wurden zwecks Vergleichbarkeit mit den vorangegangenen Studien gewählt. Allgemein gilt, dass der Zusammenhang zwischen Stromstimulationsparametern und deren Einfluss auf die elektrophysiologischen und neuronalen Effekte nicht linear ist, weshalb andere Stromstimulationsparameter andere Ergebnisse hervorrufen können [124]. Daher sind zukünftige Parameterstudien von Interesse.

Durch die in diesem Kapitel vorgestellte PhNR-ERG-Studie ist die Beeinflussbarkeit der retinalen Ganglienzellen durch eine transokulare DCS sowie die Aussage $g(t)_{Strom} \neq 0$ für $u(t)_{Strom} \neq 0$ reproduziert. Des Weiteren ist der Stromstimulationseffekt polaritätsabhängig, wodurch die Theorie gestärkt wird, dass der polaritätsunabhängige Effekt der PERG-Studie methodenbedingt war. Zudem wird durch die Ergebnisse der vorliegenden Studie die Annahme unterstützt, dass die im Rahmen der Dissertation untersuchten Pre-Ganglienzellen (Zapfen, Bipolarzellen und Amakrinzellen) nicht durch eine transokulare DCS beeinflussbar sind.

9 Wirkungskonzept

Das Ziel der vorliegenden Dissertation bestand darin, die Wirkung der transokularen DCS auf die retinalen Zellen zu erforschen. Die Ergebnisse der Arbeit werden nachfolgend in einem Wirkungskonzept zusammengefasst, das die Wirkung der Stromstimulation auf die einzelnen retinalen Zellschichten beschreibt.

Für das Studienkonzept, das die Grundlage für das zu entwickelnde Wirkungskonzept darstellt, wurde das Prinzip der experimentellen Prozessanalyse angewendet. Eine rein mathematische Beschreibung der Wirkung einer transokularen DCS auf die verschiedenen retinalen Zellen ist aufgrund der hoch-komplexen Strukturen und Zusammenhänge innerhalb der Retina nicht möglich, weswegen eine phänomenologische Beschreibung des Wirkprinzips gewählt wurde.

Das Studienkonzept (Kapitel 3) umfasst zwei additiv aufeinander wirkende Teilsträngen: die transokularen DCS und die visuellen Stimulation. Beide Stränge bestehen jeweils aus einem Eingangssignal $u(t)$ und einer Gewichtsfunktion $g(t)$ der retinalen Zellen. Durch Messen eines ERGs im Zustand $u(t)_{Strom} = 0$ (ERG 1) und eines ERGs im Zustand $u(t)_{Strom} \neq 0$ (ERG 2) konnte durch Differenzbildung der beiden ERG-Messungen der Einfluss der transokularen DCS auf $y(t)_{ERG2}$ bestimmt werden. Aufgrund des A-priori-Wissens über die Herkunft der ERG-Wellen innerhalb der retinalen Zellen wurden dementsprechende Theorien über die Gewichtsfunktion $g(t)_{Strom}$ entwickelt. Durch Variation von $u(t)_{visuell}$ war es möglich, den Einfluss auf verschiedene Zellschichten in den Fokus der Betrachtung zu nehmen.

Im Folgenden werden die Ergebnisse der Studien zusammengefasst, die weiterführend zu einem Wirkungskonzept verarbeitet werden. Insgesamt wurden in

9 Wirkungskonzept

der Dissertation vier ERG-Studien durchgeführt. Der primäre Fokus aller Studien lag auf dem Unterschied zwischen einer ERG-Messung die vor der transokularen DCS, und einer, die während der transokularen DCS durchgeführt wurde.

In der ersten Studie wurde der Einfluss der transokularen DCS auf das PERG bestimmt. Hier wurde ein polaritätsunabhängiger signifikanter Stromstimulationseffekt in Form einer Verringerung der P50-Amplitude des PERG nachgewiesen. Auf alle Latenzen und auf die N95-Amplitude zeigte sich kein Stromstimulationseffekt. Nacheffekte wurden in dieser Studie nicht untersucht. In Bezug auf das Studienkonzept war somit die Aussage möglich, dass bei $u(t)_{Strom} \neq 0$ auch $g(t)_{Strom} \neq 0$ anzunehmen gilt. Aufgrund der Polaritätsunabhängigkeit des Stromstimulationseffekts und der Tatsache, dass nur ein Effekt auf die P50-Amplitude nachgewiesen wurde, konnte allerdings keine Aussage bezüglich der beeinflussten retinalen Zellen getroffen werden.

Im Folgenden wurde der Fragestellung nachgegangen, ob der nachgewiesene transokulare Stromstimulationseffekt durch die Beeinflussung von Pre-Ganglienzellen (Zapfen, Bipolarzellen und Amakrinzellen) entstanden war. Hierfür wurde in zwei Studien das helladaptierte Vollfeld-ERG mit der transokularen DCS kombiniert. Hierbei konnte weder für die transokulare DCS zwischen Auge und ipsilateraler Schläfe noch für die Stimulation zwischen Auge und visuellem Cortex ein signifikanter Stromstimulationseffekt nachgewiesen werden. Auch in der nachfolgenden Studie mit einer chromatischen visuellen Stimulation wurden keine Effekte auf die elektrophysiologische Aktivität der Pre-Ganglienzellen beobachtet. Daraus wurde die Aussage abgeleitet, dass die Pre-Ganglienzellen keinen Einfluss auf $g(t)_{Strom}$ haben und somit für diese Zellen $g(t)_{Strom} = 0$ für $u(t)_{Strom} \neq 0$ gilt.

In der vierten Studie wurde für die charakteristische PhNR-Welle ein polaritätsabhängiger Effekt der transokularen DCS nachgewiesen. Durch dieses Studienergebnis wurde die Aussage bestätigt, dass für die retinalen Ganglienzellen $g(t)_{Strom} \neq 0$ bei $u(t)_{Strom} \neq 0$ gilt. Des Weiteren wurde die Theorie gestärkt, dass die Polaritätsunabhängigkeit des nachgewiesenen Stromstimulationseffekts innerhalb der PERG-Studie methodenbedingt durch die Verrechnung der On- und

9 Wirkungskonzept

Off-Ganglienzellaktivität war.

Die genannten Ergebnisse sind in Abbildung 9.1 zusammengefasst. Aus den Ergebnissen lässt sich das Wirkungskonzept der Dissertation schlussfolgern. Dieses besagt, dass primär die retinalen Ganglienzellen durch die transokulare DCS beeinflusst werden und die Gewichtsfunktion $g(t)_{Strom}$ bestimmen. Die untersuchten Pre-Ganglienzellen (Zapfen, Bipolarzellen und Amakrinzellen) haben dagegen keinen Einfluss auf $g(t)_{Strom}$.

	Untersuchungs- methode	Studienergebnis für $u(t)_{Strom} \neq 0$
Ganglienzellen	PERG	$g(t)_{Strom} \neq 0$ polaritätsunabhängig
	PhNR-Welle	$g(t)_{Strom} \neq 0$ polaritätsabhängig
Amakrinzellen	oszillatorische Potentiale	$g(t)_{Strom} = 0$
Bipolarzellen	helladaptiertes Vollfeld-ERG (b-Welle)	$g(t)_{Strom} = 0$
Zapfen	helladaptiertes Vollfeld-ERG (a-Welle)	$g(t)_{Strom} = 0$

Abbildung 9.1: Zusammenfassung der Ergebnisse der innerhalb der Dissertation durchgeführten Studien. Dargestellt sind nur die retinalen Zellen, die untersucht werden konnten und auf die durch die angegebene Untersuchungsart Rückschlüsse hinsichtlich der Gewichtsfunktion $g(t)_{Strom}$ bei einer durchgeführten transokularen Gleichstromstimulation (Zustand: $u(t)_{Strom} \neq 0$) möglich waren. Die rot-markierte und eingerahmte Spalte hebt das Wirkungskonzept hervor, dass primär die retinalen Ganglienzellen durch die transokulare Gleichstromstimulation beeinflusst werden.

10 Diskussion

10.1 Diskussion der Studienergebnisse

Wird das Gebiet der transokularen Stromstimulation betrachtet, fällt auf, dass eine Vielzahl von Tier- und Humanstudien vorhanden ist, deren Ergebnisse bisher jedoch nicht in einem gemeinsamen Wirkungskonzept, das die Beeinflussbarkeit der verschiedenen retinalen Zellen beschreibt, zusammengeführt wurden. Dies ist sowohl auf den großen Parameterraum der Stromstimulation als auch auf die verschiedenen methodischen Verfahren und untersuchten Krankheitsbilder der Studien zurückzuführen [16,82,83]. Für die erfolgreiche Überführung der Methode in eine klinische Therapie neurodegenerativer retinaler Erkrankungen ist es jedoch unabdingbar, zu beschreiben, auf welche retinalen Zellen eine transokulare DCS im Detail eine Wirkung hat.

In der vorliegenden Dissertation wurde auf Grundlage von VEP-Studien in Kombination mit transkraniellen DCS ein Studienkonzept beruhend auf dem Prinzip der experimentellen Prozessanalyse entwickelt. Dieses wurde auf vier Probandenstudien angewendet, deren Ergebnisse erstmalig in einem gemeinsamen Wirkungskonzept der transokularen DCS auf die retinalen Zellen zusammengeführt wurden. Dieses Konzept besagt, dass die retinalen Ganglienzellen primär durch die transokulare DCS in ihrer elektrophysiologischen Aktivität beeinflusst werden.

In der PERG-Studie und in der PhNR-Studie wurden primär die retinalen Ganglienzellen untersucht. In beiden Studien konnte ein Stromstimulationseffekt nachgewiesen werden. Allerdings wurde herausgefunden, dass der Effekt auf das PERG polaritätsunabhängig ist, während der Effekt auf die PhNR-Welle

10 Diskussion

eine Polaritätsabhängigkeit aufweist. Dieser scheinbare Widerspruch lässt sich durch die unterschiedlichen Herkünfte der beiden ERGs innerhalb der retinalen Ganglienzellen erklären. Beim PERG findet ein gegenseitiges Auslöschen und Verrechnen von Aktivitäten der On- und Off-Ganglienzellen statt. Die PhNR-Welle basiert dagegen auf einer Summenaktivität aller beteiligten Ganglienzellen. Die Tatsache, dass die PhNR-Amplitude polaritätsabhängig und die PERG-Amplitude polaritätsunabhängig durch die transokulare DCS beeinflusst wurde, stärkt die Theorie, dass der polaritätsunabhängige Stromstimulationseffekt auf die P50-Amplitude des PERG durch eine unterschiedliche Beeinflussung der On- und Off-Ganglienzellen entstanden ist und demnach methodenbedingt war. Um diese Theorie zu überprüfen ist eine Separierung der elektrophysiologischen On- und Off-Ganglienzellaktivität notwendig. Durch die Gabe pharmakologischer Wirkstoffe ist diese Separation in Tierexperimenten möglich [134]. Elektrophysiologische Messverfahren am Menschen sind diesbezüglich bisher nicht bekannt. Durch ein sogenanntes On-Off-ERG sind Separationen der retinalen On- und Off-Zellen möglich, allerdings handelt es sich hierbei um ein Vollfeld-ERG, wodurch primär die Aktivität der Pre-Ganglienzellen repräsentiert wird [135]. Die Nutzung eines Adaptationseffekts zur Separation ist eine theoretische Überlegung, der in zukünftiger Grundlagenforschung nachgegangen werden sollte.

Ein Einfluss auf die Pre-Ganglienzellen (Zapfen, Bipolarzellen und Amakrinzellen) wurde in keiner der durchgeführten Vollfeld-ERG-Studien nachgewiesen. Daraus lässt sich ableiten, dass diese Zellen unter Beachtung der verwendeten Stromstimulationsparameter und -setups nicht durch die transokulare DCS in ihrer elektrophysiologischen Aktivität beeinflussbar sind. Somit liegen keine Hinweise vor, dass ophthalmologische neurologische Erkrankungen dieser retinalen Zellen durch eine transokulare DCS therapiert werden können. Es ist jedoch zu vermerken, dass im Rahmen der Dissertation das helladaptierte Vollfeld-ERG genutzt wurde, das in der a-Welle vorwiegend die elektrophysiologische Aktivität der Zapfen widerspiegelt. Eine Dunkeladaptation und die Messung einer reinen elektrophysiologischen Stäbchenantwort wurden im Rahmen der Dissertation nicht durchgeführt. Da eine Dunkeladaptation keine Aufnahme von zwei ERG-Messungen in einem kurzen Zeitintervall hintereinander ermöglicht, kommen mehr Eingangsparameter und mögliche Störgrößen hinzu, die eine hohe Variation von

10 Diskussion

$g(t)_{visuell}$ bedeuten und die Annahme der Zeitinvarianz schwächen. Deshalb wurde die Interpretierbarkeit von Ergebnissen einer solchen Studie und die Anwendung eines entsprechenden Studienkonzepts in Frage gestellt.

Da in Tierstudien auch in helladaptierten Vollfeld-ERGs in der a- und b-Welle Stromstimulationseffekte nachgewiesen wurden [18] und da sich in den Ergebnissen der drei Vollfeld-ERG-Studien kein Hinweis auf eine Beeinflussbarkeit der a-Welle finden ließ, wurde auf eine Studie zur Untersuchung der reinen Stäbchenantwort verzichtet. Aussagen über die Beeinflussbarkeit der Stäbchen durch die transokulare DCS sind daher nicht möglich.

In allen Studien der Dissertation in denen Nacheffekte untersucht wurden, wurden keine signifikanten Effekte auf die ERG-Wellen nach Beendigung der transokularen DCS nachgewiesen, die einen Unterschied zwischen der tatsächlichen Stromstimulation und sham Stromstimulation zeigen. Aus der Literatur ist hinsichtlich der Kombination von evozierten Potentialen mit einer transkraniellen Stromstimulation bekannt, dass auch schon nach kurzen Stimulationsdauern von wenigen Minuten Nacheffekte auftreten können [41, 89, 104]. Allerdings wurden in den Studien höhere Stromstimulationsstärken verwendet als in den Studien der vorliegenden Dissertation. Die Parameter der Stromstimulation innerhalb der Dissertation (Stromstärken: 500 μA oder 800 μA , Stromstimulationsdauer: 5 min) waren bewusst niedrig gewählt, um eine möglichst geringe Probandenbelastung zu gewährleisten, da mit gesunden Probanden gearbeitet wurde. Das Ausbleiben der Nacheffekte wird somit durch die bewusst niedrig gewählten Stromstimulationsparameter begründet.

Alle Studienergebnisse und das abgeleitete Wirkungskonzept beziehen sich auf die angewendeten Stromstimulationsparameter und -setups. Variationen von $u(t)_{Strom}$ können durch den nichtlinearen Zusammenhang zwischen den Stromstimulationsparametern und deren Wirkung [124] zu anderen Ergebnissen führen.

Nachfolgend werden Theorien entwickelt, die das abgeleitete Wirkungskonzept erklären. Die Hauptwirkung einer transkraniellen DCS wird in der Literatur der Polarisation der Ruhemembranpotentiale der Zellen in Abhängigkeit von der Orientierung des elektrischen Feldes zugesprochen [88]. Dabei werden nicht

10 Diskussion

direkt Aktionspotentiale der stimulierten Neuronen ausgelöst, allerdings führt die Beeinflussung von prä- und postsynaptischen Natrium- und Calcium-Ionenkanäle indirekt zur Veränderung der Ruhemembranpotentiale und damit zu einer Veränderung der spontanen neuronalen Netzwerkaktivität, wodurch die Feuerrate der Neuronen beeinflusst wird [89–93].

Auf die Zapfen, die Bipolarzellen und die Amakrinzellen konnte kein Stromstimulationseffekt der transokularen DCS nachgewiesen werden. Bei der Verarbeitung eines Lichtreizes in den Zapfen kommt es aufgrund des Prozesses der Phototransduktion zu einer Hyperpolarisation (a-Welle im Vollfeld-ERG). Dies geschieht, da sich im Zuge der Phototransduktion der Anteil des Botenstoffs cyclisches Guanosinmonophosphat (cGMP) in den Zellen vermindert, wodurch sich die vorwiegend cGMP-gesteuerten Ionenkanäle der Zapfen schließen [51, 56, 58]. Somit kann die Abwesenheit eines Stromstimulationseffekts auf die Zapfen durch eine Nichtbeeinflussung der cGMP-gesteuerten Ionenkanäle der Zapfen erklärt werden. Eine Aussage über die Stäbchen ist aufgrund der fehlenden Messungen nicht möglich.

Auf die Bipolarzellen und die Amakrinzellen wurde ebenfalls kein Einfluss der transokularen DCS beobachtet. Die Bipolarzellen und die Amakrinzellen werden vorwiegend durch die Ausschüttung des Neurotransmitters Glutamat gesteuert [59]. Die Beeinflussung von Neurotransmittern wird in der transkraniellen DCS nicht als akuter Stromstimulationseffekt angesehen, sondern sie gilt als möglicher Nacheffekt [88, 92]. Da in der vorliegenden Dissertation primär die akuten Stromstimulationseffekte untersucht wurden, kann die Abwesenheit eines Stromstimulationseffekts auf diese Zellen erklärt werden. Das Ausbleiben von Stromstimulationsnacheffekten kann, wie bereits diskutiert, durch die geringen Stromstimulationsparameter begründet werden.

Die Ganglienzellen sind die einzigen Neuronen in der Retina, die Aktionspotentiale generieren [136]. Da auf diese Zellen reproduzierbar ein Stromstimulationseffekt der transokularen DCS nachgewiesen wurde, kann die Beeinflussung des Ruhemembranpotentials dieser Zellen als wahrscheinlich angenommen werden. Der Widerspruch der Polaritätsabhängigkeit ist, wie bereits diskutiert wurde, als

methodenbedingt einzustufen.

Inwieweit die Erklärungen des Wirkungskonzepts korrekt sind, muss in zukünftigen Studien auf retinaler Zellebene erforscht werden.

10.2 Diskussion des Wirkungskonzepts

Das aus den Studien der Dissertation abgeleitete Wirkungskonzept gilt für das entwickelte Studienkonzept aus Kapitel 3. Dieses besteht aus einer Reihe von Annahmen, die einen Einfluss auf die Interpretierbarkeit des Wirkungskonzepts haben. So wurde die Annahme getroffen, dass es sich beim betrachteten System der retinalen Zellen um ein lineares zeitinvariantes System handelt. Diese Annahme war notwendig, um das Prinzip der linearen Systemtheorie und der experimentellen Prozessanalyse anwenden zu können. Sie ist jedoch unter Betrachtung der realen natürlichen Retinaprozessen zu diskutieren.

Bei Verschaltung der verschiedenen retinalen Zellen sind nicht lineare Zusammenhänge zu erwarten. Diese führen beispielsweise zur Generierung des typischen PERG-Potentialverlaufs [79]. Des Weiteren ist aus der Literatur bekannt, dass das ERG dem circadianen Rhythmus unterliegt, sodass für das betrachtete System allgemein keine Zeitinvarianz vorliegt [137, 138]. Da die ERG-Messungen innerhalb einer Messsitzung jedoch in einem kurzen Zeitabstand hintereinander stattfanden und für jede transokulare DCS eine separate Baseline-Messung durchgeführt wurde, kann der Einfluss der natürlichen Zeitinvarianz als gering angenommen werden. Des Weiteren zeigt beispielsweise das steady-state PERG über die Zeit einer ERG-Messung Habituationseffekte [125], die die Annahme der Zeitinvarianz schwächen. Dies wurde detailliert in Abschnitt 5.4 diskutiert. Hierbei wurde keine Habituation in Bezug auf das transiente PERG nachgewiesen. Dies stärkt die Verwendung der Zeitinvarianz zur Vereinfachung der Betrachtung der ERG-Messungen.

10 Diskussion

Eine weitere Annahme war, dass sich die retinalen Zellen vor Applikation des Eingangssignals $u(t)_{visuell}$ sowie $u(t)_{Strom}$ im Ruhezustand befanden. Inwieweit die retinalen Zellen nach jedem applizierten Lichtblitz der visuellen Stimulation bzw. nach Anwendung der transokularen DCS wieder in den Ruhezustand zurückgekommen waren, wurde jedoch nicht überprüft. Bei der visuellen Stimulation erfolgte eine Orientierung an den ISCEV-Standards und den darin empfohlenen Zeiten zwischen den visuellen Stimulusapplikationen. Da in Bezug auf die transokulare DCS keine Daten über das Abklingverhalten eines Stromstimulationseffekts auf die retinalen Zellen bekannt sind, wurde keine Randomisierung des Ablaufs der ERG-Messungen ohne und mit transokularer DCS vorgenommen. Aus Studien der transkraniellen DCS ist bekannt, dass Nacheffekte auch schon bei kurzen Stimulationsdauern von wenigen Minuten entstehen können, diese jedoch nur für kurze Zeit anhalten (≤ 120 min) [41, 89, 104]. Um Einflüsse von langanhaltenden Nacheffekten weitestgehend auszuschließen, wurde eine Pause von mindestens 24 h zwischen den Messsitzen hinsichtlich der verschiedenen Stromstimulationen gewählt.

Einen weiteren Diskussionspunkt stellt die Annahme der Unabhängigkeit und der additiven Wirkung der beiden Teilstränge der transokularen DCS und der visuellen Stimulation dar. Da beide Verfahren auf Ionenbewegungen und Veränderungen innerhalb der retinalen Zellen beruhen, ist zu vermuten, dass sich die Verfahren in komplexer Art und Weise gegenseitig beeinflussen. Inwieweit dies der Fall ist, ist zum heutigen Zeitpunkt allerdings unbekannt. Daher war die Annahme der Unabhängigkeit notwendig, um die Differenzbildung zwischen der ERG 1- und der ERG 2-Messung und die daraus folgenden theoretischen Rückschlüsse auf $g(t)_{Strom}$ zu ermöglichen.

Die für das Studienkonzept geltenden Annahmen entsprechen alle einer starken Vereinfachung der realen Bedingungen und des realen Verhaltens der retinalen Zellen. Sie erlauben jedoch die Anwendung des Verfahrens der experimentellen Prozessanalyse auf die Kombination der transokularen DCS mit der ERG-Messung und somit die Entwicklung eines ersten Wirkungskonzepts.

10.3 Einordnung der Ergebnisse in die Literatur

In Tierstudien wurde die Wirkung einer transokularen Stromstimulation auf die verschiedenen retinalen Zellarten untersucht. Vor allem die positive Beeinflussbarkeit der Überlebensrate der retinalen Ganglienzellen nach Axon- und Sehnervbeschädigungen wurde mehrfach in der Literatur nachgewiesen [17, 49, 110–113]. Das entwickelte Wirkungskonzept entspricht den Ergebnissen aus den Tierstudien. Allerdings ist zu vermerken, dass in den Tierstudien transkorneale PCS oder ACS durchgeführt wurden. Eine vollständige Übertragbarkeit der Ergebnisse ist somit nicht möglich.

In Tierstudien wurden zudem positive Einflüsse einer transkornealen PCS auf die Überlebensrate der Photorezeptoren nachgewiesen [18, 48, 50]. Im Rahmen dieser Studien wurden allerdings auch widersprüchliche Ergebnisse bezüglich der Wirkung auf die a- und b-Wellen-Amplituden eines Vollfeld-ERGs gefunden. So zeigten Morimoto et al. (2012) an Hasen eine erhöhte a- und b-Wellen-Amplitude im Vollfeld-ERG nach Anwendung einer transkornealen PCS [18]. Ein ähnliches Ergebnis wurde von Ni et al. (2009) an Ratten nachgewiesen [48]. Dem entgegen wiesen Fu et al. (2018) an Wüstenrennmäusen bei Anwendung einer transkornealen PCS nur einen Stromstimulationseffekt auf die b-Welle, jedoch keinen auf die a-Welle nach [49]. Die unterschiedlichen Ergebnisse begründeten Fu et al. durch die unterschiedlichen Tierarten und die reinen Untersuchung der Zapfen durch ein helladaptiertes ERG [49].

Innerhalb der Dissertation wurden reproduzierbar keine Stromstimulationseffekte der transokularen DCS auf die a-, b'- und b-Wellen in Vollfeld-ERGs nachgewiesen. In den Tierstudien wurden hauptsächlich Nacheffekte einer transokularen Stromstimulation untersucht, während in der Dissertation primär akute Stromstimulationseffekte erforscht wurden. Zudem wurden in den Tierstudien transkorneale PCS durchgeführt, womit eine andere Stromart mit einer potenziell anderen Wirkung vorlag.

In den Studien am Menschen wurden nur vereinzelt und bisher nicht reproduzierbar Stromstimulationseffekte der transokularen Stromstimulation auf das

10 Diskussion

Vollfeld-ERG gefunden [23, 24, 31, 34, 36]. Eine Vergleichbarkeit mit den Ergebnissen der Dissertation ist aufgrund weitgreifender methodischer Unterschiede nur eingeschränkt möglich. In den genannten klinischen Studien wurde beispielsweise eine PCS oder eine ACS genutzt, wodurch eine andere Stromart und damit auch eine andere Stromwirkung vorlag. Des Weiteren wurden ausschließlich Nacheffekte und keine akuten Stromstimulationseffekte einer Stromstimulationstherapie analysiert und ausschließlich Effekte auf das Vollfeld-ERG gemessen. Studien, in denen die elektrophysiologische Aktivität von Ganglienzellen vor, nach oder während einer transokularen Stromstimulation untersucht wurde, sind nicht bekannt.

Unter Betrachtung der klinischen Studien in Bezug auf den Erfolg der Stromstimulationstherapie auf verschiedene Erkrankungen fällt jedoch auf, dass sich gerade bei den Erkrankungen, bei denen die retinalen Ganglienzellen und deren Axone betroffen sind, gute Ergebnisse zeigen [29, 30, 38–40]. Allerdings wurden genau diese Studien bezüglich der darin verwendeten Methoden diskutiert [139].

Somit ist festzuhalten, dass ein Trend zu einer Übereinstimmung der Literatur mit dem entwickelten Wirkungskonzept sichtbar ist. Zukünftig sind jedoch noch weitere tiefgreifende Forschungsarbeiten notwendig, um den großen Parameterraum methodisch strukturiert und aufeinander aufbauend zu erforschen.

11 Zusammenfassung und Ausblick

In der vorliegenden Dissertation wurde ein Wirkungskonzept bezüglich der transokularen DCS auf die retinalen Zellen entwickelt. Die Motivation, ein solches Konzept zu entwickeln, rührte zum einen daher, dass in der Literatur ein derartiges Wirkungskonzept fehlt, und basierte zum anderen auf dem A-priori-Wissen der Wirkung der transkraniellen DCS auf das VEP. Auf Grundlage der transkraniellen DCS-Studien in Kombination mit VEP-Messungen [41, 43–45] wurde erwartet, dass ein Stromstimulationseffekt bei transokularer DCS im ERG sichtbar wird.

Im ersten Schritt der Dissertation wurde ein Studienkonzept entwickelt, das auf dem Verfahren der experimentellen Prozessanalyse basiert. Das Studienkonzept bildete die theoretische Grundlage, die Wirkung der transokularen DCS durch Differenzbildung zwischen einer ERG-Messung ohne und einer ERG-Messung mit Stromstimulation zu untersuchen. Durch geeignete Variation der visuellen Stimulation war es möglich, verschiedene retinale Zellaktivitäten zu betrachten. Der Fokus der Arbeit lag dabei auf den akuten Stromstimulationseffekten.

In der Dissertation wurden insgesamt vier Probandenstudien durchgeführt, in denen verschiedene ERG-Arten mit der transokularen DCS kombiniert wurden. In der ersten Studie wurde der Einfluss der transokularen DCS auf das PERG untersucht, das primär die Ganglienzellaktivität darstellt. Hier wurde ein polaritätsunabhängiger Stromstimulationseffekt der transokularen DCS in Form einer Verringerung der P50-Amplitude des PERG nachgewiesen. Das Ergebnis ermöglichte die Aussage, dass die retinalen Zellen durch die transokulare DCS beeinflussbar sind. Aufgrund der nicht eindeutigen Herkunft der P50-Amplitude und der Polaritätsunabhängigkeit des Effekts war eine eindeutige Zuordnung des Effekts zu den retinalen Zellen nicht möglich [114, 116].

11 Zusammenfassung und Ausblick

Im weiteren Verlauf der Dissertation wurde der Fragestellung nachgegangen, ob der nachgewiesene Stromstimulationseffekt durch die Beeinflussung von Pre-Ganglienzellen entstanden war. Hierfür wurde das helladaptierte Vollfeld-ERG mit der transokularen DCS kombiniert. Dabei wurde sowohl für die Stromstimulation zwischen Auge und ipsilateraler Schläfe als auch zwischen Auge und visuellem Cortex kein signifikanter Stromstimulationseffekt ermittelt. Hierdurch wurde die Theorie unterstützt, dass der nachgewiesene Stromstimulationseffekt innerhalb der PERG-Studie durch die Beeinflussung von Ganglienzellaktivität entstanden war. Weiterhin wurde diese Theorie durch einen sichtbaren Trend zur polaritätsabhängigen Beeinflussung der modifizierten PhNR-Welle in beiden Vollfeld-ERG-Studien unterstützt [126, 127, 131].

In der vierten Studie wurde die visuelle Stimulation zur Generierung der PhNR-Welle optimiert und mit der transokularen DCS kombiniert. Die PhNR-Welle stellte dabei eine Summenantwort der retinalen Ganglienzellaktivität dar. Der sichtbare Trend der vorangegangenen Studien wurde bestätigt, und es konnte ein polaritätsabhängiger signifikanter Stromstimulationseffekt auf die PhNR-Amplitude nachgewiesen werden [132]. Mit diesem Ergebnis wurde die Beeinflussbarkeit der retinalen Zellen durch die transokulare DCS reproduziert. Des Weiteren wurde dadurch die Theorie gestärkt, dass die retinalen Ganglienzellen durch die transokulare DCS beeinflussbar sind. Zudem wurde die Hypothese unterstützt, dass die Polaritätsunabhängigkeit des Stromstimulationseffekts innerhalb der PERG Studie methodenbedingt entstanden war.

In allen Studien wurden bei den Nacheffekten keine Unterschiede zwischen der tatsächlichen transokularen DCS und der sham Stromstimulation festgestellt. Des Weiteren wurden keine Effekte auf die Latenzen gefunden.

Aus den Ergebnissen der Studien wurde beruhend auf der experimentellen Prozessanalyse ein Wirkungskonzept abgeleitet. Dieses besagt, dass die transokulare DCS primär die retinalen Ganglienzellen in ihrer elektrophysiologischen Aktivität beeinflusst.

Im Vergleich mit der Literatur konnte ein Trend abgeleitet werden, der das Wirkungskonzept bestätigt. Ein vollständiger Vergleich mit der Literatur war jedoch aufgrund der methodischen Unterschiede bei der Stromstimulation

11 Zusammenfassung und Ausblick

nicht möglich. Die Ergebnisse der PERG- und der PhNR-Studie führten zu der Hypothese, dass die Polaritätsunabhängigkeit des Stromstimulationseffekts innerhalb der PERG-Studie methodenbedingt durch die Verrechnung der On- und Off-Ganglienzellaktivität entstanden war. Zur Überprüfung dieser Hypothese ist zukünftig weitere Forschung zur Separierung der elektrophysiologischen On- und Off-Ganglienzellaktivität am Menschen notwendig.

Aus den Ergebnissen der Dissertation ist abzuleiten, dass für die Beurteilung des abgeleiteten Wirkungskonzepts weitere tiefgreifende Studien auf retinaler Zellebene notwendig sind, um die akuten Vorgänge während einer transokularen DCS innerhalb der Retina nachvollziehen zu können. Für die klinischen Studien sind Anwendungen der transokularen DCS als Therapie an Patienten mit einer degenerativen Erkrankung der retinalen Ganglienzellen und deren Axone von Interesse, beispielsweise an Patienten mit einem Glaukom. Zudem sind klinische Studien an Patienten mit einer degenerativen Erkrankung der Photorezeptoren hilfreich, um das Wirkungskonzept zu überprüfen.

Der Einfluss der Stromstimulationsparameter wurde, bis auf den Einfluss der Elektrodenposition der Stromstimulationsgegenelektrode, im Rahmen der Dissertation nicht untersucht. Hier bestehen demzufolge offene Fragestellungen, insbesondere in Bezug auf den Einfluss der Stromstärke und der Stimulationsdauer. Inwieweit durch Variation dieser Stromstimulationsparameter anhaltende Effekte hervorgerufen werden können, ist unbekannt. Auf Grundlage der Literatur zur transkraniellen DCS und zu VEP-Messungen ist dies jedoch zu erwarten [41, 43–45].

Weiterhin ist aus den Simulationen von Hunold 2021 [84] abzuleiten, dass für eine andere elektrische Feldorientierung als der in der Dissertation erzeugten neue Elektrodensetups entwickelt werden müssen. Für weitere Studien ist dies von Interesse, um zu überprüfen, ob mit einer anderen Feldorientierung die retinalen Ganglienzellen immer noch beeinflussbar sind und ob die Pre-Ganglienzellen in ihrer elektrophysiologischen Aktivität beeinflusst werden können.

11 Zusammenfassung und Ausblick

Im Rahmen der Dissertation wurde eine akute Beeinflussbarkeit retinaler Ganglienzellen durch die transokulare DCS nachgewiesen. Eine Beeinflussbarkeit der Zapfen, der Bipolarzellen und der Amakrinzellen wurde nicht gefunden. Dementsprechend wird die Annahme gestärkt, dass das Verfahren der transokularen DCS zukünftig eine Möglichkeit zur Behandlung neurodegenerativer Erkrankungen der retinalen Ganglienzellen darstellt. Allerdings sind weitere weitreichende Tier- und Humanstudien zur Vertiefung des Wirkungskonzepts und zur Untersuchung von Parametereinflüssen notwendig.

Literaturverzeichnis

- [1] J. Cohen. *Statistical Power Analysis for the behavioral Sciences*. 2 edition, 1988.
- [2] G. E. Lang and G. K. Lang. Netzhaut (Retina). In G. K. Lang, editor, *Augenheilkunde*, chapter 12, pages 224–227. Thieme Verlag, 6 edition, 2019.
- [3] S. Silbernagl and A. Despopoulos. Zentralnervensystem und Sinne. In *Taschenatlas Physiologie*, chapter 12, page 377. 8 edition, 2012.
- [4] D. L. McCulloch, M. F. Marmor, M. G. Brigell, R. Hamilton, G. E. Holder, R. Tzekov, and M. Bach. ISCEV Standard for full-field clinical electroretinography (2015 update). *Documenta Ophthalmologica*, 130(1):1–12, 2015.
- [5] L. J. Frishman, M. Sustar, J. Kremers, J. J. McAnany, M. Sarossy, R. Tzekov, and S. Viswanathan. ISCEV extended protocol for the photopic negative response (PhNR) of the full-field electroretinogram. *Documenta Ophthalmologica*, 136(3):207–211, 2018.
- [6] M. Bach, M. G. Brigell, M. Hawlina, G. E. Holder, M. A. Johnson, D. L. McCulloch, T. Meigen, and S. Viswanathan. ISCEV standard for clinical pattern electroretinography (PERG): 2012 update. *Documenta Ophthalmologica*, 126(1):1–7, 2013.
- [7] M. C. Blum. Analyse von Effekten einer Gleichstromstimulation auf die elektrophysiologische Aktivität der retinalen Ganglienzellen. Masterarbeit, Technische Universität Ilmenau. 2018.
- [8] Robert Koch Institut. GBE-Themenheft Blindheit und Sehbehinderung. Gesundheitsberichterstattung des Bundes. Gemeinsam getragen von RKI und Destatis. 2017.

Literaturverzeichnis

- [9] Statistisches Bundesamt. Statistik der schwerbehinderten Menschen, Kurzbericht. 2019.
- [10] W. M. Al-Zamil and S. A. Yassin. Recent developments in age-related macular degeneration: a review. *Clinical Interventions in Aging*, 12:1313–1330, 2017.
- [11] R. J. Casson, G. Chidlow, J. P. Wood, J. G. Crowston, and I. Goldberg. Definition of glaucoma: clinical and experimental concepts. *Clinical & Experimental Ophthalmology*, 40(4):341–349, 2012.
- [12] A. Y. Chow, V. Y. Chow, K. H. Packo, J. S. Pollack, G. A. Peyman, and R. Schuchard. The artificial silicon retina microchip for the treatment of vision loss from retinitis pigmentosa. *Archives of Ophthalmology*, 122(4):460–469, 2004.
- [13] J. P. Lefaucheur, A. Antal, S. S. Ayache, D. H. Benninger, J. Brunelin, F. Cogiamanian, M. Cotelli, D. De Ridder, R. Ferrucci, B. Langguth, P. Marangolo, V. Mylius, M. A. Nitsche, F. Padberg, U. Palm, E. Poulet, A. Priori, S. Rossi, M. Schecklmann, S. Vanneste, U. Ziemann, L. Garcia-Larrea, and W. Paulus. Evidence-based guidelines on the therapeutic use of transcranial direct current stimulation (tDCS). *Clinical Neurophysiology*, 128(1):56–92, 2017.
- [14] Y. Yokoi and T. Sumiyoshi. Application of transcranial direct current stimulation to psychiatric disorders: trends and perspectives. *Neuropsychiatric Electrophysiology*, 1(1):10, 2015.
- [15] M. A. Nitsche, L. G. Cohen, E. M. Wassermann, A. Priori, N. Lang, A. Antal, W. Paulus, F. Hummel, P. S. Boggio, F. Fregni, and A. Pascual-Leone. Transcranial direct current stimulation: State of the art 2008. *Brain Stimulation*, 1(3):206–223, 2008.
- [16] A. Sehic, S. Guo, K. Cho, R. M. Corraya, D. F. Chen, and T. P. Uthaim. Electrical Stimulation as a Means for Improving Vision. *The American Journal of Pathology*, 186(11):2783–2797, 2016.
- [17] T. Morimoto, T. Miyoshi, S. Matsuda, Y. Tano, T. Fujikado, and Y. Fukuda. Transcorneal electrical stimulation rescues axotomized retinal ganglion cells by activating endogenous retinal IGF-1 system. *Investigative Ophthalmology*

Literaturverzeichnis

- and *Visual Science*, 46(6):2147–2155, 2005.
- [18] T. Morimoto, H. Kanda, M. Kondo, H. Terasaki, K. Nishida, and T. Fujikado. Transcorneal electrical stimulation promotes survival of photoreceptors and improves retinal function in rhodopsin P347L transgenic rabbits. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, 53(7):4254–4261, 2012.
- [19] T. Kanamoto, N. Souchelnytskyi, T. Kurimoto, Y. Ikeda, H. Sakaue, Y. Munemasa, and Y. Kiuchi. Proteomic study of retinal proteins associated with transcorneal electric stimulation in rats. *Journal of Ophthalmology*, 2015:492050, 2015.
- [20] T. Sato, T. Fujikado, T. Morimoto, K. Matsushita, T. Harada, and Y. Tano. Effect of electrical stimulation on IGF-1 transcription by L-type calcium channels in cultured retinal Müller cells. *Japanese Journal of Ophthalmology*, 52(3):217–223, 2008.
- [21] T. Sato, T. S. Lee, F. Takamatsu, and T. Fujikado. Induction of fibroblast growth factor-2 by electrical stimulation in cultured retinal Mueller cells. *NeuroReport*, 19(16):1617–1621, 2008.
- [22] G. Miura, T. Sugawara, Y. Kawasaki, T. Tatsumi, T. Nizawa, T. Baba, H. Hanaoka, and S. Yamamoto. Clinical Trial to Evaluate Safety and Efficacy of Transdermal Electrical Stimulation on Visual Functions of Patients with Retinitis Pigmentosa. *Scientific Reports*, 9(1):11668, 2019.
- [23] A. Schatz, T. Röck, L. Naycheva, G. Willmann, B. Wilhelm, T. Peters, K. U. Bartz-Schmidt, E. Zrenner, A. Messias, and F. Gekeler. Transcorneal electrical stimulation for patients with retinitis pigmentosa: a prospective, randomized, sham-controlled exploratory study. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, 52(7):4485–4496, 2011.
- [24] A. Schatz, J. Pach, M. Gosheva, L. Naycheva, G. Willmann, B. Wilhelm, T. Peters, K. U. Bartz-Schmidt, E. Zrenner, A. Messias, and F. Gekeler. Transcorneal Electrical Stimulation for Patients With Retinitis Pigmentosa: A Prospective, Randomized, Sham-Controlled Follow-up Study Over 1 Year. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, 58(1):257–269, 2017.
- [25] S. K. Wagner, J. K. Jolly, M. Pefkianaki, F. Gekeler, A. R. Webster, S. M. Downes, and R. E. Maclaren. Transcorneal electrical stimulation for the

Literaturverzeichnis

- treatment of retinitis pigmentosa: results from the TESOLAUK trial. *BMJ Open Ophthalmology*, 2(1):e000096, 2017.
- [26] A. K. Bittner, K. Seger, R. Salvesson, S. Kayser, N. Morrison, P. Vargas, D. Mendelsohn, J. Han, H. Bi, G. Dagnelie, A. Benavente, and J. Ramella-Roman. Randomized controlled trial of electro-stimulation therapies to modulate retinal blood flow and visual function in retinitis pigmentosa. *Acta Ophthalmologica*, 96(3):e366–e376, 2018.
- [27] M. Della Volpe-Waizel, H. C. Zuche, U. Müller, A. Rickmann, H. P. N. Scholl, and M. G. Todorova. Metabolic monitoring of transcorneal electrical stimulation in retinitis pigmentosa. *Graefe’s Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*, 258(1):79–87, 2020.
- [28] O. Zabek, H. Camenzind Zuche, U. Müller, H. P. N. Scholl, A. Rickmann, and M. Della Volpe Waizel. Optical coherence tomography angiography findings in patients undergoing transcorneal electrical stimulation for treating retinitis pigmentosa. *Graefe’s Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*, 259(5):1167–1177, 2021.
- [29] F. Gil-Carrasco, D. Ochoa-Contreras, M. A. Torres, J. Santiago-Amaya, F. W. Pérez-Tovar, R. Gonzalez-Salinas, and L. Nino-De-Rivera. Transpalpebral Electrical Stimulation as a Novel Therapeutic Approach to Decrease Intraocular Pressure for Open-Angle Glaucoma: A Pilot Study. *Journal of Ophthalmology*, 2018:2930519, 2018.
- [30] Y. Ota, N. Ozeki, K. Yuki, D. Shiba, I. Kimura, K. Tsunoda, K. Shinoda, H. Ohde, and K. Tsubota. The Efficacy of Transcorneal Electrical Stimulation for the Treatment of Primary Open-angle Glaucoma: A Pilot Study. *The Keio Journal of Medicine*, 67(3):45–53, 2018.
- [31] T. Röck, A. Schatz, L. Naycheva, M. Gosheva, J. Pach, B. Wilhelm, T. Peters, K. U. Bartz-Schmidt, E. Zrenner, G. Willmann, and F. Gekeler. Transkorneale Elektrostimulation bei Patienten mit Morbus Stargardt. *Ophthalmologie*, 110(1):68–74, 2013.
- [32] G. Anastassiou, A. L. Schneegans, M. Selbach, and S. Kremmer. Transpalpebral electrotherapy for dry age-related macular degeneration (AMD): an exploratory trial. *Restorative Neurology and Neuroscience*, 31(5):571–578,

Literaturverzeichnis

- 2013.
- [33] L. Chaikin, K. Kashiwa, M. Bennet, G. Papastergiou, and W. Gregory. Microcurrent stimulation in the treatment of dry and wet macular degeneration. *Clinical Ophthalmology*, 9:2345–2353, 2015.
- [34] L. Naycheva, A. Schatz, G. Willmann, K. U. Bartz-Schmidt, E. Zrenner, T. Röck, and F. Gekeler. Transcorneal electrical stimulation in patients with retinal artery occlusion: a prospective, randomized, sham-controlled pilot study. *Ophthalmology and Therapy*, 2(1):25–39, 2013.
- [35] K. Inomata, K. Shinoda, H. Ohde, K. Tsunoda, G. Hanazono, I. Kimura, M. Yuzawa, K. Tsubota, and Y. Miyake. Transcorneal electrical stimulation of retina to treat longstanding retinal artery occlusion. *Graefe’s Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*, 245(12):1773–1780, 2007.
- [36] S. Oono, T. Kurimoto, R. Kashimoto, Y. Tagami, N. Okamoto, and O. Miumura. Transcorneal electrical stimulation improves visual function in eyes with branch retinal artery occlusion. *Clinical Ophthalmology*, 5:397–402, 2011.
- [37] T. Fujikado, T. Morimoto, K. Matsushita, H. Shimojo, Y. Okawa, and Y. Tano. Effect of transcorneal electrical stimulation in patients with nonarteritic ischemic optic neuropathy or traumatic optic neuropathy. *Japanese Journal of Ophthalmology*, 50(3):266–273, 2006.
- [38] C. Gall, A. B. Fedorov, L. Ernst, A. Borrmann, and B. A. Sabel. Repetitive transorbital alternating current stimulation in optic neuropathy. *NeuroRehabilitation*, 27(4):335–341, 2010.
- [39] C. Gall, S. Sgorzaly, S. Schmidt, S. Brandt, A. Fedorov, and B. A. Sabel. Noninvasive transorbital alternating current stimulation improves subjective visual functioning and vision-related quality of life in optic neuropathy. *Brain Stimulation*, 4(4):175–188, 2011.
- [40] B. A. Sabel, A. B. Fedorov, N. Naue, A. Borrmann, C. Herrmann, and C. Gall. Non-invasive alternating current stimulation improves vision in optic neuropathy. *Restorative Neurology and Neuroscience*, 29(6):493–505, 2011.

Literaturverzeichnis

- [41] A. Antal, T. Z. Kincses, M. A. Nitsche, O. Bartfai, and W. Paulus. Excitability changes induced in the human primary visual cortex by transcranial direct current stimulation: direct electrophysiological evidence. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, 45(2):702–707, 2004.
- [42] H. H. Jasper. The ten-twenty electrode system of the International Federation (Anhang des Artikels Report of the committee on methods of clinical examination in electroencephalography). *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*, 10(2):370–375, 1957.
- [43] S. Wunder, A. Hunold, P. Fiedler, F. Schlegelmilch, K. Schellhorn, and J. Haueisen. Novel bifunctional cap for simultaneous electroencephalography and transcranial electrical stimulation. *Scientific Reports*, 8(1):7259, 2018.
- [44] Z. Ding, J. Li, D. P. Spiegel, Z. Chen, L. Chan, G. Luo, J. Yuan, D. Deng, M. Yu, and B. Thompson. The effect of transcranial direct current stimulation on contrast sensitivity and visual evoked potential amplitude in adults with amblyopia. *Scientific Reports*, 6:19280, 2016.
- [45] N. Accornero, P. Li Voti, M. La Riccia, and B. Gregori. Visual evoked potentials modulation during direct current cortical polarization. *Experimental Brain Research*, 178(2):261–266, 2007.
- [46] A. Viganò, T. S. D’Elia, S. L. Sava, M. Auvé, V. De Pasqua, A. Colosimo, V. Di Piero, J. Schoenen, and D. Magis. Transcranial Direct Current Stimulation (tDCS) of the visual cortex: a proof-of-concept study based on interictal electrophysiological abnormalities in migraine. *The Journal of Headache and Pain*, 14(1):23, 2013.
- [47] G. Strigaro, I. Mayer, J. C. Chen, R. Cantello, and J. C. Rothwell. Transcranial Direct Current Stimulation Effects on Single and Paired Flash Visual Evoked Potentials. *Clinical EEG and Neuroscience*, 46(3):208–213, 2015.
- [48] Y. Q. Ni, D. K. Gan, H. D. Xu, G. Z. Xu, and C. D. Da. Neuroprotective effect of transcorneal electrical stimulation on light-induced photoreceptor degeneration. *Experimental Neurology*, 219(2):439–452, 2009.
- [49] L. Fu, F. K. Fung, A. C. Lo, Y. K. Chan, K. F. So, I. Y. Wong, K. C. Shih, and J. S. Lai. Transcorneal Electrical Stimulation Inhibits Retinal Microglial Activation and Enhances Retinal Ganglion Cell Survival After Acute Ocular

Literaturverzeichnis

- Hypertensive Injury. *Translational Vision Science and Technology*, 7(3):7, 2018.
- [50] H. Yu, S. Enayati, K. Chang, K. Cho, S. W. Lee, M. Talib, K. Zihlavnikova, J. Xie, H. Achour, S. I. Fried, T. P. Utheim, and D. F. Chen. Noninvasive Electrical Stimulation Improves Photoreceptor Survival and Retinal Function in Mice with Inherited Photoreceptor Degeneration. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, 61(4):5, 2020.
- [51] L. J. Frishman. Origin of the Electroretinogram. In J. R. Heckenlively and G. B. Arden, editors, *Principles and Practice of Clinical Electrophysiology of Vision*, chapter 12, pages 139–184. 2 edition, 2006.
- [52] L. J. Frishman and M. H. Wang. Electroretinogram of human, monkey and mouse. In L. A. Levin, S. F. Nilsson, J. Ver Hoeven, and S. Wu, editors, *Adler's physiology of the eye*, chapter 24, pages 480–501. 11 edition, 2011.
- [53] I. Perlman. The Electroretinogram: ERG. In H. Kolb, E. Fernandez, and R. Nelson, editors, *Webvision: The Organization of the Retina and Visual System [Internet]*, pages 1–43. Salt Lake City (UT): University of Utah Health Sciences Center, Salt Lake City (UT), 2001.
- [54] J. R. Heckenlively and G. B. Arden. *Principles and Practice of Clinical Electrophysiology of Vision*. 2 edition, 2006.
- [55] S. E. Coupland and N. E. Bechrakis. Anatomie, Physiologie und Pathophysiologie. In *Retina Diagnostik und Therapie der Erkrankungen des hinteren Augenabschnittes*, chapter 1, pages 3–18. Thieme Verlag, 2008.
- [56] W. C. Smith. Phototransduction and Photoreceptor Physiology. In J. R. Heckenlively and G. B. Arden, editors, *Principles and Practice of Clinical Electrophysiology of Vision*, chapter 7, pages 65–78. 2 edition, 2006.
- [57] O. Oettel. Verteilung und Zahl der retinalen Ganglienzellen beim Menschen. *Albrecht von Graefes Archiv für Klinische und Experimentelle Ophthalmologie*, 172(1):1–22, 1967.
- [58] A. K. Gross and T. G. Wensel. Biochemical cascade of phototransduction. In L. A. Levin, S. F. Nilsson, J. Ver Hoeven, and S. Wu, editors, *Adler's physiology of the eye*, chapter 18, pages 394–410. 11 edition, 2011.

Literaturverzeichnis

- [59] S. M. Wu. Signal processing in the outer retina. In L. A. Levin, S. F. Nilsson, J. Ver Hoeven, and S. Wu, editors, *Adler's physiology of the eye*, chapter 22, pages 459–470. 11 edition, 2011.
- [60] R. E. Marc. The Synaptic Organization of the Retina. In L. A. Levin, S. F. Nilsson, J. Ver Hoeven, and S. Wu, editors, *Adler's physiology of the eye*, chapter 21, pages 443–458. 11 edition, 2011.
- [61] M. Bach, T. Haarmeier, and J. Dichgans. Visuell evozierte Potenziale und Elektretinogramm. In M. Stöhr, J. Dichgans, U. W. Buettner, and C. W. Hess, editors, *Evozierte Potenziale*, chapter 3, pages 256–368. 4 edition, 2005.
- [62] A. G. Robson, J. Nilsson, S. Li, S. Jalali, A. B. Fulton, A. P. Tormene, G. E. Holder, and S. E. Brodie. ISCEV guide to visual electrodiagnostic procedures. *Documenta Ophthalmologica*, 136(1):1–26, 2018.
- [63] M. Bach and U. Kellner. Elektrophysiologische Diagnostik in der Ophthalmologie. *Ophthalmologe*, 97(12):898–920, 2000.
- [64] M. Bach, T. Haarmeier, and J. Dichgans. Visuell evozierte Potenziale und Elektretinogramm. In *Evozierte Potenziale*, pages 257–258. 2005.
- [65] P. Husar. Statische Analyse von Zeitreihen. In *Elektrische Biosignale in der Medizintechnik*, page 490. Springer Vieweg, 2 edition, 2020.
- [66] H. Heynen and D. van Norren. Origin of the electroretinogram in the intact macaque eye - II: Current source-density analysis. *Vision Research*, 25(5):709–715, 1985.
- [67] P. A. Sieving, K. Murayama, and F. Naarendorp. Push-pull model of the primate photopic electroretinogram: a role for hyperpolarizing neurons in shaping the b-wave. *Visual Neuroscience*, 11(3):519–532, 1994.
- [68] L. Wachtmeister. Oscillatory potentials in the retina: what do they reveal. *Progress in Retinal and Eye Research*, 17(4):485–521, 1998.
- [69] W. Zhou, N. Rangaswamy, P. Ktonas, and L. J. Frishman. Oscillatory potentials of the slow-sequence multifocal ERG in primates extracted using the Matching Pursuit method. *Vision Research*, 47(15):2021–2036, 2007.
- [70] J. Dai, J. He, G. Wang, M. Wang, S. Li, and Z. Q. Yin. Contribution of GABA_A, GABA_C and glycine receptors to rat dark-adapted oscillatory

Literaturverzeichnis

- potentials in the time and frequency domain. *Oncotarget*, 8(44):77696–77709, 2017.
- [71] J. J. McAnany, K. Liu, and J. C. Park. Electrophysiological measures of dysfunction in early-stage diabetic retinopathy: No correlation between cone phototransduction and oscillatory potential abnormalities. *Documenta Ophthalmologica*, 140(1):31–42, 2020.
- [72] M. Gauthier, M. Gauvin, J. M. Lina, and P. Lachapelle. The effects of bandpass filtering on the oscillatory potentials of the electroretinogram. *Documenta Ophthalmologica*, 138(3):247–254, 2019.
- [73] W. Wan, Zi. Chen, and B. Lei. Increase in electroretinogram rod-driven peak frequency of oscillatory potentials and dark-adapted responses in a cohort of myopia patients. *Documenta Ophthalmologica*, 140(2):189–199, 2020.
- [74] J. Meklenburg, E. A. Clancy, and R. Tzekov. Signal processing techniques for oscillatory potential extraction in the electroretinogram: automated highpass cutoff frequency estimation. *Documenta Ophthalmologica*, 125(2):101–111, 2012.
- [75] S. Viswanathan, L. J. Frishman, J. G. Robson, R. S. Harwerth, and E. L. Smith 3rd. The photopic negative response of the macaque electroretinogram: reduction by experimental glaucoma. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, 40(6):1124–1136, 1999.
- [76] S. Viswanathan, L. J. Frishman, J. G. Robson, and J. W. Walters. The photopic negative response of the flash electroretinogram in primary open angle glaucoma. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, 42(2):514–522, 2001.
- [77] J. Kremers, M. Jertila, B. Link, G. Pangeni, and F. K. Horn. Spectral characteristics of the PhNR in the full-field flash electroretinogram of normals and glaucoma patients. *Documenta Ophthalmologica*, 124(2):79–90, 2012.
- [78] N. V. Rangaswamy, S. Shirato, M. Kaneko, B. I. Digby, J. G. Robson, and L. J. Frishman. Effects of Spectral Characteristics of Ganzfeld Stimuli on the Photopic Negative Response (PhNR) of the ERG. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, 48(10):4818–4828, 2007.

Literaturverzeichnis

- [79] M. Bach and M. B. Hoffmann. The Origin of the Pattern Electroretinogram. In J. R. Heckenlively and G. B. Arden, editors, *Principles and Practice of Clinical Electrophysiology of Vision*, chapter 13, pages 185–196. 2 edition, 2006.
- [80] G. E. Holder. The Pattern Electroretinogram. In J. R. Heckenlively and G. B. Arden, editors, *Principles and Practice of Clinical Electrophysiology of Vision*, chapter 22. 2 edition, 2006.
- [81] G. E. Holder. Pattern electroretinography (PERG) and an integrated approach to visual pathway diagnosis. *Progress in Retinal and Eye Research*, 20(4):531–561, 2001.
- [82] C. Perin, B. Viganò, D. Piscitelli, B. M. Matteo, R. Meroni, and C. G. Cerri. Non-invasive current stimulation in vision recovery: a review of the literature. *Restorative Neurology and Neuroscience*, 38(3):239–250, 2020.
- [83] J. Liu, K. Tong, Y. Lin, V. W. H. Lee, K. F. So, K. C. Shih, J.S. M. Lai, and K. Chiu. Effectiveness of Microcurrent Stimulation in Preserving Retinal Function of Blind Leading Retinal Degeneration and Optic Neuropathy: A Systematic Review. *Neuromodulation*, 24(6):992–1002, 2021.
- [84] A. Hunold. *Transcranial electric stimulation - modeling, application, verification*. PhD thesis, Technische Universität Ilmenau, 2021.
- [85] D. R. Merrill, M. Bikson, and J. G. Jefferys. Electrical stimulation of excitable tissue: design of efficacious and safe protocols. *Journal of Neuroscience Methods*, 141(2):171–198, 2005.
- [86] H. Thair, A. L. Holloway, R. Newport, and A. D. Smith. Transcranial Direct Current Stimulation (tDCS): A Beginner’s Guide for Design and Implementation. *Frontiers in Neuroscience*, 11:641, 2017.
- [87] N. Gebodh, Z. Esmailpou, D. Adair, P. Schestattsky, F. Fregni, and M. Bikson. Transcranial Direct Current Stimulation Among Technologies for Low-Intensity Transcranial Electrical Stimulation: Classification, History, and Terminology. In H. Knotkova, M. A. Nitsche, M. Bikson, and A. J. Woods, editors, *Practical Guide to Transcranial Direct Current Stimulation*, chapter 1, pages 3–43. 1 edition, 2019.

Literaturverzeichnis

- [88] M. Bikson, W. Paulus, Z. Esmaeilpour, G. Kronberg, and M. A. Nitsche. Mechanisms of Acute and After Effects of Transcranial Direct Current Stimulation. In H. Knotkova, M. A. Nitsche, M. Bikson, and A. J. Woods, editors, *Practical Guide to Transcranial Direct Current Stimulation*, chapter 3, pages 81–113. Springer, 2019.
- [89] M. A. Nitsche and W. Paulus. Sustained excitability elevations induced by transcranial DC motor cortex stimulation in humans. *Neurology*, 57(10):1899–1901, 2001.
- [90] D. Liebetanz, M. A. Nitsche, F. Tergau, and W. Paulus. Pharmacological approach to the mechanisms of transcranial DC-stimulation-induced after-effects of human motor cortex excitability. *Brain*, 125(Pt 10):2238–47, 2002.
- [91] C. J. Stagg and M. A. Nitsche. Physiological basis of transcranial direct current stimulation. *Neuroscientist*, 17(1):37–53, 2011.
- [92] S. A. Korai, F. Ranieri, V. Di Lazzaro, M. Papa, and G. Cirillo. Neurobiological After-Effects of Low Intensity Transcranial Electric Stimulation of the Human Nervous System: From Basic Mechanisms to Metaplasticity. *Frontiers in Neurology*, 12:587771, 2021.
- [93] Y. Yamada and T. Sumiyoshi. Neurobiological Mechanisms of Transcranial Direct Current Stimulation for Psychiatric Disorders; Neurophysiological, Chemical, and Anatomical Considerations. *Frontiers in Human Neuroscience*, 15:631838, 2021.
- [94] B. A. Sabel, G. Thut, J. Haueisen, P. Henrich-Noack, C. S. Herrmann, A. Hunold, T. Kammer, B. Matteo, E. G. Sergeeva, W. Waleszczyk, and A. Antal. Vision modulation, plasticity and restoration using non-invasive brain stimulation - An IFCN-sponsored review. *Clinical Neurophysiology*, 131(4):887–911, 2020.
- [95] G. Campana, R. Camilleri, A. Pavan, A. Veronese, and G. Lo Giudice. Improving visual functions in adult amblyopia with combined perceptual training and transcranial random noise stimulation (tRNS): a pilot study. *Frontiers in Psychology*, 5:1402, 2014.
- [96] R. Camilleri, A. Pavan, F. Ghin, L. Battaglini, and G. Campana. Improvement of uncorrected visual acuity and contrast sensitivity with perceptual

Literaturverzeichnis

- learning and transcranial random noise stimulation in individuals with mild myopia. *Frontiers in Psychology*, 5:1234, 2014.
- [97] T. Bocci, F. Nasini, M. Caleo, L. Restani, D. Barloscio, G. Ardolino, A. Priori, L. Maffei, M. Nardi, and F. Sartucci. Unilateral Application of Cathodal tDCS Reduces Transcallosal Inhibition and Improves Visual Acuity in Amblyopic Patients. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 12:109, 2018.
- [98] R. Kanai, L. Chaieb, A. Antal, V. Walsh, and W. Paulus. Frequency-dependent electrical stimulation of the visual cortex. *Current Biology*, 18(23):1839–1843, 2008.
- [99] I. D. Evans, S. Palmisano, S. P. Loughran, A. Legros, and R. J. Croft. Frequency-dependent and montage-based differences in phosphene perception thresholds via transcranial alternating current stimulation. *Bioelectromagnetics*, 40(6):365–374, 2019.
- [100] L. Naycheva, A. Schatz, T. Röck, G. Willmann, A. Messias, K. U. Bartz-Schmidt, E. Zrenner, and F. Gekeler. Phosphene thresholds elicited by transcorneal electrical stimulation in healthy subjects and patients with retinal diseases. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, 53(12):7440–7448, 2012.
- [101] A. Antal, I. Alekseichuk, M. Bikson, A. R. Brunoni, R. Chen, L. G. Cohen, G. Douthwaite, J. Ellrich, A. Flöel, F. Fregni, M. S. George, R. Hamilton, J. Haueisen, C. S. Herrmann, F. C. Hummel, J. P. Lefaucheur, D. Liebetanz, C. K. Loo, C. D. Mccaig, C. Miniussi, P. C. Miranda, V. Moliadze, M. A. Nitsche, R. Nowak, F. Padberg, A. Pascual-Leone, W. Poppendieck, A. Priori, S. Rossi, P. M. Rossini, J. Rothwell, M. A. Rueger, G. Ruffini, K. Schellhorn, H. R. Siebner, Y. Ugawa, A. Wexler, U. Ziemann, M. Hallett, and W. Paulus. Low intensity transcranial electric stimulation: Safety, ethical, legal regulatory and application guidelines. *Clinical Neurophysiology*, 128(9):1774–1809, 2017.
- [102] J. Lunze. Beschreibung linearer Systeme im Zeitbereich. In *Regelungstechnik 1*, chapter 4, pages 59 – 74. Springer-Verlag GmbH, 12 edition, 2011.
- [103] B. Heinrich. Mathematische Werkzeuge. In *Grundlagen Regelungstechnik*, chapter 2, pages 25–38. Springer Fachmedien Wiesbaden GmbH, 6 edition,

Literaturverzeichnis

- 2021.
- [104] M. A. Nitsche and W. Paulus. Excitability changes induced in the human motor cortex by weak transcranial direct current stimulation. *Journal of Physiology*, 527(Pt 3):633–639, 2000.
- [105] K. D. Fehér and Y. Morishima. Concurrent Electroencephalography Recording During Transcranial Alternating Current Stimulation (tACS). *Journal of Visualized Experiments*, (107):e53527, 2016.
- [106] A. J. Woods, A. Antal, M. Bikson, P. S. Boggio, A. R. Brunoni, P. Celnik, L. G. Cohen, F. Fregni, C. S. Herrmann, E. S. Kappenman, H. Knotkova, D. Liebetanz, C. Miniussi, P. C. Miranda, W. Paulus, A. Priori, D. Reato, C. Stagg, N. Wenderoth, and M. A. Nitsche. A technical guide to tDCS, and related non-invasive brain stimulation tools. *Clinical Neurophysiology*, 127(2):1031–1048, 2015.
- [107] E. García-Cossio, S. Wunder, K. Schellhorn, and F. Schlegelmilch. Overview of hardware artefacts during simultaneous tES and EEG. In *Poster at the workshop "Perturbing and Enhancing Perception and Action Using Oscillatory Neural Stimulation"(PEPA ON Stimulation)*, Cambridge, UK, 2017.
- [108] M. Bikson, Z. Esmailpour, D. Adair, G. Kronberg, W. J. Tyler, A. Antal, A. Datta, B. A. Sabel, M. A. Nitsche, C. Loo, D. Edwards, H. Ekhtiari, H. Knotkova, A. J. Woods, B. M. Hampstead, B. W. Badran, and A. V. Peterchev. Transcranial electrical stimulation nomenclature. *Brain Stimulation*, 12(6):1349–1366, 2019.
- [109] S. Freitag, A. Hunold, M. Klemm, S. Klee, D. Link, E. Nagel, and J. Haueisen. Pulsed Electrical Stimulation of the Human Eye Enhances Retinal Vessel Reaction to Flickering Light. *Frontiers in Human Neuroscience*, 13:371, 2019.
- [110] K. I. Miyake, M. Yoshida, Y. Inoue, and Y. Hata. Neuroprotective effect of transcorneal electrical stimulation on the acute phase of optic nerve injury. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, 48(5):2356–2361, 2007.
- [111] Y. Okazaki, T. Morimoto, and H. Sawai. Parameters of optic nerve electrical stimulation affecting neuroprotection of axotomized retinal ganglion cells in

Literaturverzeichnis

- adult rats. *Neuroscience Research*, 61(2):129–135, 2008.
- [112] Y. Tagami, T. Kurimoto, T. Miyoshi, T. Morimoto, H. Sawai, and O. Mimura. Axonal regeneration induced by repetitive electrical stimulation of crushed optic nerve in adult rats. *Japanese Journal of Ophthalmology*, 53(3):257–266, 2009.
- [113] P. Henrich-Noack, S. Lazik, E. Sergeeva, S. Wagner, N. Voigt, S. Prilloff, A. Fedorov, and B. A. Sabel. Transcorneal alternating current stimulation after severe axon damage in rats results in "long-term silent survivor" neurons. *Brain Research Bulletin*, 95:7–14, 2013.
- [114] M. C. Blum, A. Hunold, B. Solf, and S. Klee. The Effects of an Ocular Direct Electrical Stimulation on Pattern-Reversal Electroretinogram. *Frontiers in Neuroscience*, 14:588, 2020.
- [115] M. C. Blum and S. Klee. Validation of a measurement setup for simultaneous ERG recording and ocular current stimulation. *Acta Ophthalmologica*, 97, 2019.
- [116] M. C. Blum and S. Klee. P44 Combination of a direct current stimulation of the eye and a simultaneous electroretinogram recording. *Clinical Neurophysiology*, 131(4):e37, 2020.
- [117] M. C. Blum and S. Klee. ERG-Messung bei simultaner okularer Gleichstromstimulation. In *Workshop Biosignale 2020 - Innovative Verarbeitung bioelektrischer und -magnetischer Signale*, 2020.
- [118] M. C. Blum and S. Klee. The influences of an anodal current stimulation on the pattern-reversal ERG. In *World Ophthalmology Congress 2020 Virtual All Abstracts*, 2020.
- [119] M. C. Blum and S. Klee. Variability of pattern-reversal electroretinogram measurements using skin-electrodes. In "Poster Session: Biosignals" *Biomedical Engineering / Biomedizinische Technik*, volume 64 S2, page 182, 2019.
- [120] M. Steinmetz. Universeller Patterngenerator für die Ansteuerung räumlicher Lichtmodulatoren in der universellen Retinakamera. Diplomarbeit, Technische Universität Ilmenau. 2009.

Literaturverzeichnis

- [121] B. Solf. Objektive Messung der Streulichtwahrnehmung mittels elektrophysiologischer Prinzipien. Masterarbeit, Technische Universität Ilmenau. 2017.
- [122] S. Lee, J. Park, J. Kwon, D. H. Kim, and C. H. Im. Multi-channel transorbital electrical stimulation for effective stimulation of posterior retina. *Scientific Reports*, 11(1):9745, 2021.
- [123] A. Hunold, S. Freitag, K. Schellhorn, and J. Haueisen. Simulation of the current density distribution for transcranial electric current stimulation around the eye. *Brain Stimulation*, 8(2):406, 2015.
- [124] A. Jamil, G. Batsikadze, H. I. Kuo, L. Labruna, A. Hasan, W. Paulus, and M. A. Nitsche. Systematic evaluation of the impact of stimulation intensity on neuroplastic after-effects induced by transcranial direct current stimulation. *Journal of Physiology*, 595(4):1273–1288, 2017.
- [125] V. Porciatti, N. Sorokac, and W. Buchser. Habituation of retinal ganglion cell activity in response to steady state pattern visual stimuli in normal subjects. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, 46(4):1296–1302, 2005.
- [126] M. C. Blum, B. Solf, A. Hunold, and S. Klee. Effects of Ocular Direct Current Stimulation on Full Field Electroretinogram. *Frontiers in Neuroscience*, 15:606557, 2021.
- [127] M. C. Blum and S. Klee. Influence of pre-adaptation time to background illumination on photopic negative response of the full-field electroretinogram. *Acta Ophthalmologica*, 100(S267), 2022.
- [128] M. C. Blum and S. Klee. Die Wirkung einer okularen Gleichstromstimulation auf die oszillatorischen Potentiale. In *Abstractband DOG 2021*, volume 118, page 234, 2021.
- [129] M. C. Blum and S. Klee. Influence of the polarity on the stimulation resistance of an ocular direct current stimulation using different electrode parameters. In *"Poster Session: Biosignals" Biomedical Engineering / Biomedizinische Technik*, volume 65, page 242, 2020.
- [130] M. C. Blum, B. Solf, and S. Klee. Photopic negative response during and after ocular direct current stimulation. *Acta Ophthalmologica*, 99:265, 2021.

Literaturverzeichnis

- [131] M. C. Blum, L. Leydolph, and S. Klee. Influence of electric field orientation on the effect of ocular current stimulation using full field electroretinogram. *Current Direction in Biomedical Engineering*, 7(2):167–170, 2021.
- [132] M. C. Blum, A. Hunold, B. Solf, and S. Klee. Ocular direct current stimulation affects retinal ganglion cells. *Scientific Reports*, 11:17573, 2021.
- [133] F. Hui, J. Tang, X. Hadoux, M. Coote, and J. G. Crowston. Optimizing a Portable ERG Device for Glaucoma Clinic: The Effect of Interstimulus Frequency on the Photopic Negative Response. *Translational Vision Science and Technology*, 7(6):26, 2018.
- [134] X. Luo and L. J. Frishman. Retinal pathway origins of the pattern electroretinogram (PERG). *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, 52(12):8571–8584, 2011.
- [135] M. Sustar, G. E. Holder, J. Kremers, C. S. Barnes, B. Lei, N. W. Khan, and A. G. Robson. ISCEV extended protocol for the photopic On-Off ERG. *Documenta Ophthalmologica*, 136(3):199–206, 2018.
- [136] P. D. Lukasiewicz and E. D. Eggers. Signal processing in the inner retina. In L. A. Levin, S. F. Nilsson, J. Ver Hoeven, and S. Wu, editors, *Adler's physiology of the eye*, chapter 23, pages 471–479. 11 edition, 2011.
- [137] T. Otto and M. Bach. Retest variability and diurnal effects in the pattern electroretinogram. *Documenta Ophthalmologica*, 92(4):311–323, 1997.
- [138] M. W. Hankins, S. R. Jones, A. Jenkins, and A. B. Morland. Diurnal daylight phase affects the temporal properties of both the b-wave and d-wave of the human electroretinogram. *Brain Research*, 889(1-2):339–343, 2001.
- [139] Deutsche Ophthalmologische Gesellschaft (DOG); Berufsverband der Augenärzte Deutschlands e. V. (BVA). Transorbitale Wechselstromstimulation bei Optikusatrophie: Dezember 2016. Stellungnahme von DOG und BVA zu "Gall C et al. Alternating Current Stimulation for Vision Restoration after Optic Nerve Damage: A Randomized Clinical Trial. PLoS One 2016". *Ophthalmologe*, 114(2):132–133, 2017.

Anhang

Tabelle A.1: Impedanzwerte des alternativen Elektrodensetups zur simultanen transokularen Gleichstromstimulation und Elektretinogrammmessung aus der Masterarbeit von Blum 2018 [7]. Hierbei waren sechs Gold-Napfelektroden mit einem Durchmesser von 1,2 cm gleichmäßig um das Auge angeordnet. Als Stromstimulationsgegenelektrode diente eine Gummi-Grafit-Elektrode in einem mit Kochsalzlösung befüllten Schwammpad (25 cm^2), welche an der ipsilateralen Schläfe angebracht war. Die Impedanz wurde mit dem im Stromstimulator integrierten Impedanztest gemessen (Wechselstrom, sinusförmig, $200 \mu\text{A}$ Spitze zu Spitze, 20 Hz, kein Offset). Die Messwerte wurden den Messprotokollen entnommen.

Probanden ID	Impedanz in $\text{k}\Omega$	
	Minimum	Maximum
LKIR92w	38	41
RCMA95w	42	46
EAGN94m	36	42
MLOA97w	36	42
Eafa93w	36	43
PLHS93m	27	35
RGGA93w	40	47
HRZK93m	41	53
TASR93m	31	38
NCSK90m	36	39
GLEA95w	37	40
KRBE96m	27	44
NABE95w	38	46
KLSA93w	36	45
RMFL95m	36	39

Anhang

Tabelle A.2: Statistische Ergebnisse des Friedman-Tests ($p^* \leq 0,0042$) zur Untersuchung, ob zwischen den gemessenen Amplituden der Vollfeld-Elektroretinogramme nach der transokularen Gleichstromstimulation ein signifikanter Unterschied zwischen den drei Stimulationsgruppen (kathodale Polarität, anodale Polarität und sham Stromstimulation) vorliegt.

Messzeitpunkt	a-Welle	b'-Welle	b-Welle
ERG 3	0,819	0,038	0,017
ERG 4	0,155	0,449	0,155
ERG 5	0,436	0,070	0,041
ERG 6	0,189	0,247	0,041

Tabelle A.3: Ergebnisse des Friedman-Tests ($p^* \leq 0,0056$) zur Untersuchung, ob zwischen den gemessenen Vollfeld-Elektroretinogrammen (Vollfeld-ERG) vor (ERG 1), 1 min nach (ERG 3) und 5 min nach (ERG 4) der transokularen Gleichstromstimulation zwischen Auge und visuellem Cortex ein signifikanter Stromstimulationseffekt in Bezug auf die charakteristischen Vollfeld-ERG-Amplituden (a-, b'- und b-Welle) vorliegt.

Messzeitpunkt	a-Wellen	b'-Welle	b-Welle
kathodal	0,056	0,161	0,056
anodal	0,662	0,193	0,662
sham	0,101	0,589	0,465

Tabelle A.4: Statistisches Ergebnis des Friedman-Tests ($p^* \leq 0,0056$) zur Untersuchung, ob zwischen den Amplituden der charakteristischen Wellen (P1, P2 und P3-Welle) der oszillatorischen Potentialen vor und nach der transokularen Gleichstromstimulation zwischen Auge und visuellem Cortex ein signifikanter Unterschied vorliegt.

	kathodal			anodal			sham		
	P1	P2	P3	P1	P2	P3	P1	P2	P3
p-Wert	0,838	0,291	0,494	0,838	0,120	0,662	1,000	0,291	0,291

Anhang

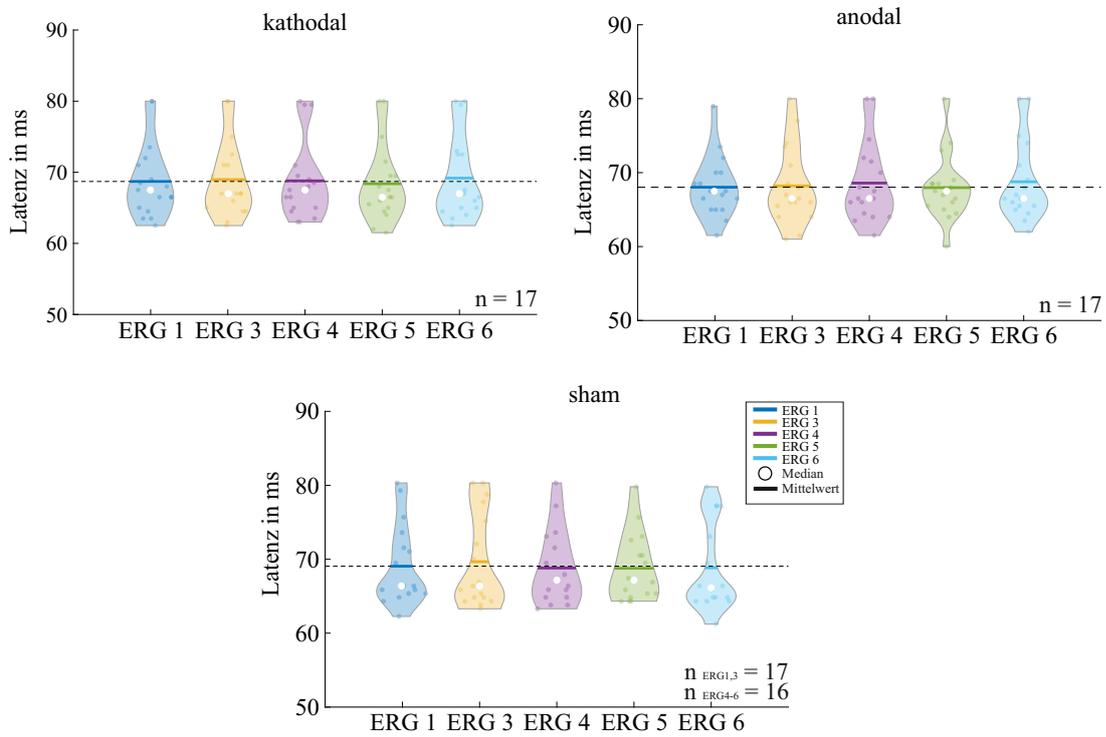


Abbildung A.1: Violin plots zur Darstellung der Datenverteilung der gemessenen photopic negative response Latenzen für die Elektroretinogrammmessungen vor (ERG 1) und nach Beendigung der transokularen Gleichstromstimulation (ERG 3–ERG 6) in allen drei Stromstimulationsgruppen (kathodale Polarität, anodale Polarität und sham Stromstimulation).