

Bruk av pupillometri og pupillreaksjonar i medisinsk forskning

Samandrag

Bakgrunn. Regnbogehinna er eit dynamisk organ som vert regulert av aktiviteten i det autonome nervesystemet, noko ein lenge har utnytta innan medisinen. Aktiviteten til regnbogehinna reflekterer fysiologiske reaksjonar på ulike sensoriske stimuli, som til dømes smerte. Ein finn stadig meir avanserte verkty for å vurdere pupillen, og vi ønskjer å presentere nokre av desse.

Materiale og metode. Artikkelen er basert på litteratursøk i databasane Medline og ISI- Web of Knowledge og på søk i referanselistene til artiklane vi fann.

Resultat og fortolking. Pupillometri er eit forskingsverktøy som stadig vert nytta på nye område innan medisinsk forskning og i klinisk arbeid. Tidlegare var metoden mest nytta innan fagområda oftalmologi og nevrologi, medan han i dag er tatt i bruk på fleire område, mellom anna farmakologi og fysiologi.

Pupillometra vert stadig utbetra i høve til brukarflexibilitet og kva dei kan måle og registrere. Bruksområda for pupillometri er også i vekst, men førebels er dette eit verktøy som gir størst nytte i forskingssamanheng.

Engelsk sammendrag finnes i artikkelen på www.tidsskriftet.no

Oppgitte interessekonflikter: Ingen

Solveig Sandven Kjesbu

Kristin Moksnes

Pål Klepstad

Institutt for sirkulasjon og bildediagnostikk

Heidi Knobel

Stein Kaasa

Institutt for kreftforskning og molekulærmedisin

Ola Dale

ola.dale@medisin.ntnu.no

Institutt for sirkulasjon og bildediagnostikk

Norges teknisk-naturvitenskapelige universitet
Medisinsk Teknisk Forskingssenter
7489 Trondheim

Vi ønskjer å presentere pupillometri som metode, både innan forskning og i klinisk samanheng. Innhaldet er basert på litteratursøk i databasane Medline og ISI- Web of Knowledge og på søk i referanselistene til dei artiklane vi fann.

Anatomien og fysiologien til regnbogehinna

Regnbogehinna (iris) i auget er eit dynamisk organ som vert kontrollert av det autonome nervesystemet. Storleiken på pupillen regulerer mengda av lys som treff netthinna. Pupillen til eit menneske er 1,5–8 mm under normale forhold. Mengda lys som slepp inn i auget kan variere opptil 30 gonger som ei følgje av at storleiken på pupillen vert endra (1). Når lysmengda som treff netthinna brått aukar, vert lysrefleksen utløyst, og pupillen vert mindre (2).

Den glatte muskulaturen i regnbogehinna endrar storleiken på pupillen, gjennom aktivering av anten m. constrictor pupillae eller m. dilatator pupillae. Det er likevekta mellom aktiviteten i desse to musklane som til ei kvar tid avgjer storleiken på pupillen. Dette gir ei «uro» i pupillen, storleiken er i konstant syklisk variasjon, kalla hippus eller oscillasjonar (3).

Den sympatiske delen av det autonome nervesystemet kontrollerer m. dilatator pupillae, og aktiveringa av denne medfører ei forstørning av pupillen (mydriasis). Dei adrenerge reseptorane som sit i denne muskelen, er av subtype α_1 . Parasympatikus aktiverer muskarinreseptorar av subtype M_3 i musculus constrictor pupillae, noko som gir miose (4). M_3 -reseptorar er også ansvarlege for akkomodasjonsaktiviteten til m. ciliaris, difor finn vi miose når akkomodasjonsrefleksen vert utløyst (4).

Reaksjonen til pupillen

Det er lett å observere korleis pupillen reagerer, noko vi kan gjere oss nytte av når vi ønskjer å undersøkje korleis det autonome nervesystemet vert påverka av ulike sensoriske stimuli, medikament, skadar og sjukdommar. Storleiken på og reaksjonen til pupillen vert påverka av auka mengde lys i omgivnaden, og dersom det kontralaterale auget er dekt av ein lapp. Responsen til og storleiken på pupillen varierer også frå dag til dag og etter kva tid på døgnet den vert observert. Under same lystilhøve vert diameteren til pupillen signifikant redusert frå kl 9 og utover dagen (5).

Piha & Halonen fastsette referanseverdier og utvikla ein referansetabell for pupillvariablar hos friske frivillige (6). Dei fann at den statiske diameteren, den absolutte refleksamplituden (initial diameter minus minimumsdiameter) og konstriksjons-/dilatasjonsfarta minka i verdi med aukande alder hos forsøkspersonane.

Auditiv stimuli som utløyser ein emosjonell reaksjon hos menneske kan påverke pupillstorleiken (7). Dabbs fann at pupillane hos begge kjønn auka i storleik tilsvarande 6 % når dei fekk høyre lydar frå eit samleie, og denne dilatasjonen varte i om lag 15 s. Ein nøytral samtale mellom to personar utløyste ein mindre dilatasjon på om lag 3 %, og denne varte berre i om lag 5 s.

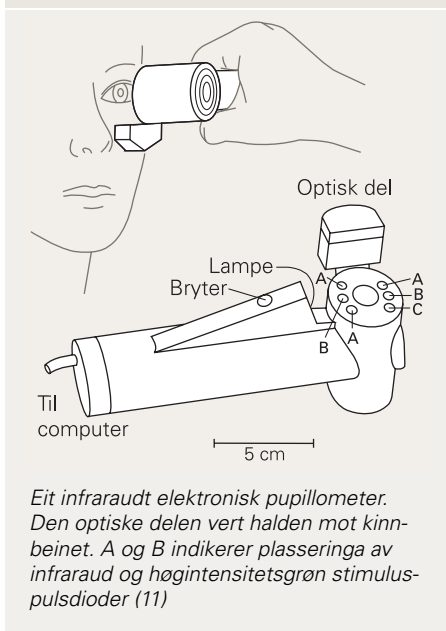
Pupillstorleiken hos friske frivillige vart observert før, under og etter ei smertefull trykkstimulering (8). Gjennomsnittleg pupilldilatasjon auka med kraftigare smertestimuli, frå null utslag ved det lågaste trykknivået, til om lag 8 % ved den kraftigaste trykkstimuleringa. Pupilldilatasjonen hos kvinnene auka i verdi ved svakare stimuli enn hos mennene. Den prosentvise endringa



Hovudbodskap

- Måling av pupillreaksjonar med pupillometri vert i aukande grad nytta innan medisinsk forskning og klinisk arbeid
- Mellom anna er opioidmisbrukarar, medvitslause pasientar og pasientar med diabetes og multipel sklerose studerte
- Mobile handhaldne infraraude pupillometer vert tilrådd for godt resultat og enkel teknikk

Figur 1



Eit infraraudt elektronisk pupillometer. Den optiske delen vert halden mot kinnbeinet. A og B indikerer plasseringa av infraraud og høgintensitetsgrøn stimuluspulsdiodes (11)

i diameteren til pupillen frå før smertestimulering til det kraftigaste trykket var på om lag 12 % hos kvinnene mot 5 % hos mennene. Desse resultatene tyder på at vi kan observere den smerteutløyste sympatiske responsen hos menneske ved å måle endringar i storleiken på pupillen.

Metodar for måling av pupillen sin storleik og reaksjon

Det finst fem hovudtypar av pupillometer. Dei enklaste er Rosenbaum samanliknande kort og Brocas pupillometer (9, 10). Tre meir objektive typar er datastyrte infrarøde video-pupillometer, CU (close up)-kamera og elektroniske infrarøde pupillometer (fig 1) (11).

Prinsippet for Rosenbaum-metoden er at ein har ulike kort forma som ein halvsirkel

med aukande diameter som ein held opp mot auget og samanliknar med storleiken på pupillen (9). Brocas pupillometer nyttar seg av at lys frå to lyskjelder på storleiken med eit knappenålshol, entrar auget og vert brote slik at det vert danna to bilete på netthinna (10).

Datastyrte infrarøde videopupillometer som kan måle både dei statiske og dei dynamiske eigenskapane til pupillen, er rekna som gullstandard (3). Alternativet er såkalla close up-kamera eller elektroniske infrarøde pupillometer som tar topografiske, statiske bilete av pupillen (tab 1) (12).

Det er gjort samanlikningar av dei ulike typane pupillometer ein har for å sjå kor nøyaktige målingar pupillometra gir og om det er mogeleg å reproducere resultatene (9, 11–14). Wachler og medarbeidarar og Pop og medarbeidarar har samanlikna Rosenbaum-kort med infrarøde pupillometer (9, 13). Begge fann at observatøren var den største feilkjelda når ein nytta samanliknande kort. Difor tilrådde dei å nytte infrarøde pupillometer både i forskning og i klinisk samanheng.

Pupillometri og det autonome nervesystemet
Multipel sklerose, Alzheimers sjukdom og diabetes mellitus

Pupillometri er nytta innan ulike medisinske fagområde, både når det gjeld forskning og klinisk arbeid. Tabell 2 gir eit oversyn over område der ein har nytta denne metoden, og somme av desse døma vil vi skildre nærare.

Det autonome nervesystemet kan bli påverka av fleire ulike sjukdomstilstandar, mellom anna multipel sklerose, Alzheimers sjukdom og diabetes mellitus (6, 15–17). de Seze fann ein avvikande pupillreaksjon hos 60 % av pasienter med multipel sklerose (n = 45) i høve til hos friske kontrollpersonar (n = 30), mellom anna

redusert konstriksjonsamplitude og forlenga latenstid for lysrefleksen.

Innhaldet av neurotransmitteren acetylcholin i hjernen er redusert hos pasientar med Alzheimers sjukdom. Fotiou gjennomførte ein pilotstudie med fem friske frivillige, fem pasientar med Alzheimers sjukdom som var medisinerte med ein antikolinesterase og fem pasientar med Alzheimers sjukdom som ikkje var medisinerte. Han fann at latenstida til maksimal miose var redusert både hos pasientar med Alzheimers sjukdom som ikkje fekk behandling (0,53 s) og hos pasientar med denne sjukdomen som fekk behandling (0,62 s) i høve til hos friske (0,81 s) (16). Dei fann også statistisk relevant reduksjon i talet på oscillasjonar hos pasientar med Alzheimers sjukdom utan behandling, middelverdi på 2,8 samanlikna med pasientar under medisineringsmiddelverdi 6,0 og dei friske middelverdi 7,6. Deira hypotese er at denne forkorta latenstida kan vere ein markør for Alzheimers sjukdom, særleg sidan ho vert lite påverka av medisineringsmiddel, og at oscillasjonar kan vurderast som ein tilleggsmarkør.

Nevropati er ein utbreidd komplikasjon til diabetes, og det autonome nervesystemet blir ofte påverka som følgje av dette. Reaksjonsevna til og storleiken på pupillen kan såleis reflektere diabetisk nevropati i det autonome nervesystemet (6, 17). Piha & Halonen samanlikna reaksjonsevna til pupillen hos 36 diabetespasientar med referanseverdier frå friske frivillige (6). Dei delte diabetespasientane i to grupper, dei med og dei utan påvist autonom nevropati i hjartet. 25 % av diabetespasientane utan svekt autonom kontroll av hjartet og 50 % av dei med svekt autonom kontroll hadde eit unormalt resultat i minst ein av fire pupillvariablar. Infraraud pupillometri kan difor vere ein nyttig tilleggsmetode for å måle autonom funksjon, og kan kanskje påvise ein tidleg parasymptatisk skade.

101 barn og ungdommar som hadde diabetes, vart samanlikna med 102 friske kontrollpersonar (17). Diabetespasientane hadde svekt mørkeadaptasjon i form av signifikant mindre median pupilldiameter. Dette funnet var relatert til andre teikn på tidleg nevropati og mikroangiopati, mellom anna auka blodtrykk, redusert variasjon i hjarterate, svekt glykemisk kontroll og auka albuminexkresjon i urin. Såleis kan undersøking av autonom funksjon med pupillometri hos yngre diabetespasientar vere nyttig for å identifisere pasientar med risiko for utvikling av komplikasjonar.

Forgifting og akuttmedisin

I tillegg til sjukdom og fysiologiske reaksjonar kan ei rekkje medikament og naturlege kjemiske substansar påverka pupillen (tab 3). Lysrefleksen til pupillen vert ofte nytta ved vurdering av mogeleg hjerneskade hos ein bevisstlaus pasient, og fråvær av lysrefleks er rekna som eit teikn på alvorleg skade.

Larson & Muhiudeen undersøkte om dei

Tabell 1 Eigenskapar ved statiske og dynamiske pupillometer

Statiske pupillometer		Dynamiske pupillometer	
Eigenskap	Konsekvens	Eigenskap	Konsekvens
Statisk bilete	Kan påverkast av hippusaktiviteten (12)	Dynamiske, repeterte målingar med hyppig frekvens	Slepp å ta omsyn til hippusaktivitet
Lys i omgivnaden/kraftig blits, for å kunne detektere pupillgrensa (CU-kamera)	Mindre pupillar → når raskere nedre grenseverdi (1)	Ofte avhengig av dempa lys/mørke omgivnader	Vanskeleg å gjere målingar i klinisk kvar dag
Mindre avhengig av rett brennvidde under måling (11)	Pupillen vert i dei fleste tilfelle måla opp av forskingspersonalet frå foto → fleire feilkjelder	Meir sårbare for avvik frå brennvidda under måling (11)	Færre feilkjelder
	Avvik frå brennvidda vil ikkje medføre større feil i måleresultatet		Det er som regel vanskeleg å merke seg eit slikt avvik, noko som medfører ein større risiko for feilmåling

kunne finne ein lysrefleks med eit pupillometer hos tre intensivpasientar der personalet hadde konkludert med at dei ikkje fann denne refleksen etter ei rutineundersøking med lommelykt (18). Alle pasientane hadde under den livreddande behandlinga fått medikament som kan påverke lysrefleksen, mellom anna adrenalin og atropin. Pupillometrien påviste ein lysrefleks hos alle tre, varierende frå 0,2 mm til 0,3 mm i maksimal amplitude. Dette syner at pupillometri kan supplere vanleg klinisk undersøking av pupillreaksjonen, til dømes hos ein pasient som kjem inn med lysstive pupillar som følgje av ukjent forgifting.

Opioïd og pupillar ved klinisk undersøking

Opioïd har eksitatorisk verknad på sentrale aktiveringsområde i det parasympatiske nervesystemet og gir difor miose (4, 19). Ved avrusing etter misbruk av opioïd er målemetodane ein nyttar oftast baserte på pasienten si subjektive oppleving. Då mange klinikarar er skeptiske til truverdet i denne pasientgruppa, finst det eit behov for ein objektiv metode for vurdering av pasientane, slik at ein unngår både over- og underbehandling.

Ghodse og medarbeidarar nytta pupillometri for å vurdere om pasientar som startar opp med avrusing er fysisk avhengige av opioïder eller ikkje (20, 21). Dei fann at pupillen hos dei som er fysisk avhengige vert dilatert som resultat av den lokale verknaden til opioïdantagonisten nalokson i auget. Pupillometri kan såleis vera eit hjelpemiddel for ei meir objektiv vurdering av opioïdavhengnaden i denne gruppa. Også Rosse og medarbeidarar nytta seg av pupillometri for å registrere verknaden av opioïd på pupillen i samband med avrusing av misbrukarar (22). Dei fann at store pupillar var assosierte med mindre abstinensar. Dersom pupillen minka i storleik under gradvis nedtrapping av opioïdbehandlinga, rapporterte pasientane større misnøye med doseringa og kraftigare abstinenssymptom.

Pupillometri vart nytta til å følgje 29 pasientar som skulle starte med avrusing knytt til ein dagleg dose metadon (23). Ein fann eit samband mellom diameteren til pupillen og dei ulike stadia i behandlinga. Diameteren auka med om lag 0,6 mm to dagar etter behandlingstart, då pasientane ikkje hadde fått opioïd. Deretter fann ein miose etter oppstart av metadonbehandlinga og fram til maksimal dose vart gitt. Etter nedtrapping til halvparten av maksimaldosen, dilaterte pupillen igjen. Diameteren nådde ein verdi tilsvarende den hos ikkje-misbrukarar mot slutten av behandlinga.

Pupillometri innan eksperimentell farmakologisk forskning

Både smerte og opioïd har ein verknad på pupillen sin storleik og reaksjon. Måling av pupillstorleiken har vore nytta som eit surrogatmål på den sentralnervøse effekten av opioïd.

Tabell 2 Ulike område der ein har nytta pupillometri som forskingsmetode

Forskning med pasientar	Forskning med friske frivillige
Måle pupillen sin storleik før augekirurgi knytt til brytingsfeil (3) (9) (12)	Måle farmakodynamisk effekt av opioïd (24) (25) (26) (27)
Abstinens og fysisk avhengnad hos opioïdmisbrukarar (20) (21) (22) (23)	Måle fysiologisk reaksjon på stimuli som påverkar det autonome nervesystemet (7)
Vurdere pupillen sin lysrefleks hos medvitslause pasientar (18)	Indirekte måle enzymaktivitet hos menneske (28)
Vurdering av korleis ein underliggjande nevrologisk sjukdom påverkar det autonome nervesystemet (15) (16)	Mogeleg objektiv vurdering av pasientar sin smertepåverknad (8)
Vurdere utvikling av nevropati hos diabetespasientar (6) (17)	

Tabell 3 Medikament som verkar på pupillen

Mydriasis		Miose	
Adrenerge agonistar	Kolinerge antagonistar	Kolinerge agonistar	Adrenerge antagonistar
Adrenalin	Atropin	Pilokarpin ¹	Klorpromazin
Dipivefrin ¹	Skopolamin	Pankuronium	Terazosin
Apraklonidin ¹	Tioridazin	Tolterodin	Doxazosin
Fenylefrin ¹	Homatropin ¹	Fysostigmin ²	Prazosin
	Tropikamid ¹	Donepezil ²	Labetalol
	Cyklopentolat ¹	Rivastigmin ²	
	Glykopyrron	Pyridostigmin ²	
	Trisykliske antidepressiver	Neostigmin ²	
	Klozapin	Galantamin ²	
	Disopyramid	Opioïd	
<i>Andre kjemiske substansar med påverknad</i>		<i>Andre kjemiske substansar med påverknad</i>	
Hydroksyamfetamin		Acetylkinolin	
Amfetamin		Muskarin	
Kokain		Karbakolin	
Noradrenalin			
Tyramin			
¹ Topikal applikasjon			
² Antikolinesterase			

Anestesi

Kraftige smertestimuli medfører ein refleksiv dilatasjon av pupillen (8). Denne refleksjonen vert undertrykt når ein pasient får tilført eit opioïd. Dette nytta Larson & Berry seg av for å vurdere den supraspinale verknaden av intravenøst versus epiduralt administrert fentanyl hos pasientar under narkose (24). Dei gav smertestimulering til eit ikkje-lokalbedøva hudområde og alle pasientane hadde ei svekking av refleksdilatasjonen til pupillen. Dei meinte at ein kunne nytte denne svekte refleksjonen som eit mål på den sentrale verknaden til epiduralt administrerte opioïd.

Alternative måtar å administrere opioïd på

Vi har nytta pupillometri for å samanlikne metadon administrert intravenøst, nasalt og per os hos ei gruppe friske frivillige (25). Tida til maksimal sentral effekt gitt ved den minste diameterverdien til pupillen var 0,5 og 0,25

timar etter nasal og intravenøs administrering, mot to timar for metadon gitt per os.

Morfin og morfinmetabolittar

Når morfin vert brote ned i kroppen, vert det danna to aktive metabolittar, morfin-6-glukuronid (M6G) og morfin-3-glukuronid (M3G). M6G medverkar til den smertelindrande effekten av morfin. Pupillometri vart nytta hos friske frivillige til å måle den sentrale verknaden av morfin og M6G, med omsyn til potens og anslagstid (26). Pupillometri synte at deltakarar med ein genetisk variasjon (A118G-polymorfisme) i genet som koder for reseptoren til M6G, trong ei større mengd M6G for å få same mioseffekt som dei utan denne polymorfismen (27).

Pupillometri og enzymaktivitet

30–50 % av total mengd cytokrom P-450(CYP)-enzym i levera er av typen CYP 3A4, og opp mot 70 % av total CYP-mengd i tarmen er CYP 3A4 (28). CYP 3A4 står for

nedbrytinga av langt dei fleste medikament i lever og tarm, difor vil interindividuelle variasjonar i CYP 3A4- aktivitet ha innverknad på effekten til dei fleste medikament som vert administrerte per os (4).

Phimmasone & Kharasch testa om alfentanilindusert miøse reflekterte plasmaclearance av alfentanil (28). Dei fann ein signifikant korrelasjon mellom halveringstid for alfentanilindusert miøse og halveringstida for både alfentanil og midazolam i plasma. Følgjeleg kan verknaden av alfentanil på pupillen vere ein ikkje-invasiv probe på CYP 3A4- aktiviteten.

Fortolkning og framtidsvyar

Indirekte reflekterer pupillen mellom anna verknad på det autonome nervesystemet som følgje av sjukdom eller skade, reaksjonar på sensoriske stimuli og medikamentbruk. I løpet av dei siste 50 åra har ein utvikla stadig meir avanserte pupillometer. Dei pupillometra som kan gjere dynamiske observasjonar er rekna som dei beste, men mobile, handhaldne infraraude pupillometer kan tilrådest for å oppnå eit godt resultat med ein enkel teknikk.

Pupillometri har vorte brukt med ulike angrepsvinklar. I forskning på opioid har ein gjort seg nytte av pupillreaksjonar som eit middel til å forstå farmakologien til dei ulike midla. Innan misbruk er det framleis lite forskning som er gjort, men ein kan sjå for seg pupillometri som eit nyttig hjelpemiddel ved vurdering av denne pasientgruppa. Pupillometri har eit stort potensial som verktøy innan farmakologisk og annan forskning, men førebels er det knytt for mykje uvisse og avgrensande krav til metoden til at han kan nyttast i klinisk rutine.

Litteratur

- Guyton AC, Hall JE. Textbook of medical physiology. 9. utg. Philadelphia: Saunders, 1996.
- Brodal P. Sentralnervesystemet, bygning og funksjon. 2. utg. Oslo: Tano, 1995.
- Rosen E, Gore C, Taylor D et al. Use of a digital infrared pupillometer to assess patient suitability for refractive surgery. *J Cataract Refract Surg* 2002; 28: 1433.
- Gilman A, Limbird LE, Hardman JG et al. *Godman & Gilman's the pharmacological basis of therapeutics*. 10. utg. New York: McGraw-Hill, 2001.
- Fosnaugh JS, Bunker EB, Pickworth WB. Daily variation and effects of ambient light and circadian factors on the human light reflex. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 1992; 14: 545–53.
- Piha SJ, Halonen JP. Infrared pupillometry in the assessment of autonomic function. *Diabetes Res Clin Pract* 1994; 26: 61–6.
- Dabbs JM. Testosterone and pupillary response to auditory sexual stimuli. *Physiol Behav* 1997; 62: 909–12.
- Ellermeier W, Westphal W. Gender differences in pain ratings and pupil reactions to painful pressure stimuli. *Pain* 1995; 61: 435–9.
- Wachler BS, Krueger RR. Agreement and repeatability of infrared pupillometry and the comparison method. *Ophthalmology* 1999; 106: 319–23.
- German EJ, Hurst MA, Wood D. Evaluation of the pinhole pupillometer. *Ophthalmic Physiol Opt* 1998; 18: 484–94.
- Radius A, Welch P, Cone EJ et al. A portable pupillometer system for measuring pupillary size and light reflex. *Behavior Research Methods, Instruments & Computers* 1989; 21: 611–8.
- Wachler BS, Krueger RR. Agreement and repeatability of pupillometry using videokeratography and infrared devices. *J Cataract Refract Surg* 2000; 26: 35–40.
- Pop M, Payette Y, Santoriello E. Comparison of the pupil card and pupillometer in measuring pupil size. *J Cataract Refract Surg* 2002; 28: 283–8.
- Schnitzler EM, Baumeister M, Kohnen T. Scotopic measurement of normal pupils: colvard versus video vision analyzer infrared pupillometer. *J Cataract Refract Surg* 2000; 26: 859–66.
- de Seze J, Arndt C, Stojkovic T et al. Pupillary disturbances in multiple sclerosis: correlation with MRI findings. *J Neurol Sci* 2001; 188: 37–41.
- Fotiou F, Fountoulakis KN, Tsolaki M et al. Changes in pupil reaction to light in Alzheimer's disease patients: a preliminary report. *Int J Psychophysiol* 2000; 37: 111–20.
- Karavanaki K, Davies AG, Hunt LP et al. Pupil size in diabetes. *Arch Dis Child* 1994; 71: 511–5.
- Larson MD, Muhiudeen I. Pupillometric analysis of the «absent light reflex». *Arch Neurol* 1995; 52: 369–72.
- Weinhold LL, Bigelow GE. Opioid miosis: effects of lighting intensity and monocular and binocular exposure. *Drug Alcohol Depend* 1993; 31: 177–81.
- Ghodse H, Taylor DR, Greaves JL et al. The opiate addiction test: a clinical evaluation of a quick test for physical dependence on opiate drugs. *Br J Clin Pharmacol* 1995; 39: 257–9.
- Ghodse AH, Greaves JL, Lynch D. Evaluation of the opiate addiction test in an out-patient drug dependency unit. *Br J Psychiatry* 1999; 175: 158–62.
- Rosse RB, Johri S, Goel M et al. Pupillometric changes during gradual opiate detoxification correlate with changes in symptoms of opiate withdrawal as measured by the Weak Opiate Withdrawal Scale. *Clin Neuropharmacol* 1998; 21: 312–5.
- Grunberger J, Linzmayer L, Fodor G et al. Static and dynamic pupillometry for determination of the course of gradual detoxification of opiate-addicted patients. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 1990; 240: 109–12.
- Larson MD, Berry PD. Supraspinal pupillary effects of intravenous and epidural fentanyl during isoflurane anesthesia. *Reg Anesth Pain Med* 2000; 25: 60–6.
- Dale O, Hoffer C, Sheffels P, Kharasch ED. Disposition of nasal, intravenous, and oral methadone in healthy volunteers. *Clin Pharmacol Ther* 2002; 72: 536–45.
- Lötsch J, Skarke C, Schmidt H et al. The transfer half-life of morphine-6-glucuronide from plasma to effect site assessed by pupil size measurement in healthy volunteers. *Anesthesiology* 2001; 95: 1329–338.
- Lötsch J, Skarke C, Grösch S et al. The polymorphism A118G of the human mu-opioid receptor gene decreases the pupil constrictory effect of morphine-6-glucuronide but not that of morphine. *Pharmacogenetics* 2002; 12: 3–9.
- Phimmasone S, Kharasch ED. A pilot evaluation of alfentanil-induced miosis as a noninvasive probe for hepatic cytochrome P450 3A4 (CYP3A4) activity in humans. *Clin Pharmacol Ther* 2001; 70: 505–17.