

**Messung der Sauerstoffsättigung retinaler Gefäße unter
Glukoseprovokation bei Diabetikern und Normalprobanden**

Dissertation
zur Erlangung des akademischen Grades
doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt dem Rat der Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Schiller-Universität Jena

von **Kai Wildner**
geboren am 11. Januar 1978 in Weißenfels

31. Mai 2005

Erster Gutachter : Herr Prof. Dr. U.A. Müller (Jena)
Zweiter Gutachter : Herr Prof. Dr. C. Erb (Rostock)
Dritter Gutachter : Herr HDoz. Dr.-Ing. habil. D. Schweitzer (Jena)

Tag der öffentlichen Verteidigung: 10.04.2006

Für meine Eltern

Abkürzungsverzeichnis

| | |
|-------------------|--|
| A | Arterie |
| ADA | American Diabetes Association |
| AGE | advanced glycation end products |
| BPG | Bisphosphoglycerat |
| BZ | Blutzucker |
| c _{Hb} | Hämoglobinkonzentration |
| d | Gefäßdurchmesser / Schichtdicke |
| DDG | Deutsche Diabetes-Gesellschaft |
| DOS | arterio-venöse Sauerstoffsättigungsdifferenz |
| E | Extinktion |
| ETDRS | Early Treatment Diabetic Retinopathy Study |
| Hb | Hämoglobin |
| Hb _{A1c} | glykosyliertes Hämoglobin |
| HbO ₂ | Oxyhämoglobin |
| I | Lichtintensität |
| ICCD | Intensified Charge Coupled Device |
| IFDA | Initiativgruppe "Früherkennung diabetischer Augenerkrankungen" |
| IGF-1 | Insulin-like growth factor 1 |
| I _{LED} | lichtemittierende Diode |
| IOP | Augeninnendruck (intraocular pressure) |
| IRMA | intraretinale mikrovaskuläre Anomalien |
| KHK | koronare Herzerkrankung |
| N | Nervus |
| NIR | nahes Infrarot |
| NPDR | nichtproliferative diabetische Retinopathie |
| O ₂ | Sauerstoff |
| OGTT | oraler Glukosetoleranztest |
| OS | Sauerstoffsättigung |
| OSA | arterielle Sauerstoffsättigung |
| OSV | venöse Sauerstoffsättigung |
| p | Signifikanzniveau |
| paV _k | periphere arterielle Verschlusskrankheit |

| | |
|------------------|--|
| PD | Papillendurchmesser |
| PDR | proliferative diabetische Retinopathie |
| ph-Wert | Zahlenwert des negativen dekadischen Logarithmus der molaren Wasserstoffionenkonzentration |
| PKC | Proteinkinase C |
| pCO ₂ | Kohlendioxidpartialdruck |
| pO ₂ | Sauerstoffpartialdruck |
| proinflamm. | proinflammatorisch |
| Q | Blutvolumendurchfluss |
| R | Reflexionsspektren |
| R ² | Bestimmtheitsmaß |
| RR | Blutdruck |
| SW | Stoffwechsel |
| T | Transmission |
| UKPDS | United Kingdom Prospective Diabetes Study |
| V | Vene |
| VEGF | Vascular endothelial growth factor |
| w | Wichtungsfaktoren |
| WHO | World Health Organisation |
| e | Extinktionskoeffizient |
| <i>h</i> | Transportwirkungsgrad |
| u | Blutgeschwindigkeit |

Inhaltsverzeichnis

| | |
|--|-----------|
| 1 EINLEITUNG | 7 |
| 1.1 FOLGEN DES DIABETES MELLITUS | 9 |
| 1.2 DIABETISCHE RETINOPATHIE | 11 |
| 1.2.1 <i>Therapie der diabetischen Retinopathie</i> | 16 |
| 1.3 GEWEBSHYPOXIE UND SAUERSTOFFTRANSPORT..... | 18 |
| 2 ZIELSTELLUNG | 22 |
| 3 MATERIAL UND METHODE | 23 |
| 3.1 PHYSIKALISCHE GRUNDLAGEN DER SPEKTROMETRIE..... | 23 |
| 3.2 MESSUNG DER SAUERSTOFFSÄTTIGUNG AM AUGE..... | 27 |
| 3.2.1 <i>Jenaer-Imaging-Spektrometer 4-Wellenlängenmethode</i> | 28 |
| 3.3 EXPERIMENTELLE ANORDNUNG | 34 |
| 3.4 AUSWAHL DER PROBANDEN..... | 38 |
| 3.5 MESSABLAUF | 40 |
| 3.6 STATISTISCHE AUSWERTUNG..... | 44 |
| 4 ERGEBNISSE | 45 |
| 4.1 ERGEBNISSE DER MESSUNG DER SAUERSTOFFSÄTTIGUNG | 45 |
| 4.1.1 <i>Ergebnisse der Messung der Sauerstoffsättigung bei Normalprobanden</i> | 45 |
| 4.1.2 <i>Ergebnisse der Messung der Sauerstoffsättigung bei Diabetikern</i> | 49 |
| 4.2 VERGLEICH DER SAUERSTOFFSÄTTIGUNG VON NORMALPROBANDEN UND DIABETIKERN | 53 |
| 4.3 ABHÄNGIGKEITEN DER SAUERSTOFFSÄTTIGUNG | 57 |
| 4.3.1 <i>Abhängigkeit der Sauerstoffsättigung von dem Alter der Probanden</i> | 57 |
| 4.3.2 <i>Abhängigkeit der Sauerstoffsättigung von der Diabetesdauer</i> | 58 |
| 4.3.3 <i>Abhängigkeit der Sauerstoffsättigung von Blutzucker und Hb_{A1c}-Wert</i> | 58 |
| 5 DISKUSSION | 60 |
| 5.1 DISKUSSION DER METHODE | 60 |
| 5.2 DISKUSSION DER ERGEBNISSE..... | 70 |

| | |
|--|-----------|
| 5.2.1 Änderung der arteriellen und venösen Sauerstoffsättigung sowie der arterio-venösen Sauerstoffsättigungsdifferenz bei Normalprobanden nach Glukoseprovokation. | 70 |
| 5.2.2 Änderung der arteriellen und venösen Sauerstoffsättigung sowie der arterio-venösen Sauerstoffsättigungsdifferenz bei Diabetikern. | 71 |
| 5.2.3 Vergleich der Ergebnisse von Normalprobanden und Diabetikern | 73 |
| 5.2.4 Änderung der arteriellen und venösen Sauerstoffsättigung sowie der arterio-venösen Sauerstoffsättigungsdifferenz unter verschiedenen Einflussgrößen und Lebensgewohnheiten bei Normalprobanden und Diabetikern | 76 |
| 6 SCHLUSSFOLGERUNG..... | 79 |
| 7 LITERATURVERZEICHNIS..... | 82 |
| 8 ANHANG..... | 90 |

Zusammenfassung

Mit Hilfe der unterschiedlichen Extinktionsspektren von oxygeniertem und desoxygeniertem Hämoglobin ist es möglich, die Sauerstoffsättigung im Blut zu bestimmen.

Basierend auf dieser Grundlage gibt es verschiedene Ansätze zur Sauerstoffsättigungsmessung. So haben z.B. *Beach et al.* mit Hilfe von 2 Wellenlängen die Sauerstoffsättigung bestimmt (Beach et al. 1997). In der Arbeitsgruppe um Schweitzer wurde bisher eine Methode mit 76 Wellenlängen in dem Wellenlängenbereich von 510nm bis 586nm zur Messung der Sauerstoffsättigung in Netzhautgefäßen verwendet.

In dieser Arbeit wurde eine neu entwickelte 4-Wellenlängenmethode des Jenaer-Imaging-Spektrometers zur Bestimmung der retinalen Sauerstoffsättigung getestet und gleichzeitig die Unterschiede der Sauerstoffsättigung bei an Diabetes mellitus erkrankten Probanden im Vergleich zu Gesunden während Glukosebelastung untersucht.

Insgesamt wurden 31 an Diabetes mellitus erkrankte Probanden und 19 Normalprobanden untersucht. Die Messung wurde in Anlehnung an den aus der Literatur bekannten oralen Glukosetoleranztest (OGTT) durchgeführt. In einem ausführlichen Gespräch wurden die Probanden unter anderem über den Messablauf, Zweck und mögliche Risiken der Messung aufgeklärt. Anschließend erfolgte die klinische Untersuchung des Auges. Danach fand die erste von fünf Messungen der Sauerstoffsättigung an den retinalen Gefäßen statt. Anschließend wurde ein Glukosetrunk gegeben, welcher in der Gruppe der Normalprobanden aus 75g Glukose und in der Diabetesgruppe aus 20g Glukose gelöst in 100ml Wasser bestand.

Im Abstand von je 30 Minuten wurden die nächsten vier Sauerstoffsättigungsmessungen ausgeführt. Parallel dazu wurde zu jedem Messzeitpunkt der aktuelle Blutzuckerwert mit Hilfe eines herkömmlichen Blutzuckermessgerätes bestimmt.

Die gemessenen Sauerstoffsättigungswerte für die Gruppe der Normalprobanden und die Gruppe der Diabetiker vor dem Glukosetrunk stimmen mit den Werten überein, die *Kraft* mit Hilfe der 76-Wellenlängenmethode des Jenaer-Imaging-Spektrometers

gemessen hat. Somit lassen sich also auch mit der 4-Wellenlängenmethode vergleichbare Ergebnisse erzielen.

Die Sauerstoffsättigung der retinalen Arteriolen unterschied sich weder im zeitlichen Verlauf innerhalb der einzelnen Probandengruppen noch zwischen den Probandengruppen zu den fünf Messzeitpunkten signifikant.

Die Sauerstoffsättigung der retinalen Venolen zeigte im Verlauf der Messung in der Probandengruppe der Normalpersonen eine signifikante Änderung. 30 Minuten nach Glukosetrunk verringerte sich die Sauerstoffsättigung um ca. 4% im Vergleich zu dem Messwert vor dem Glukosetrunk. Im weiteren Messverlauf glich sich die Sauerstoffsättigung ohne Überschwingen wieder an den Ausgangswert an.

In der Gruppe der an Diabetes mellitus erkrankten Probanden war dieser signifikante Abfall der venösen Sauerstoffsättigung nicht nachweisbar. Es war die Sättigung zu jedem Messzeitpunkt gleich dem Ausgangswert.

Verglich man aber die Werte der Normalprobanden mit denen der Diabetiker, so fiel auf, dass die venöse Sauerstoffsättigung der Diabetiker zu jedem Messzeitpunkt, ausgenommen 120 Minuten nach Glukosetrunk, signifikant höher als in der Vergleichsgruppe war.

Durch Gabe von Glucose wird der Stoffwechsel bei Gesunden, ausgedrückt durch einen gesteigerten Sauerstoffverbrauch, erhöht, was sich in einer Senkung der Sauerstoffsättigung 30 min nach Glucosebelastung zeigt.

Die generell höheren Sauerstoffkonzentrationen in den Venolen bei Diabetikern sind als Ausdruck der gestörten Diffusion des Sauerstoffes durch das Gefäßendothel, ausgelöst durch den bestehenden Insulinmangel, anzusehen. Diese Ergebnisse sind so zu interpretieren, dass die scheinbar bessere Versorgung mit Sauerstoff nur im Gefäßsystem, nicht aber in der Peripherie der Netzhaut vorhanden ist und somit hier trotzdem eine Minderversorgung vorliegt.

Die Ergebnisse stellen eine wichtige Grundlage zur Beurteilung der Sauerstoffversorgung der Netzhaut und zum besseren Verständnis der Mikrozirkulation dar.

Mit Hilfe der 4-Wellenlängenmethode des Jenaer-Imaging-Spektrometers ist es möglich, eine Gruppe Diabetiker von einer Gruppe Normalprobanden zu unterscheiden.

In Zukunft wird es mit Hilfe der 4-Wellenlängenmethode möglich sein, Verfahren zu entwickeln, um die Sauerstoffsättigung zwei-dimensional zu messen.

1 Einleitung

Der Diabetes mellitus ist eine Störung des Stoffwechsels, dem ein absoluter oder relativer Insulinmangel zugrunde liegt und der durch einen erhöhten Blutglukosespiegel charakterisiert ist. Beim Diabetes mellitus Typ-I besteht ein absoluter Insulinmangel, d.h. die pankreatische Insulinproduktion ist vermindert oder aufgehoben (DDG 2003).

Beim Diabetes mellitus Typ-II ist der Insulinmangel relativ. In diesem Erkrankungsfall kann das produzierte Insulin den Bedarf des Körpers nicht mehr decken. Als Ursache wird ein defekter bzw. geschädigter Insulinrezeptor angesehen. Es werden zwei Unterformen unterschieden. Der Diabetes Typ-IIb geht mit Übergewicht einher und ist wesentlich häufiger als der Diabetes Typ-IIa, ohne Übergewicht.

1965 veröffentlichte die Weltgesundheitsorganisation (WHO) Empfehlungen zur Klassifikation und Diagnostik des Diabetes mellitus (Alberti und Zimmet 1998b). Diese wurden 1997 durch die American Diabetes Association (ADA) revidiert und durch neue Kriterien ersetzt (Alberti und Zimmet 1998b).

Klassifikation des Diabetes mellitus (Alberti und Zimmet 1998b):

I Typ-I Diabetes

- a) immunologisch vermittelt
- b) idiopathisch

II Typ-II Diabetes

III Andere spezifische Diabetes-Typen

- a) genetische Defekte der B-Zell-Funktion
- b) genetische Defekte der Insulinwirkung
- c) Erkrankungen des exokrinen Pankreas
- d) Endokrinopathien
- e) medikamenten- oder chemikalieninduziert
- f) Infektionen
- g) seltene Formen des immunvermittelten Diabetes

h) andere, gelegentlich mit Diabetes assoziierte Syndrome

IV Gestationsdiabetes

Die Ursache des Typ-I Diabetes ist eine autoimmunologische Zerstörung der insulinproduzierenden Inselzellen des Pankreas. Er manifestiert sich meist mit den klassischen Symptomen Polyurie, Polydipsie, Ketoazidose und Gewichtsverlust. Im Gegensatz hierzu ist die Erfassung des Typ-II Diabetes häufig ein Zufallsbefund. Nicht selten wird er erst durch mikroangiopathische oder makroangiopathische Komplikationen diagnostiziert. Die Ursache des nichtinsulinabhängigen Typ-II Diabetes liegt in einer noch unvollständig aufgeklärten Wechselwirkung zwischen gestörter Insulinsekretion und peripherer Insulinresistenz.

Diagnosekriterien (DDG 2003):

a) für *Diabetes mellitus*

- klassische Symptome und ein Gelegenheits-Blutglukosewert von $\geq 11,1$ mmol/l
- keine Symptome und wiederholte Bestätigung einer Gelegenheits-Blutglukose $\geq 11,1$ mmol/l oder Nüchternblutglukose von $\geq 6,1$ mmol/l
- 2-h-Wert im venösen Plasma beim oralen Glukosetoleranztest (OGTT) $\geq 11,1$ mmol/l

b) für *gestörte Glukosetoleranz*

- Nüchternglukose nach 2-h-Wert $\geq 7,8$ mmol/l und $< 11,1$ mmol/l

In der Klinik werden folgende Parameter zur Diagnostik, Klassifikation und Verlaufskontrolle des Diabetes herangezogen:

- Blutzuckers (BZ)
- Hb_{A1c}
- OGTT
- Uringlukose

- Ketonkörper im Urin
- C-Peptid
- Fruktosamin
- Immundiagnostik (zytoplasmatische Inselzellautoantikörper, Antikörper gegen Glutamatdecarboxylase, Insulinautoantikörper)

Die Prävalenz des Diabetes mellitus hat epidemische Ausmaße angenommen und ist weiter steigend. Die Krankheit bereitet erhebliche sozialmedizinische Probleme (DDG 2003). Seit langem zählt Diabetes mellitus zu den „Volkskrankheiten“. In den Industrieländern wird ein großer Aufwand für die Behandlung des Diabetes mellitus betrieben. Es werden bis zu 10% der Ausgaben des Gesundheitswesens für die Behandlung der Begleit- und Folgemorbidität aufgewandt.

Aufgrund verschiedener verfügbarer epidemiologischer Studien ergibt sich für Deutschland eine Gesamtprävalenz von etwa 4,5% der Bevölkerung. Allerdings kommt es erst im Alter über 40 Jahre zum raschen Anstieg der Diabetesprävalenz auf bis zu knapp 20% im Alter von über 60 Jahren. Die Prävalenz des Typ-I Diabetes unterhalb des zwanzigsten Lebensjahres liegt in Deutschland zwischen 0,07 und 0,1% (Hauer et al. 1994).

1.1 Folgen des Diabetes mellitus

Die Spätfolgen des Diabetes sind erheblich und werden in der Regel unterschätzt. Die Hyperglykämie beim Diabetes mellitus gilt als ein eigenständiger Risikofaktor für Gefäßkomplikationen. Zudem tragen die assoziierten Komorbiditäten und Folgeerkrankungen erheblich zur Verminderung der Lebensqualität und Lebenserwartung bei (Panzram und Zabel-Langhennig 1981). In Deutschland ist das standardisierte Mortalitätsratio für Diabetes mellitus mit 6,5 - 7,5 zwischen dem 30. und 39. Lebensjahr am höchsten, während es über dem 60. Lebensjahr weniger als 2 beträgt (Michaelis D 1990); (Mortalitätsrisiko die Anzahl an einer Krankheit Verstorbener bezogen auf 100000 Einwohner). In Thüringen betrug das kumulative Mortalitätsrisiko für Typ-I Diabetes nach 25jähriger Erkrankung 21,0%, wobei die

Mehrzahl der verstorbenen Personen makroangiopathische und nephropathische Komplikationen aufwiesen (Schauer 1998). Das relative Gesamtmortalitätsrisiko für 36 - 45jährige Männer mit Typ-II Diabetes liegt bei 5,1 und für 36 - 45jährige Frauen bei 7,0 im Vergleich zur Normalbevölkerung. Bei 46 - 55jährigen betrug es für Männer 2,0 und für Frauen 3,5 (Hanefeld M 1996).

Im Verlauf der Diabeteserkrankung können sowohl makroangiopathische als auch mikroangiopathische Veränderungen auftreten.

Bei der Makroangiopathie handelt es sich um die vorzeitige, beschleunigte Manifestation einer Arteriosklerose mittlerer und großer Blutgefäße. Sie manifestiert sich vor allem als koronare Herzkrankheit (KHK), periphere arterielle Verschlusskrankheit (paVk) und zerebrovaskuläre Insuffizienz.

So ist z.B. die Myokardinfarkt-Inzidenz im Vergleich zur Normalbevölkerung bei Männern 3,7fach und bei Frauen mit Diabetes mellitus 5,9fach erhöht (Löwel H 1999).

Im Einzugsgebiet der Friedrich-Schiller-Universität Jena müssen bei 3% der Typ-I Diabetiker und 4% der Typ-II Diabetiker Fußamputationen aufgrund der Makroangiopathie durchgeführt werden (Schiel et al. 1997). Anhand solcher Beispiele ist der hohe finanzielle Aufwand, der von den Krankenkassen geleistet werden muss, erklärbar.

Neben den makroangiopathischen Veränderungen beeinflussen auch die mikroangiopathischen Veränderungen die Lebensqualität und den Kostenaufwand. Die Nephropathie, die Retinopathie und die Neuropathie sind dabei die wichtigsten Erkrankungen, welche ihren Ursprung in mikroangiopathischen Veränderungen finden. Die Mikroangiopathie ist eine nahezu diabetesspezifische Verdickung der Basalmembran von Kapillaren (Williamson und Kilo 1992).

Bei 20 - 30% der Diabetiker entwickelt sich im Verlauf der Erkrankung eine Nephropathie. In dem Einzugsgebiet der Friedrich-Schiller-Universität Jena lag die Prävalenz einer Proteinurie 1994/95 bei 21% für Patienten mit Typ-I Diabetes und bei 35% für Patienten mit Typ-II Diabetes (Schiel et al. 1997).

Die Verringerung der Sehleistung mit der Gefahr der Erblindung, ist eine der Komplikation des Diabetes mellitus, die eine deutliche Einschränkung der

Lebensqualität bedeuten kann. Das relative Risiko einer Erblindung ist im Vergleich zur Allgemeinbevölkerung fünffach erhöht (Trautner et al. 1997); (Relatives Risiko ist das Maß für den Zusammenhang zwischen einem Risikofaktor und einer Krankheit. Es gibt an, um welchen Faktor eine bestimmte Krankheit bei Personen mit Risikofaktor häufiger auftritt als bei Personen ohne den Risikofaktor).

Insbesondere im Verlauf des Diabetes mellitus ist die nahe-normoglykämische Blutzuckereinstellung für die Vorbeugung von Komplikationen, die durch makro- und/oder mikroangiopathische Veränderungen auftreten, von entscheidender Bedeutung.

Ein Maß für eine gute Blutzuckereinstellung ist der Hb_{A1c}-Wert. Das Risiko für Folgeerkrankungen ist unterhalb eines Hb_{A1c}-Wert von 7% minimal und steigt deutlich an, wenn der Hb_{A1c}-Wert 8% übersteigt (Müller 2005).

Begleiterkrankungen wie Hypertonie (Klein et al. 1989b) oder Hypercholesterinämie (Davis et al. 1998, Chew et al. 1996) können die Progression mikroangiopathischer Veränderungen wie z.B. die diabetische Retinopathie ungünstig beeinflussen (Joussen 2004).

Chase et al. konnte zeigen, dass Nikotin mit der Entstehung und Progression einer diabetischen Retinopathie assoziiert ist (Chase et al. 1991).

1.2 Diabetische Retinopathie

Die diabetische Retinopathie ist in den Industrieländern die häufigste Erblindungsursache im Erwachsenenalter bis zum 75. Lebensjahr (Hammes 2004). Ihr Schweregrad hängt entscheidend von der Krankheitsdauer des Diabetes mellitus ab.

Sie ist eine Mikroangiopathie, die vornehmlich die präkapillären Arteriolen, die Kapillaren und die Venolen der Retina betrifft. Auch größere Gefäße können beteiligt sein. Es treten sowohl Verschlüsse als auch eine abnorme Permeabilität von Gefäßen auf. Trotz umfangreicher internationaler Forschungsarbeiten ist der exakte Pathomechanismus noch nicht vollständig aufgeklärt.

Die folgenden Mechanismen scheinen für den Verschluss kleiner Gefäße verantwortlich zu sein (Kanski und Spitznas 2004, Lang 2004, Gandorfer und Ulbig 2001):

- Verdickung der Basalmembran der Kapillaren (Williamson und Kilo 1992)
- Kollaps der Kapillarwand durch Perizytenschwund (Standl 1983)
- Schädigung der Endothelzellen mit deren Untergang, Migration und endothelialer Proliferation
- Veränderung in den Erythrozyten, die eine Verminderung des Sauerstofftransportes bewirken
- vermehrte Plättchenaggregation.

Ausgelöst durch die Hyperglykämie kommt es zur Bildung zuckerhaltiger Plasmaproteine, wie Fibrinogen, Haptoglobin, α 2-Makroglobulin, sowie der Gerinnungsfaktoren V und VIII. Diese bewirken u.a. eine Erhöhung der Gerinnungsbereitschaft und der Viskosität des Blutes und führen damit zu einem erhöhten Thromboserisiko. Durch Bindung der Glukose an freie Aminogruppen der Proteine und darauf folgende irreversible Umlagerungen entstehen die AGE (advanced glycation end products), welche auch im Alter vermehrt auftreten. Die AGE binden an Rezeptoren der Zellmembran und können dadurch die Ablagerung von Kollagen in den Basalmembranen der Gefäße fördern. Darüber hinaus können die Kollagenfasern durch Glykosylierung verändert werden. Beide Veränderungen bewirken eine Verdickung der Basalmembranen (Lang 2004, Williamson und Kilo 1992).

Ischämie und Hypoxie sind die wichtigsten Folgen der Kapillarverschlüsse. Zu Beginn der diabetischen Retinopathie liegen die nichtperfundierten Areale häufig in der mittleren Peripherie der Netzhaut. Als wichtigste Folge der retinalen Hypoxie kommt es zur Ausbildung von arterio-venösen Umgehungskreisläufen (Shunts) und Gefäßneubildungen.

Diese Shunts sind Folge einer größeren Anzahl von Kapillarverschlüssen. Sie verlaufen relativ gestreckt von Arteriole zu Venole. Da ihr Ursprung (entweder intraretinale Gefäßneubildung oder Erweiterung präformierter Gefäße) noch nicht

geklärt ist, hat sich in der Literatur die Bezeichnung intraretinale mikrovaskuläre Anomalien (IRMA) (ETDRS report number 10 1991, Kanski und Spitznas 2004) durchgesetzt. Hypoxie im Netzhautgewebe führt unter anderem zur Bildung vasoproliferativer Faktoren (vor allem VEGF und IGF-1) (Lang 2004, Clermont et al. 1997). Diese bewirken Neovaskularisationen auf der Netzhaut, auf der Papille und in der Iris, welche als frustraner Versuch einer Revaskularisation angesehen werden können.

Bei diabetischen Patienten kommt es zu einer Verringerung der Perizytenzahl (Standl 1987). Da diese einen wichtigen Stellenwert in der Blut-Retina-Schranke haben, entsteht durch ihren Verlust eine Störung dieser Schrankenfunktion. Außerdem wird vermutet, dass die Verringerung der Perizytenzahl auch eine Ursache für die Aussackungen der Kapillarwand darstellt. Diese Ausstülpungen des Endothels und der Basalmembran werden als Mikroaneurysmen bezeichnet. Sie zeigen eine abnorm hohe Permeabilität oder können durch kleine Thromben verschlossen sein. Studien mit Hilfe der quantitativen Fluorophotometrie haben schon vor ophthalmoskopischer oder angiographischer Nachweisbarkeit diabetischer Veränderungen einen Zusammenbruch der Blut-Retina-Schranke beim Diabetes mellitus nachgewiesen (Cunha-Vaz und Lima 1978). Ein weiterer Bestandteil der Blut-Retina-Schranke, das retinale Pigmentepithel mit seinen intrazellulären Verbindungen, kann bei Diabetes mellitus ebenfalls verändert sein (Standl et al. 1976).

Ein Merkmal der diabetischen Retinopathie betrifft Veränderungen in der Makula. Man unterscheidet zwischen diffuser, fokaler und ischämischer Makulopathie. Die diffuse Makulopathie entsteht als Folge einer flächenhaften, generalisierten Schädigung der Blut-Retina-Schranke. Erhöhte Permeabilität einzelner Kapillaren oder Mikroaneurysmen führen zur Ausbildung einer fokalen Makulopathie (Joussen et al. 2001). Als dritte Form der diabetischen Makulopathie ist die nur fluoreszenzangiographisch nachweisbare ischämische Makulopathie anzusehen (Kroll 1997).

Im chronischen Verlauf der diabetischen Retinopathie entstehen Cotton wool Herde und harte Exsudate lagern sich an der Grenze von gesunder zu ödematöser (hypoxischer) Netzhaut ab.

Ein weiterer Pathomechanismus, der zur Ausbildung der diabetischen Retinopathie führt, ist die verminderte Bildung des 2,3-Diphosphoglycerates (Ditzel und Andersen 1975). Durch den anhaltenden Insulinmangel kommt es zu einem Abfall des 2,3-Disphosphoglycerat (2,3-DPG) in den Erythrozyten, das als allosterischer Regulator des Hämoglobins dessen Sauerstoffaffinität senkt. Der 2,3-DPG-Mangel führt also zu einer erhöhten Affinität des Hb_A zu Sauerstoff, welcher deshalb schlechter an die Netzhaut abgegeben wird.

Glukose kann schließlich mit Hämoglobin direkt reagieren und es entsteht Hb_{A1c}. Der Nachweis einer erhöhten Konzentration von Hb_{A1c} im Blut weist auf eine bereits länger bestehende bzw. wiederholte Hyperglykämie hin. Hb_{A1c} zeigt eine stärkere Affinität zu Sauerstoff als Hb_A und gibt daher in der Peripherie schlechter Sauerstoff ab, was ebenfalls zu hypoxischen Schäden führt.

Im folgenden Schema (Abbildung 1) sind die wichtigsten Pathomechanismen, die zur diabetischen Retinopathie führen, dargestellt (Joussen et al. 2003).

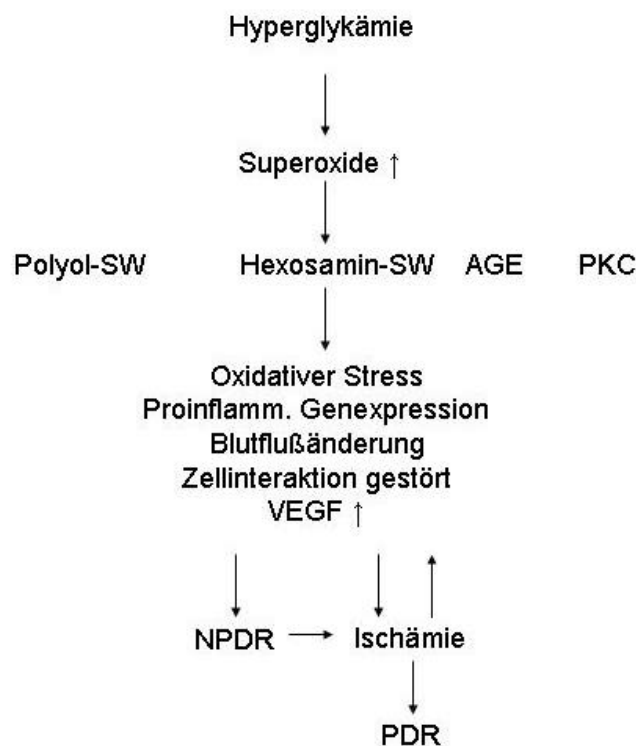


Abbildung 1 Schematische Darstellung der Stoffwechselwege bei der diabetischen Retinopathie (Joussen et al. 2003).

Durch eine Hyperglykämie kommt es zur vermehrten Bildung von Superoxiden, wodurch verschiedene Stoffwechselwege aktiviert werden, die als Folge zu einem erhöhten oxidativen Stress, proinflammatorischer Genexpression,

Blutflussveränderungen, einer gestörten Zellinteraktion sowie zur Bildung von VEGF führen. Diese Mechanismen führen im Ergebnis zur Ischämie und begünstigen somit die Entstehung der diabetischen Retinopathie.

Bei der gegenwärtig üblichen Einteilung der diabetischen Retinopathie (ETDRS report number 10 1991) wird zwischen einer nichtproliferativen und proliferativen diabetischen Retinopathie unterschieden. Zur Vereinfachung wurden die Stadien der nichtproliferativen diabetischen Retinopathie von der IFDA wie folgt unterteilt (Kroll 1997):

- mild → Mikroaneurysmen
- mäßig → Mikroaneurysmen, einzelne intraretinale Blutungen, perlschnurartige Venen
- schwer → „4-2-1“-Regel
Mikroaneurysmen und/oder intraretinale Blutungen in vier Quadranten und/oder perlschnurartige Venen in mindestens zwei Quadranten und/oder intraretinale mikrovaskuläre Anomalien (IRMA) in mindestens ein Quadrant.

Die proliferative diabetische Retinopathie als Spätkomplikation des Diabetes mellitus unterscheidet sich durch variable Aspekte (Ulbig et al. 1993). Neben den Veränderungen, wie sie bei der schweren nichtproliferativen diabetischen Retinopathie auftreten, kommt es zusätzlich zur Gefäßneubildung an der Papille, an großen Gefäßen oder auch in der mittleren Netzhautperipherie. Charakteristisch für dieses Stadium der Retinopathie ist eine morphologische Veränderung des Glaskörpers. Somit kann es durch Schrumpfungsprozesse zu Traktionen an der Netzhaut und somit zur traktiven Netzhautablösung kommen (Kroll 1997). Im Ergebnis können u.a. folgende Veränderungen auftreten:

- Gefäßproliferationen an oder auf der Papille
- periphere Gefäßproliferation

- Präretinale Blutungen
- Glaskörperblutungen
- Netzhautablösung (traktiv)
- Membranbildung
- Neovaskuläres Glaukom.

1.2.1 Therapie der diabetischen Retinopathie

Die Lasertherapie ist die wichtigste Therapiemöglichkeit der diabetischen Retinopathie. Je nach Stadium wurden folgende Richtlinien zur Laserkoagulation veröffentlicht (Kroll 1997, Lemmen 1993, ETDRS report number 9 1991). In den Stadien der milden und mäßigen nichtproliferativen diabetischen Retinopathie wird noch keine Laserbehandlung empfohlen. Im Stadium der schweren nichtproliferativen diabetischen Retinopathie ist eine Laserkoagulation zu erwägen, insbesondere bei Risikopatienten (mangelnde Compliance, Typ-I Diabetes, beginnender Katarakt mit erschwertem Funduseinblick, Risiko-Allgemeinerkrankungen, speziell arterielle Hypertonie, Schwangerschaft). In diesem Fall wird eine „lockere“ panretinale Laserkoagulation (äquivalent zu 1000 Herden mit 500µm Durchmesser) innerhalb 2 - 3 Wochen empfohlen,

Bei der proliferativen diabetischen Retinopathie muss eine panretinale Koagulation (äquivalent zu 2000 Herden mit 500µm Durchmesser), verteilt über einen Zeitraum von ca. 4 - 6 Wochen durchgeführt werden (Diabetic Retinopathy Study Research Group 1987, Ulbig und Kampik 1993). Indikationen zur Lasertherapie bei der proliferativen diabetischen Retinopathie können Neovaskularisation an der Papille, periphere Neovaskularisation, präretinale Blutung oder eine Rubeosis iridis sein.

Bei der fokalen diabetischen Makulaopathie ist eine gezielte Laserkoagulation angezeigt, wenn die umschriebenen Veränderungen ganz oder teilweise innerhalb eines Papillendurchmessers von der Foveola entfernt liegen. Bei der diffusen diabetischen Makulopathie mit generalisiertem perimakulären Ödem kann optional eine gitterartige (GRID) Laserkoagulation des hinteren Pols durchgeführt werden. Bei der ischämischen diabetischen Makulopathie mit fluoreszenzangiographisch

gesichertem Untergang des perifovealen Kapillarnetzes ist eine Laserbehandlung nicht angezeigt (Lemmen 1993).

Bei kombiniertem Auftreten von diabetischer Makulopathie und laserbedürftiger Retinopathie, wird empfohlen, zunächst die Makulopathie gezielt zu lasern und dann panretinal die proliferative Retinopathie, da es sonst zu einer Verschlechterung des Makulabefundes kommen kann.

Sind schwere Spätkomplikationen der proliferativen diabetischen Retinopathie (Glaskörperblutung, Netzhautablösung) aufgetreten, ist ein gaskörperchirurgischer Eingriff (Vitrektomie) indiziert (Helbig et al. 1998, Ulbig und Kampik 1993).

Dabei können Glaskörperblutungen und fibrovaskuläre Proliferationen entfernt, die eventuell abgehobene Netzhaut wieder angelegt und mit dem „Endo-Laser“ eine panretinale Laserkoagulation durchgeführt werden.

Indikationen zur Vitrektomie bei proliferativer diabetischer Retinopathie sind (Ulbig und Kampik 1993, Gandorfer und Kampik 2000):

- schwere nicht resorbierende Glaskörperblutung
- traktionsbedingte oder kombiniert traktiv/rhegmatogene Netzhautablösung mit relativ frischer Beteiligung der Makula
- schwere progressive fibrovaskuläre Proliferationen
- dichte prämakuläre Blutung (subhyaloide Blutung)
- Rubeosis iridis mit Eintrübung des hinteren Augensegmentes
- erythroklastisches Glaukom
- Makulaödem mit prämakulärer Traktion
- Katarakt, der eine Behandlung der schweren proliferativen diabetischen Retinopathie behindert

Gegen die Entstehung und die Progression der diabetischen Retinopathie gibt es auch medikamentöse Therapiemöglichkeiten. Hierzu zählt vor allem die medikamentöse Blutzuckereinstellung (Müller 2005, Schnurrbusch und Wolf 2004), eine gute Blutdruckeinstellung und eine eventuelle Senkung der Blutfettwerte.

In einigen Studien werden aber auch neue Medikamente, die die Entstehung bzw. die Progression der diabetischen Retinopathie verlangsamen sollen, erprobt (Lang 2004). Hierzu zählen vor allem Somatostatinanaloga (Octreotid) (Lang 2004, Böhm et al. 2001), Proteinkinase-C- β -Inhibitoren (Lang und Kampmeier 2002) und bei diabetischer Makulopathie Triamcinolonacetonid (Jonas und Degenring 2002).

1.3 Gewebshypoxie und Sauerstofftransport

Die relative Gewebshypoxie haben *Ditzel et al.* in den Mittelpunkt ihrer Arbeitshypothese über die Entwicklung der diabetischen Mikroangiopathie gestellt (Ditzel 1975).

Gründe für die Hypoxie sind unter anderem der erhöhte O₂-Bedarf unter diabetischen Stoffwechselbedingungen und Kapillarwandveränderungen sowie Obliterationen größerer retinaler Gefäße (Davis et al. 1998).

Durch die Hypoxie werden verschiedene Regelmechanismen ausgelöst. Mit dem Anstieg des Hämoglobins und des 2,3-Diphospho-Glycerates (2,3-DPG) soll bei Gesunden die O₂-Abgabe an das Gewebe verbessert werden (Ditzel und Andersen 1975). Bei Diabetikern kommt es aber, bei unzureichender Einstellung des Diabetes, zur Verringerung des 2,3-DPG sowie zusätzlich zur Entstehung von Hb_{A1c}. Hb_{A1c} besitzt ebenfalls eine erhöhte Affinität zu Sauerstoff; somit führen diese beiden biochemischen Mechanismen zu einer erschwerten Sauerstoffabgabe in der Peripherie.

Ein weiterer wichtiger Regelmechanismus besteht in einer Erhöhung des Blutflusses in den retinalen Gefäßen (Blum et al. 2000).

Dem Stadium einer frühen, durch Autoregulation erklärbaren Vasodilatation folgt nach *Buzney et al.* ein Stadium der chronischen Gefäßerweiterung, in dem es zur Akkumulation von Sorbitol, Dysfunktion der Gefäßwand und zu strukturellen Schäden wie Perizytenverlust und Basalmembranverdickung kommt (Buzney et al. 1977).

Die hypoxiebedingte Durchblutungssteigerung der Retina setzt eine intakte Autoregulation voraus. Eine fortgeschrittene, bei Diabetes mellitus eventuell verfrühte

Arteriosklerose wirkt ebenso wie eine hypertonische Engstellung der retinalen Arteriolen störend auf die Autoregulationsfähigkeit.

Ein offenes Problem ist die Ursache der Gewebshypoxie. Wird die Hypoxie durch eine Mangelversorgung mit Sauerstoff, ausgedrückt durch eine geringere Sauerstoffsättigung, oder durch eine Erhöhung des Diffusionswiderstandes für den in den Gefäßen vorhandenen Sauerstoff zum Gewebe hin, ausgelöst?

Der Sauerstoff ist für den Metabolismus der Netzhaut von entscheidender Bedeutung. Die Netzhaut ist eines der stoffwechselaktivsten Gewebe im menschlichen Organismus. Sie ist somit auf eine optimale Versorgung mit Sauerstoff angewiesen. Ausdruck dafür ist, dass die Glykolyse und die alkoholische Gärung gleichzeitig zur Energiegewinnung beitragen und keine gegenseitige Hemmung beider Wege stattfindet (Pasteur Effekt).

Sauerstoff (O₂) wird im Blut vorwiegend an Hämoglobin (Hb) gebunden transportiert. Durch seinen tetramären Molekülaufbau ist ein Mol Hämoglobin in der Lage, maximal vier Mol O₂ zu binden. Aufgrund des Molvolumens von 22,4l für ideale Gase, ergibt sich, dass 1g Hb 1,39ml O₂ binden kann. Die maximale Bindungskapazität des Blutes lässt sich nun mittels der Hufner-Zahl (Zander und Mertzluft 1988) und der Hb-Konzentration berechnen:

$$O_{2\max} = 1,39 \left(\frac{mlO_2}{gHb} \right) \cdot 150 \left(\frac{gHb}{lBlut} \right) = 0,21 \left(\frac{lO_2}{lBlut} \right) \quad \text{Gleichung 1}$$

Der Konzentrationsanteil des Oxyhämoglobins (HbO₂) an der zur Sauerstoffaufnahme befähigten Hämoglobinkonzentration wird als Sauerstoffsättigung (O₂-Sat) bezeichnet und in Prozent angegeben.

$$O_2 - Sat = \frac{c_{HbO_2}}{(c_{Hb} + c_{HbO_2})} \quad \text{Gleichung 2}$$

Von dem Diffusionsgradienten zwischen Blut und Zelle wird der Sauerstoffaustausch aus dem Blut zur Zelle bestimmt. Der Sauerstoff erreicht die Zelle in physikalisch gelöster Form und ist hier als Partialdruck pO₂ messbar. Zwischen arteriellem

(95mmHg) und intrazellulärem (ca. 10mmHg) Sauerstoffpartialdruck besteht ein großes Partialdruckgefälle (Schenkman et al. 1997).

Die Sauerstoffsättigung hängt unter physiologischen Bedingungen vom Sauerstoffpartialdruck ab. Sauerstoffsättigung und Partialdruck korrelieren in einem sigmoidalem Verhältnis, welches bei der Interpretation der spektrometrisch gemessenen intravasalen Sauerstoffsättigungswerte berücksichtigt werden muss.

Durch Gleichung 3 kann mit den messbaren Größen der Mikrozirkulation, die zur Erfassung des Sauerstofftransportes in den retinalen Gefäßen geeignet sind, das Angebot an Sauerstoff berechnet werden.

$$\text{Angebot} = Q \cdot \text{OSA} \cdot h \cdot c_{Hb} \quad \text{Gleichung 3} \quad (\text{Schweitzer et al. 1995})$$

| | |
|----------|--------------------------------|
| Q | Blutvolumendurchfluss |
| OSA | arterielle Sauerstoffsättigung |
| <i>h</i> | Transportwirkungsgrad |
| c_{Hb} | Hämoglobinkonzentration |

Danach kann das Angebot an Sauerstoff aus dem Produkt des Blutvolumendurchfluss mit der arteriellen Sauerstoffsättigung, dem Transportwirkungsgrad *h* und der absoluten Hämoglobinkonzentration c_{Hb} berechnet werden. Dabei ist Q aus der Messung der Gefäßweite (d) und der Blutgeschwindigkeit (v) zu bestimmen:

$$Q = \frac{v \cdot \pi \cdot d^2}{4} \quad \left(\text{in } \frac{m}{s} \cdot m^2 \right) \quad \text{Gleichung 4}$$

Die Blutgeschwindigkeit kann mit Hilfe der Laser-Doppler Anemometrie eichungsfrei bestimmt werden (Riva et al. 1985). Weitere Möglichkeiten zur Messung der Blutgeschwindigkeit sind Speckle-Verfahren und die Zwei-Punkte-Fluorometrie (Vilser et al. 1979, Oswald et al. 1983).

Mit Hilfe der Messung der arterio-venösen Differenz der Sauerstoffsättigung lässt sich mittels obenstehender Gleichung (Gleichung 4) der Sauerstoffverbrauch in dem

versorgten Areal bestimmen, wenn derselbe Blutvolumendurchfluss in Arterien und Venen angenommen wird.

2 Zielstellung

Es wurde die Sauerstoffsättigung in retinalen Arteriolen und Venolen bei an Diabetes erkrankten und gesunden Probanden gemessen.

Ziel dieser Arbeit war es, die Leistungsfähigkeit einer neu entwickelten 4-Wellenlängenmethode des Jenaer-Imaging-Spektrometers, im Vergleich zu der bisher verwendeten 76-Wellenlängenmethode zu überprüfen und neue Erkenntnisse über den Sauerstofftransport bei an Diabetes erkrankten Probanden zu erhalten. Es sollte untersucht werden, ob die Gewebshypoxie durch eine Mangelversorgung, ausgedrückt durch eine verringerte Sauerstoffsättigung, oder durch eine Diffusionsstörung des Sauerstoffes durch die Gefäßwand ausgelöst wird.

Hierzu war die arterielle und venöse Sauerstoffsättigung sowie die arterio-venöse Sauerstoffsättigungsdifferenz vor und 30, 60, 90 sowie 120 Minuten nach einem Glukosetrunk zur Stoffwechselprovokation zu messen. Es sollten augengesunde Probanden ohne und mit Diabetes verglichen werden.

Folgende Punkte dienten als Leitfaden zur Auswertung und Diskussion der Messergebnisse:

- Evaluation der 4-Wellenlängenmethode des Jenaer-Imaging-Spektrometers
- Spektrometrische Bestimmung der Sauerstoffsättigung an den Gefäßen des menschlichen Fundus bei augengesunden Normalpersonen und Diabetikern
- Berechnung und Vergleich der mittleren arteriellen und venösen Sauerstoffsättigung sowie der arterio-venösen Sauerstoffsättigungsdifferenz mit dem dazugehörigen Standardfehler des Mittelwertes für Normalpersonen und Diabetiker
- Untersuchung des Alterseinflusses auf die Sauerstoffsättigung
- Untersuchung auf Geschlechtsabhängigkeit der Sauerstoffsättigung
- Untersuchung des Einflusses der Diabetesdauer auf die Sauerstoffsättigung
- Untersuchung des Einflusses des Blutzuckers auf die Sauerstoffsättigung
- Untersuchung des Einflusses des Hb_{A1c}-Wertes auf die Sauerstoffsättigung

3 Material und Methode

3.1 Physikalische Grundlagen der Spektrometrie

Basierend auf den unterschiedlichen Extinktionsspektren von oxygeniertem (HbO_2) und desoxygeniertem Hämoglobin (Hb) kann die Sauerstoffsättigung im Blut bestimmt werden. (van Assendelft 1970).

Die Spektren von Hb und HbO_2 zeigen sowohl im sichtbaren als auch im NIR-Spektralbereich unterschiedliche Verläufe. Bei dem Jenaer-Imaging-Spektrometer wird die Auswertung auf den Spektralbereich von 520nm bis 586nm beschränkt. Da im kurzwelligen Spektralbereich infolge der geringen Transmission der Okularmedien eine Messung mit ausreichendem Signal/Rausch-Verhältnis nicht möglich ist und im langwelligen Spektralbereich um 800nm die Extinktionskoeffizienten von Hb und HbO_2 so gering sind, dass Unterschiede in den Extinktionen von Arterien und Venen nur bei sehr großen Schichtdicken, d.h. bei großem Gefäßdurchmesser gemessen werden können, wurde der Bereich zwischen 520nm und 586nm zur Messung herangezogen.

Das Extinktionsspektrum des Oxyhämoglobins ist durch zwei Absorptionsmaxima bei 542nm und 576nm und das des Hämoglobins durch ein Maximum bei 555nm charakterisiert (van Assendelft 1970). An den isosbestischen Punkten, den Schnittpunkten beider Kurven, weisen Hb und HbO_2 bei der dazugehörigen Wellenlänge die gleiche Lichtabsorption auf. Zur spektrometrischen Bestimmung der Sauerstoffsättigung des Blutes werden nun Wellenlängenbereiche genutzt, bei denen sich das Absorptionsverhalten von oxygeniertem und desoxygeniertem Hämoglobin maximal unterscheiden.

In der folgenden Abbildung 2 sind die Spektren der Extinktionskoeffizienten von Oxyhämoglobin und desoxygeniertem Hämoglobin in hämolysiertem Blut, gemessen in einer Küvette nach *Schweitzer et al.* aufgezeigt (Schweitzer et al. 1995). Dabei wird der Extinktionskoeffizient aus dem Quotienten Extinktion/Schichtdickeneinheit berechnet.

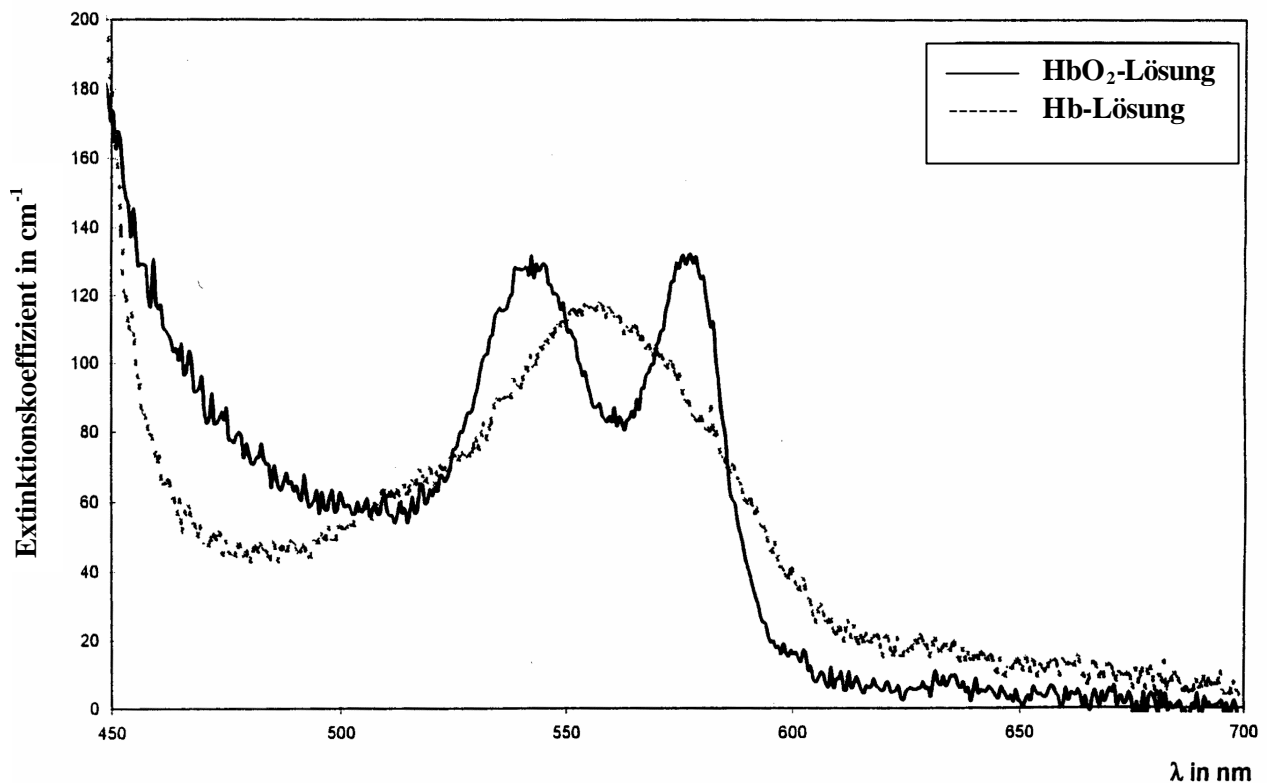


Abbildung 2 Extinktionsspektren von Oxyhämoglobin (HbO₂) und desoxygeniertem Hämoglobin (Hb) in hämolysiertem Blut, gemessen in einer Küvette nach *Schweitzer et al.* (Schweitzer et al. 1995).

Im Lambert-Beer-Gesetz ist die Beziehung zwischen Extinktion, durchstrahlter Schichtdicke und Konzentration einer Lösung beschrieben:

$$E = e \cdot c \cdot d \quad \text{Gleichung 5}$$

Die Extinktion (E) einer Lösung ist proportional der Konzentration (c) der darin gelösten lichtabsorbierenden Substanz, ihrem molaren Extinktionskoeffizienten (e) und der Schichtdicke der Lösung (d).

Wendet man nun das Lambert-Beer-Gesetz auf die Bestimmung der Sauerstoffsättigung im Blut an, so ergibt sich nach *Delori* (Delori et al. 1982, Delori 1988) folgende Gleichung:

$$E(I) = c_{total} \cdot d \cdot [e_{Hb(I)} + O_2 - Sat \cdot (e_{HbO_2}(I) - e_{Hb}(I))] \quad \text{Gleichung 6}$$

| | |
|---------------------|--|
| c_{total} | Gesamt-Hämoglobinkonzentration |
| d | Gefäßdurchmesser |
| e_{Hb}, e_{HbO_2} | Extinktionskoeffizient (Stoffkonstante, bekannt aus Literatur (van Assendelft 1970)) |

Zur Berechnung der Sauerstoffsättigung in retinalen Gefäßen setzt *Delori* die Extinktion des Blutes gleich der optischen Dichte eines Gefäßes, die sich aus dem Logarithmus des Quotienten aus der gemessenen Intensität neben dem Gefäß und der Intensität auf dem Gefäß berechnet

$$OD = \log \left(\frac{I_{nebenGefäß}}{I_{aufGefäß}} \right) \quad \text{Gleichung 7}$$

Aufgrund der bekannten und konstanten Gesamthämoglobinkonzentration wäre für die Berechnung der Sauerstoffsättigung in hämolysiertem Blut die Messung an zwei Wellenlängen ausreichend. Es sind nur die Größen Gefäßdurchmesser und Sauerstoffsättigung zu bestimmen. Die Extinktion des Vollblutes ist zusätzlich zur Absorption des Hämolysates noch durch die Lichtstreuung an den Erythrozyten beeinflusst. Der Extinktionskoeffizient von gesättigtem Vollblut unterscheidet sich deutlich vom Absorptionskoeffizient von Oxyhämoglobin (im Hämolysat), denn die Extinktion berücksichtigt den Einfluss von Absorption und Streuung, die Absorption beschreibt im Gegensatz hierzu nur die Auslöschung des Lichtes durch Umwandlung in Wärme (Schweitzer et al. 1999). Somit berechnet sich die Extinktion unter Beachtung der wellenlängenabhängigen Streuung an der Erythrozytensäule (S_{Ery}) wie folgt (Schweitzer et al. 1995):

$$E(\mathbf{I}) = S_{Ery} + n \cdot \log\left(\frac{1}{\mathbf{I}}\right) + c \cdot d \cdot s \cdot \left[e_{Hb}(\mathbf{I}) + O_2 - Sat \cdot (e_{HbO_2}(\mathbf{I}) - e_{Hb}(\mathbf{I})) \right] \quad \text{Gleichung 8}$$

| | |
|------------|--|
| S_{Ery} | Streuintensität der Erythrozyten |
| n | Exponent der wellenlängenabhängigen Streuung |
| O_2 -Sat | Sauerstoffsättigung |

Wird die Extinktion in dieser Gleichung der optischen Dichte gleichgesetzt, die aus dem Logarithmus der Intensität des Weißstandards durch die Intensität des Fundus berechnet wird, kann die Sauerstoffsättigung in den Gefäßen und im Kapillargewebe bestimmt werden.

Zur technischen Realisierung wird im Jenaer-Imaging-Spektrometer ein Spalt am Fundus mit weißem Licht beleuchtet. Dieser Spalt wird konfokal auf den Eintrittsspalt eines Spektrographen abgebildet, an dessen Ausgang eine ICCD-Empfängermatrix angeordnet ist. Man erhält für jeden Punkt längs eines Spaltes ein Reflexionsspektrum.

Nach Division des Reflexionsspektrums durch das von einem Weißstandard gemessene Spektrum kann das Extinktionsspektrum an eine Modellfunktion nach Gleichung 8 angepasst werden.

3.2 Messung der Sauerstoffsättigung am Auge

Eine Möglichkeit der Messung der retinalen Sauerstoffsättigung ist die von *de Kock et al.* entwickelte Methode, basierend auf dem Prinzip der seit langem in der Anästhesie und Intensivmedizin eingesetzten Pulsoxymetrie. Es wurde eine mittels Pulsoxymeter modifizierte Kontaktlinse für ein kontinuierliches Monitoring der arteriellen Sauerstoffsättigung eingesetzt. Das Verfahren wurde bei anästhesierten Patienten während chirurgischen Eingriffen verwendet (de Kock et al. 1993).

In einer von *Beach et al.* beschriebenen neuen Methode werden simultan zwei Bilder der Retina aufgenommen (Beach et al. 1997). Im Gegensatz zum Jenaer-Imaging-Spektrometer werden bei diesem Verfahren zwei Wellenlängen benötigt, 600nm und 569nm. Die Wellenlänge 569nm ist ein isosbestischer Punkt der Extinktionsspektren von Hb und HbO₂.

Grundlage dieses Verfahrens ist der umgekehrt proportionale Zusammenhang von optischer Dichte und Sauerstoffsättigung, der in den Gleichungen 9 bis 11 dargestellt ist (Beach et al. 1999). Bei diesem Verfahren wurde unter anderem auch der störende Einfluss der retinalen Pigmentierung berücksichtigt, da bei der Wellenlänge von 600nm die Lichtabsorption der Pigmente minimal ist.

$$ODR = \frac{OD_{600}}{OD_{569}} \quad \text{Gleichung 9}$$

$$OS = \frac{1}{ODR} = \frac{OD_{569}}{OD_{600}} \quad \text{Gleichung 10}$$

$$OS = 100\% - \frac{[ODR_{cor,arteriell} - ODR_{cor,venös} - (\Delta D \cdot C)]}{OS_{sens}} \quad \text{Gleichung 11}$$

| | |
|-----|---|
| ODR | Quotient der optischen Dichten |
| OS | Sauerstoffsättigung |
| ΔD | Differenz des arteriellen und venösen Gefäßdurchmessers |
| C | Anstieg |

3.2.1 Jenaer-Imaging-Spektrometer 4-Wellenlängenmethode

In einem weiteren Modell zur Auswertung der vom Fundus gemessenen Reflexionsspektren zur Messung der Sauerstoffsättigung in Gefäßen werden Lichtanteile berücksichtigt, die unterschiedlich durch die Absorption im Blut beeinflusst werden.

Als Primärspektren dienen experimentell ermittelte Transmissionsspektren und Spektren der internen Reflexion an den Erythrozyten in gesättigtem und ungesättigtem Vollblut. Das gemessene Licht besteht aus drei Hauptanteilen:

- transmittiertes Licht (R_T)
- intern reflektiertes Licht (an den Erythrozyten, R'_i)
- gespiegeltes Licht (an der Gefäßwand, R_{sp}),

deren Spektren in unterschiedlichem Maße durch den Sauerstoffgehalt des Blutes beeinflusst sind, siehe Abbildung 3 (Schweitzer et al. 1999).

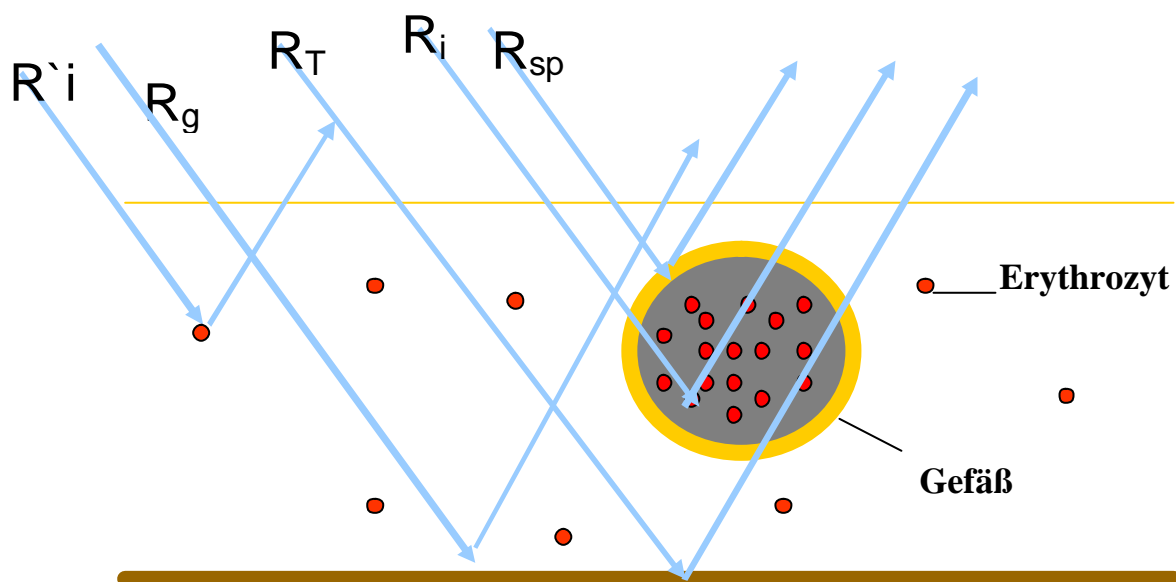


Abbildung 3 Schema des Strahlenganges des transmittierten Lichtanteiles (R_T), des intern an den Erythrozyten reflektierten Lichtes (R'_i). R_g entspricht der Hintergrundreflexion am retinalen Pigmentepithel. Im kapillarisierten Gewebe oder in einer blutgefüllten Küvette kommen R'_i (an Erythrozyten außerhalb eines Gefäßes reflektiertes Licht) und R_T (transmittiertes Licht) als Komponenten des gemessenen Lichtes hinzu (Schweitzer et al. 1999).

Dieses Modell ist für einen Wellenlängenbereich von 510nm – 586nm, bei dem das intern reflektierte Licht als unabhängig von der Schichtdicke des Blutes angenommen wird, gültig. Zur Bestimmung der Sauerstoffsättigung wurden die von einem Gefäß gemessenen Reflexionsspektren $R(I)$ nach Normierung auf die Reflexion eines Weißstandards durch eine Modellfunktion approximiert.

Als Ergebnis einer Approximation des gemessenen Fundus-Reflexionsspektrums an eine Modellfunktion ist die Sauerstoffsättigung bestimmbar (Abbildung 4). Hierbei werden die Parameter der Modellfunktion optimiert, bis die Fehlerquadratsumme zwischen gemessenem Spektrum und der Modellfunktion ein Minimum erreicht. Dies gilt als Kriterium für die optimale Anpassung der Modellfunktion an das gemessene Spektrum.

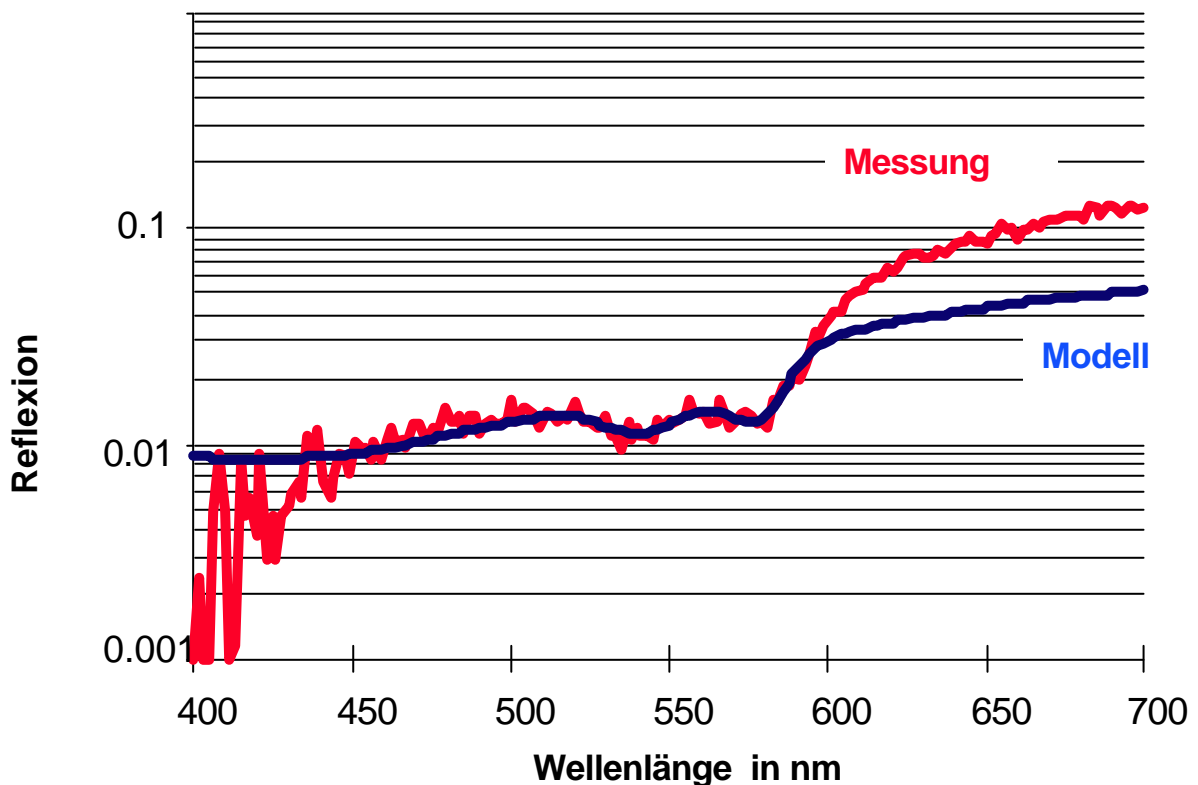


Abbildung 4 Beispiel eines Reflexionsspektrums eines Gefäßes mit der Approximation durch die Modellfunktion

Nachteil der bisher entwickelten Methoden zur Bestimmung der Sauerstoffsättigung am Fundus ist, dass die Messung entweder nur in Gefäßen oder im Kapillargebiet nicht aber zwei-dimensional möglich ist. Deshalb wurde ein neuer Algorithmus entwickelt, der eine zwei-dimensionale Messung der Sauerstoffsättigung ermöglicht. Somit ist mit dieser Methode die Sauerstoffsättigungsmessung nicht auf die Messung im Gefäß beschränkt. Durch die Verwendung von Messungen an vier einzelnen Wellenlängen ist die Unsicherheit, mit der die Sauerstoffsättigung berechnet wird, durch das Signalrauschen an den vier Wellenlängen bestimmt, was zu einer größeren Unsicherheit führt als bei der Approximation des Spektrumverlaufes.

Ein Ziel dieser Arbeit war es zu untersuchen, ob durch die 4-Wellenlängenmethode, zunächst ein-dimensional, ebenso exakte Messwerte für die Sauerstoffsättigung erhoben werden können wie es mit Hilfe der bisher verwendeten 76-Wellenlängenmethode möglich ist. Falls dies möglich ist, kann diese 4-Wellenlängenmethode später auch für die zwei-dimensionale Messung genutzt werden.

Dieser neue Algorithmus ermöglicht die Bestimmung der Sauerstoffsättigung aus vier Messungen (M_{522} , M_{560} , M_{569} und M_{586}) und Referenzdaten (Transmission von vollständig gesättigtem bzw. vollständig reduziertem Blut (R_{522} , $R_{560}^{0\%}$, $R_{560(100\%)}$, R_{569} und R_{586})) bei den isosbestischen Wellenlängen 522nm, 569nm und 586nm sowie bei der Wellenlänge 560nm, bei der sich die Absorption von reduziertem und oxygeniertem Hämoglobin deutlich unterscheiden (Fußnoten bezeichnen die entsprechenden Wellenlängen und Prozente oxygeniertes Hämoglobin). Der Algorithmus besteht aus folgenden sechs Schritten (Hammer et al. 2002):

1. Als MI und RI werden die Logarithmen der Mess- bzw. Referenzwerte gebildet.
2. Eine lineare Funktion $g(I)$ mit $g(522) = R_{522}$ und $g(586) = R_{586}$ wird bestimmt.
3. Eine lineare Funktion $f(I)$ mit $f(522) = M_{522}$ und $f(586) = M_{586}$ wird bestimmt.
4. Die Differenz zwischen $g(I)$ und $f(I)$ wird zu den logarithmierten Messdaten addiert ($g(I)$ ist dann deckungsgleich mit $f(I)$):

$$M'_I = M_I + g(I) - f(I) \qquad \text{Gleichung 12}$$

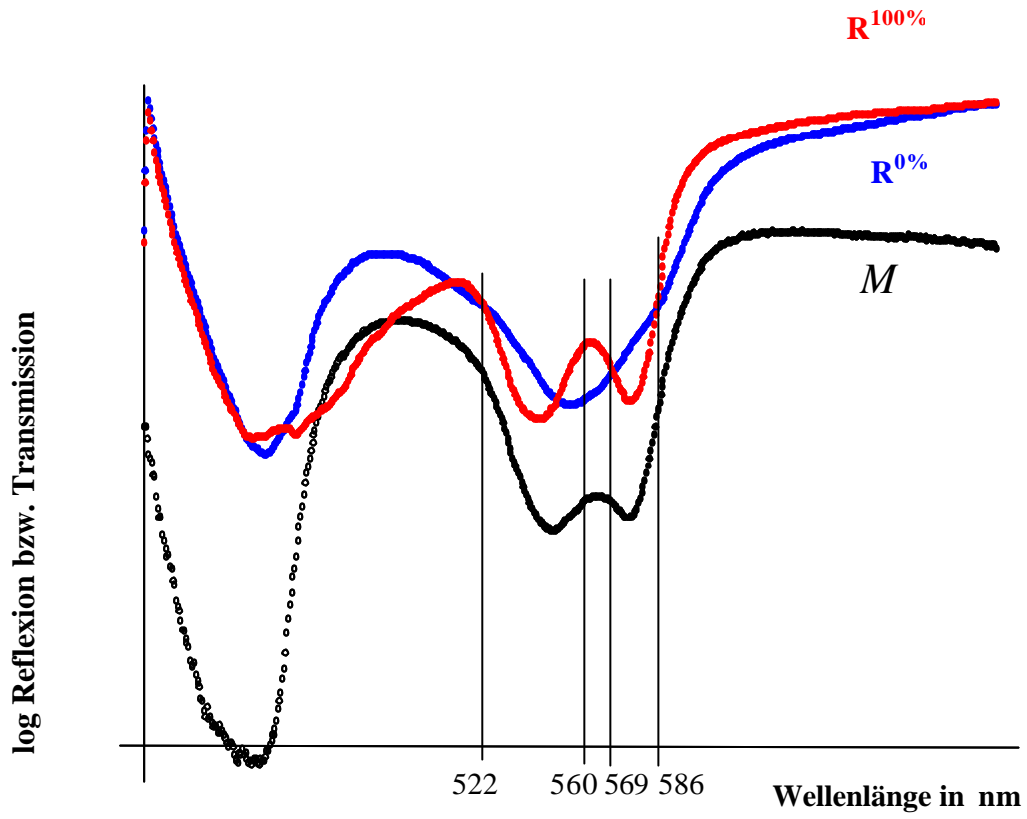


Abbildung 5a) Legende siehe Abbildung 5a-c

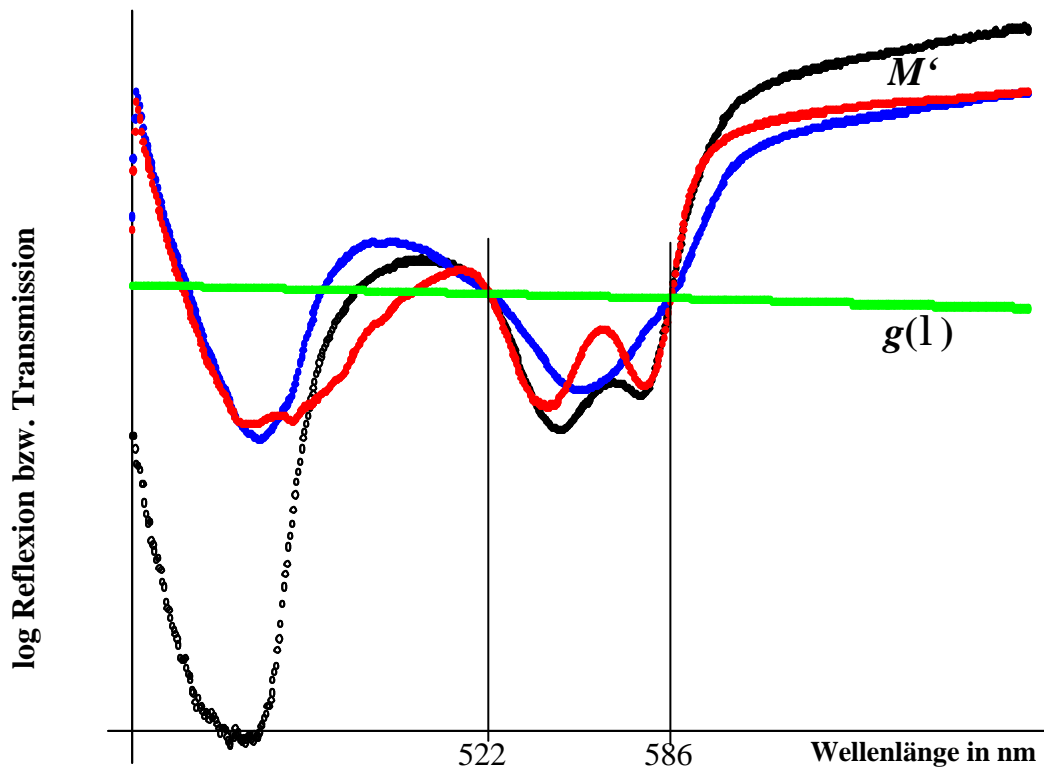


Abbildung 5b) Legende siehe Abbildung 5a-c

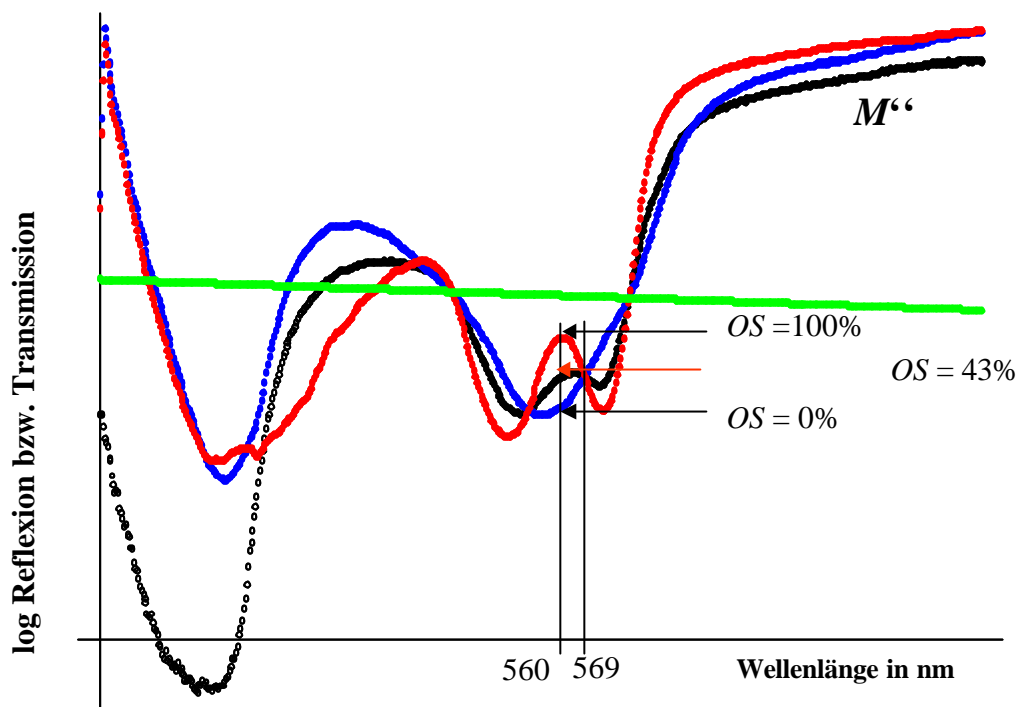


Abbildung 5c) Legende siehe Abbildung 5a-c

Abbildung 5a-c Die Abbildung zeigt in (a) Mess- und Referenzdaten, (b) Messdaten den Referenzdaten bei 522nm und 586nm angepasst (nach Schritt 4 des beschriebenen Algorithmus), (c) Messdaten und Referenzdaten bei 569nm angepasst (Schritt 5), Ablesung der Sauerstoffsättigung nach Schritt 6.

Nach der linearen Transformation der Messwerte stimmen diese für die isosbestischen Wellenlängen 522nm und 586nm mit den Referenzdaten überein (Abb. 5b). Somit werden die neben der Hämoglobinabsorption bestehenden Extinktionen (Absorptionen oder Streuverluste) kompensiert. Voraussetzung für diese Berechnung ist das logarithmisch linear Verhalten der Extinktion mit der Wellenlänge zwischen 522nm und 586nm. Dies gilt in guter Näherung sowohl für die Melaninabsorption als auch für die Gewebestreueung.

- Die Daten M' werden nun um die Gerade $g(I)$ so gestaucht oder gespreizt, dass sie bei der isosbestischen Wellenlänge 569nm mit den Referenzwerten übereinstimmen (Abb. 5c):

$$M_I' = g(I) + \frac{(M_I' - g(I))(R_{569} - g(569))}{M_{569}' - g(569)} \quad \text{Gleichung 13}$$

Dieser Schritt kompensiert unterschiedliche Beleuchtungs- und Beobachtungsgeometrien bei der Aufnahme der Mess- und Referenzdaten.

6. Die Sauerstoffsättigung OS ist durch den Wert M_{560}'' auf einer zwischen $R_{560}^{0\%}$ und $R_{560}^{100\%}$ aufgespannten linearen Skala gegeben (Abb. 5c):

$$OS = \frac{M_{560}'' - R_{560}^{0\%}}{R_{560}^{100\%} - R_{560}^{0\%}} \cdot 100 \quad \text{Gleichung 14}$$

3.3 Experimentelle Anordnung

Das Jenaer-Imaging-Spektrometer besteht aus einer modifizierten Funduskamera RCS 250 (Carl Zeiss Jena, Deutschland), an die über einen Spektrographen CP 200 (Jobin Yvon, Longjumeau, Frankreich) eine ICCD Kamera 576S/RB (Princeton Instruments, Trenton NJ, USA) adaptiert ist (siehe Abbildung 6).

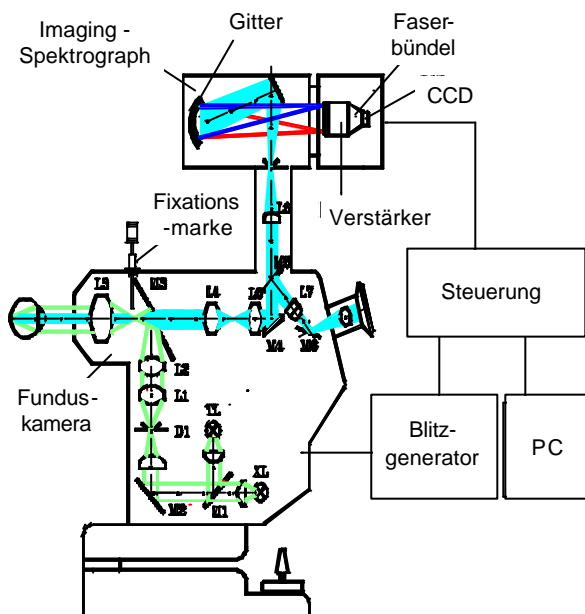


Abbildung 6 Schematische Darstellung des Jenaer-Imaging-Spektrometers

Ein Netzhautareal ($40\mu\text{m} \times 1.5\text{mm}$), in dem sich ein Gefäß befindet, wird durch einen Xenonblitz beleuchtet und konfokal auf den Eingangsspalt des Spektrographen abgebildet. Das Reflexionslicht wird nun durch den Spektrographen zerlegt, während an seiner Ausgangsebene die intensivierte CCD Matrix Kamera ein komplettes Reflexionsspektrum zwischen 400nm und 700nm für jeden beleuchteten Ort aufzeichnet. Das erhaltene Imaging-Spektrum wird als zweidimensionales Bild im Computer abgespeichert. In der Zeit von 10ms werden die Reflexionsspektren aller beleuchteten Fundusareale mit einer adäquaten Pixeldistance von $7,8\mu\text{m}$ am Fundus und einer spektralen Auflösung von weniger als 2nm gemessen. Die Energie eines Xenonblitzes ($12,8\mu\text{J}$) entspricht 8% der maximal zulässigen Exposition. In Abbildung 7 ist die Positionierung eines Messfeldes dargestellt.



Abbildung 7 Positionierung eines Messfeldes an einem Fundusbild, spaltförmige Beleuchtung des Messfeldes über einer Arteriole und einer Venole

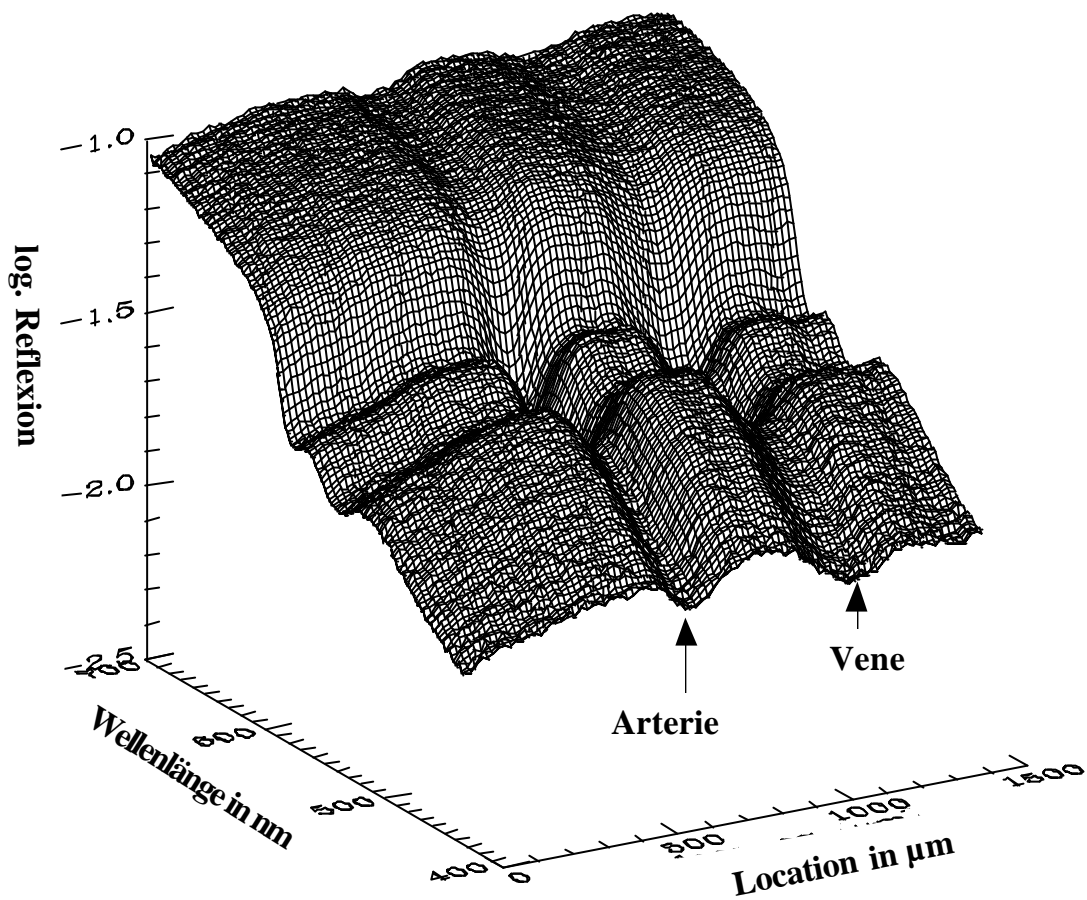


Abbildung 8 **Dreidimensionale Darstellung eines Reflexionsspektrums über einer Arterie und einer Vene**

Als Ergebnis der örtlich aufgelösten spektralen Messung erhält man ein Imaging-Spektrum. Es zeigt sich im Schnitt durch die x-Achse die Arterie und die Vene. Hierbei wird auf der y-Achse die Wellenlänge des reflektierten Lichtes und auf der z-Achse der Logarithmus der Reflexion dargestellt.

In Abbildung 8 ist ein solches Imaging-Spektrum dargestellt.

Ein Vorteil der konfokalen Imaging-Spektrometrie besteht in der Messung der spektralen Informationen aller betrachteten Orte zu einem Zeitpunkt (Schweitzer et al. 1995, Schweitzer et al. 1996). Da die Linse des zu untersuchenden Auges in der Aperturbene liegt, durchdringen alle von verschiedenen Stellen des Fundus reflektierten Strahlen des Messlichtes die Linse in der gleichen Region. Somit fungiert die spektrale Transmission der Linse als ein Faktor aller Spektren von allen Lokalisationen.

Das reflektierte Funduslicht wurde auf die Reflexion an einem Weiß-Reflexionsstandard (Spectralon[®], Reflexion 99%, Labsphere Inc., North Sutton, USA) eines Modellauges normiert. Durch eine Raumwinkelkorrektur werden die geometrisch-optischen Unterschiede zwischen Modellauge und Probandenauge berücksichtigt. In der vorliegenden Arbeit wurden aus diesen Imaging-Spektren nur die Reflexionsspektren bei den vier ausgewählten Wellenlängen (522nm, 560nm, 569nm und 586nm) zur Berechnung der Sauerstoffsättigung herangezogen.

Die Auswahl der vier Wellenlängen erfolgte zur Untersuchung der Leistungsfähigkeit dieses Algorithmus. Auf der Grundlage der in dieser Arbeit erreichten Ergebnisse soll entschieden werden, ob eine 2-dimensionale Berechnung der Sauerstoffsättigung aus 4 monochromatischen Bildern mit ausreichender Genauigkeit realisierbar ist.

Um exakte Messungen mit einem hohen Signal/Rausch-Verhältnis zu gewährleisten, wurden sechs Messungen an jedem einzelnen Ort durchgeführt. Durch eine Fixationshilfe und ständige Kontrolle durch den Untersucher konnte sichergestellt werden, dass jeweils der gleiche Ausschnitt des Fundus gemessen wurde. In Voruntersuchungen hatte sich gezeigt, dass sich bei gleichzeitiger Messung in mehreren Gefäßen infolge von Augenbewegungen die spektralen Informationen unterschiedlicher Gefäße bei der automatischen Auswertung überlagern können.

Im Gegensatz zur automatischen Überlagerung von zehn Reflexionsspektren und anschließender Berechnung der Sauerstoffsättigung aus den Reflexionswerten bei den 4 Wellenlängen hat die einzelne Berechnung der Sauerstoffsättigung mit anschließender Mittelung den Vorteil, dass Ausreißer ausgeschlossen werden können.

Als Ergebnis erhält man optimal sechs Sauerstoffsättigungen, deren Mittelwert für die weiteren Vergleiche herangezogen wird.

3.4 Auswahl der Probanden

Die Messungen erfolgten an je einem Auge von insgesamt 50 Probanden. Es handelte sich um 31 Diabetiker und 19 Normalprobanden der Vergleichsgruppe.

Die Gruppe der Diabetiker teilte sich in 15 an Typ-I Diabetes erkrankte und 16 an Typ-II Diabetes erkrankte Personen auf. Die Dauer des Bestehens der Diabeteserkrankung reichte von 6 Monaten bis zu 29 Jahren.

Die Altersverteilung ist in der Tabelle 1 dargestellt.

In der Gruppe der Normalprobanden befanden sich 1 Raucher und 18 Nichtraucher. Innerhalb der Gruppe der Diabetiker waren 17 Raucher und 14 Nichtraucher.

Insgesamt konnte die Sauerstoffsättigung in 19 Arterien und 18 Venen von Normalprobanden und 31 Arterien und 30 Venen von Diabetikern gemessen werden.

Die arterio-venöse Sauerstoffsättigungsdifferenz konnte 17 mal für die Normalprobanden und 30 mal für die Gruppe der Diabetiker berechnet werden.

| | Anzahl | Alter in Jahren Mittelwert | Altersspanne in Jahren |
|--------------------------------|---------------|---------------------------------------|-----------------------------------|
| männlich gesund | 8 | 32,88 | 23-57 |
| Weiblich gesund | 11 | 25,64 | 18-48 |
| männlich Diabetiker | 19 | 42,16 | 20-65 |
| Weiblich Diabetiker | 12 | 38,25 | 20-67 |

Tabelle 1 Altersverteilung der Probandengruppen

Die Untersuchung fand entsprechend den Richtlinien der Deklaration von Helsinki 1964 und mit der Zustimmung der örtlichen Ethik-Kommission mit dem Beschluss vom 19.09.2000, Bearbeitungsnummer 0384-11/99 statt. Die Probanden wurden mit

Hilfe eines Informationsblattes und einem ausführlichen Gespräch über Ziel und Ablauf des Versuches aufgeklärt und willigten in diesen schriftlich ein.

Folgende Einschlusskriterien wurden bei der Auswahl der Normalpersonen berücksichtigt:

- keine klinisch sichtbaren Fundusveränderungen durch vaskuläre Erkrankungen oder Stoffwechselerkrankungen
- Fernvisus, korrigiert = 0,8
- Nahvisus, korrigiert = Nd 3
- genügend erweiterbare Pupille (= 6mm)
- gute Fixation und Compliance
- günstige Gefäßverläufe (Messung kann nur an annähernd senkrecht verlaufenden Gefäßen durchgeführt werden)
- auswertbare Reflexionsspektren

Als Ausschlusskriterien für die Normalprobanden wurden folgende festgelegt:

- Diabetes mellitus oder andere Stoffwechselerkrankungen
- okuläre Erkrankungen
- vaskuläre Anomalien
- degenerative Netzhauterkrankungen
- provokte Linsentrübungen, zentrale Hornhauttrübungen, dichte Glaskörpertrübungen
- Glaukom, Normaldruckglaukom mit vasospastischer Komponente (Ausnahme bekanntes Offenwinkelglaukom)
- IOP = 22 mmHg
- Entzündungen der vorderen oder hinteren Augenabschnitte
- Zustand nach Netzhautoperationen
- Medikamentöse Therapie (vasoaktive, Mikrozirkulation oder Gerinnung beeinflussende Substanzen wie Betablocker, Kalziumantagonisten, Azetylsalizylsäure)

Für die Gruppe der Diabetiker galten bis auf das Vorliegen der Stoffwechselerkrankung Diabetes die gleichen Ein- und Ausschlusskriterien. In der

Gruppe der Diabetiker bestand keine klinisch nachweisbare diabetische Retinopathie.

Bei beiden Probandengruppen wurde die Messung im nüchternen Zustand durchgeführt. Sie wurden aufgefordert am Vorabend die letzte Mahlzeit zu sich zu nehmen. Somit durften die Diabetiker vor und während der Untersuchung kein schnell wirksames Insulin spritzen, bzw. keine oralen Antidiabetika einnehmen. Bei zu hohem Blutzuckerausgangswert bzw. zu starkem Anstieg dieses während der Messung wurde die Untersuchung abgebrochen, und medikamentös behandelt. Außerdem wurden die Probanden angehalten, sowohl vor als auch während der Messung weder Koffein noch Nikotin oder andere die Regulationsfähigkeit der Gefäße beeinflussende Substanzen zu sich zu nehmen.

3.5 Messablauf

Vor Beginn der eigentlichen Untersuchung wurden die Probanden in einem ausführlichen Gespräch und mit Hilfe des Aufklärungsblattes über Ablauf, mögliche Komplikationen und Ziele der Messung informiert, und sie stimmten schriftlich zu an dieser Studie teilzunehmen.

Zunächst wurden die Probanden über ihren aktuellen Gesundheitsstand befragt. In diesem Gespräch wurden sowohl der Diabetes Typ, die Diabetesdauer, Medikamente als auch Begleiterkrankungen und Gewohnheiten wie z.B. sportliche Aktivität, Kaffee, Tee, Nikotin und Alkoholkonsum erfragt.

Anschließend folgte eine komplette augenärztliche Untersuchung mit Visusbestimmung, Spaltlampenmikroskopie der vorderen Augenabschnitte, non contact Tensionsmessung, indirekter Funduskopie zur Beurteilung des hinteren Augenpols mit der +90dpt – Vorsatzlinse nach VOLK an der Zeiss-Spaltlampe sowie der Netzhautperipherie mit der +20dpt – Vorsatzlinse nach VOLK unter Zuhilfenahme eines Kopffthalmoskopes oder Bonoskopes. Der Schwerpunkt lag hierbei in der Beurteilung des Gefäßstatus mit Verlauf, Gefäßdurchmesser, Tortuositas, Reflexbild

der Gefäßwand, Kaliberschwankungen, Gefäßanomalien wie z.B. Aneurysmen, Blutungen etc..

Des Weiteren wurde der Blutdruck bestimmt und bei fehlendem aktuellen Hb_{a1c} -Wert des Diabetikers Kapillarblut zur Bestimmung des Wertes entnommen.

Vor der genauen Fundusuntersuchung wurde die Pupille medikamentös mit Tropicamid (Mydriaticum Stulln[®], Pharma Stulln GmbH, Nabburg, Deutschland) erweitert. Voraussetzung für die Messung war ein Pupillendurchmesser von = 6 mm. Bevor die eigentliche Messung begann, wurde noch eine Fotodokumentation des hinteren Poles der Netzhaut durchgeführt.

Am Jenaer-Imaging-Spektrometer wurde der sitzende Patient zunächst in die für die Untersuchung beste und für ihn angenehmste Position gebracht und dazu angehalten, eine Innenmarke oder eine außen befindliche Leuchtmarke zu fixieren. Jeweils vor der Messung eines Patienten erfolgte die Bestimmung des Dunkelstromes sowie ein Weißabgleich am Modellauge, zur Bestimmung der aktuellen spektralen Verteilung des Lichtblitzes.

Mittels der Fixiermarke wurde das gewünschte Netzhautareal mit den darin verlaufenden Gefäßen eingestellt. Dabei wurde darauf geachtet, die Gefäße möglichst im senkrechten Verlauf darzustellen, um eine exakte Messung zu gewährleisten. Die Positionierung des Messfeldes am Fundus ist in Abbildung 7 im Kapitel 3.3 dargestellt.

Kraft konnte 2001 zeigen, dass die Sauerstoffsättigung entlang eines Gefäßes Schwankungen aufweist. Zwischen 0,5 und 1,5 PD-Entfernung zur Papille weist die venöse Sauerstoffsättigung ein lokales Minimum auf (*Kraft* 2001). Aus diesem Grund wurde bei der Positionierung des Messfeldes darauf geachtet, dass es außerhalb 1,5 PD- und innerhalb 2,5 PD-Entfernung zur Papille lag.

Anschließend wurde das Netzhautareal mit einem Xenonblitz (Dauer 10ms) belichtet (insgesamt sechs mal pro Messstelle). Bei ungenügender Fixation oder Lidschluss des Patienten wurde die Messung entsprechend wiederholt. Insgesamt wurden pro Patient je nach Gefäßsituation zwei bis maximal vier Messungen an verschiedenen Fundusorten durchgeführt. Um die arterio-venöse Sauerstoffdifferenz bestimmen zu können, wurde darauf geachtet, dass jeweils zu der gemessenen Arteriole die korrespondierende Venole gemessen wurde. Das heißt, es wurde mindestens je eine

Arteriole und eine Venole im gleichen Quadranten des Augenhintergrundes gemessen.

Ein Stoffwechselprovokationstest wurde vorgenommen. Damit sollten Unterschiede in der Regulationsfähigkeit der retinalen Mikrozirkulation zwischen Gesunden und Diabetikern gezeigt werden. Dies wurde durch Glukosegabe erreicht. Für Normalprobanden erfolgte eine orale Gabe von 75g Glukose, gelöst in 100ml Wasser. Nach Rücksprache mit der Klinik für Innere Medizin des Klinikums der Friedrich-Schiller-Universität Jena wurde bei Diabetikern die Provokation durch Gabe von 20g Glukose, gelöst in 100ml Wasser, vorgenommen.

Die Sauerstoffmessung wurde, jeweils parallel mit der Blutzuckerbestimmung (mit Hilfe eines enzymatischen Testes), zu dem Zeitpunkt vor Glukosetrunk (in folgenden Abbildungen als „0 min“ bezeichnet) sowie 30 Minuten, 60 Minuten, 90 Minuten und 120 Minuten nach dem Glukosetrunk durchgeführt. Im folgenden werden die Zeitpunkte vor Glukoseprovokation und 30, 60, 90 sowie 120 Minuten nach Glukoseprovokation mit T1, T2, T3, T4 bzw. T5 bezeichnet.

Nach der Messung wurde die mittlere arterielle, die mittlere venöse Sauerstoffsättigung, die arterio-venöse Sauerstoffsättigungsdifferenz sowie der entsprechende Mittelwert der Standardabweichung bei Diabetikern und Gesunden ermittelt.

Der Messablauf ist in der Abbildung 9 zur besseren Übersichtlichkeit nochmals graphisch dargestellt.

Ablauf der Messung

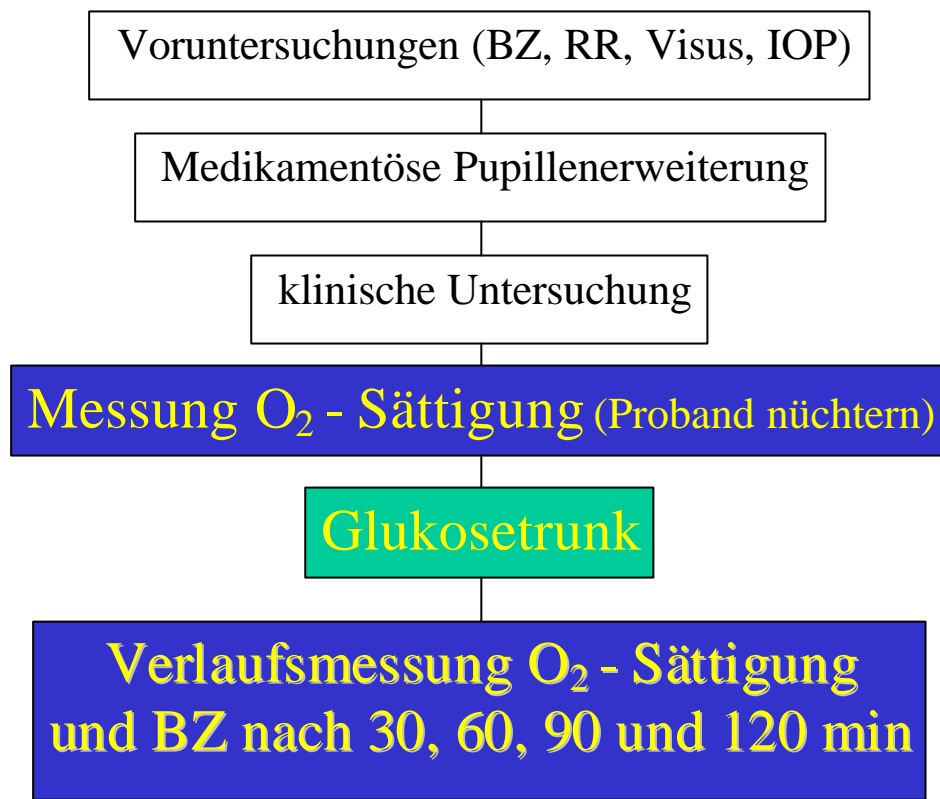


Abbildung 9 Schematischer Messablauf

3.6 Statistische Auswertung

Mit Hilfe des Programms SPSS (Brosius und Brosius 1995) wurde die statistische Auswertung der erhobenen Messwerte durchgeführt.

Zunächst erfolgte eine Testung auf Normalverteilung. Dies geschah mit Hilfe des Kolmogoroff-Smirnow-Testes, wobei dann von einer signifikanten Normalverteilung der Daten ausgegangen wurde, wenn $p = 0,2$ betrug.

Im Falle einer Normalverteilung wurde der Stichprobenvergleich für gepaarte Stichproben mit Hilfe des T-Testes durchgeführt. In den anderen Fällen wurden diese Vergleiche mit Hilfe des Wilcoxon-Testes durchgeführt.

Bei allen anderen statistischen Vergleichen (Unterschied zwischen Diabetiker und Normalprobanden, Männer und Frauen oder Raucher und Nichtraucher) kam, der T-Test für unabhängige Stichproben, bzw. bei nicht Normalverteilung der Daten der Mann-Whitney-Test zur Anwendung.

Bei diesen Tests galt $p = 0,05$ als signifikant bzw. $p = 0,01$ als hochsignifikant.

Zur graphischen Darstellung der mittleren arteriellen und venösen Sauerstoffsättigung sowie der Sauerstoffsättigungsdifferenz bei Diabetikern und Gesunden wurden Balkendiagramme erstellt.

Um die Ergebnisse auf einen linearen Zusammenhang von dem Alter, der Diabetesdauer und dem Blutzuckerwert bzw. dem Hb_{A1c} -Wert untersuchen zu können, wurde eine Regressionsanalyse der erhobenen Sauerstoffsättigungswerte bei Diabetikern und Gesunden durchgeführt. Darauf folgend wurde der lineare Zusammenhang mittels einer Regressionsgeraden und des Bestimmtheitsmaßes R^2 angegeben.

4 Ergebnisse

4.1 Ergebnisse der Messung der Sauerstoffsättigung

4.1.1 Ergebnisse der Messung der Sauerstoffsättigung bei Normalprobanden

Die Messungen wurden an 19 Probanden durchgeführt, die nicht an Diabetes mellitus erkrankt waren.

Zur Kontrolle ist in der Abbildung 10 der Mittelwert des Blutzuckerlaufes nach der Provokation aufgezeigt. Hier zeigt sich, dass es sich bei der untersuchten Probandengruppe in keinem Fall um eventuell verdeckte Diabetiker handelte, denn die Mittelwerte der gemessenen Blutzuckerwerte lagen stets unterhalb des parallel verlaufenden Grenzwertes. Der Grenzwert markiert den Bereich, ab dem man von einer pathologischen Glukosetoleranz bzw. der Diabeteserkrankung spricht.

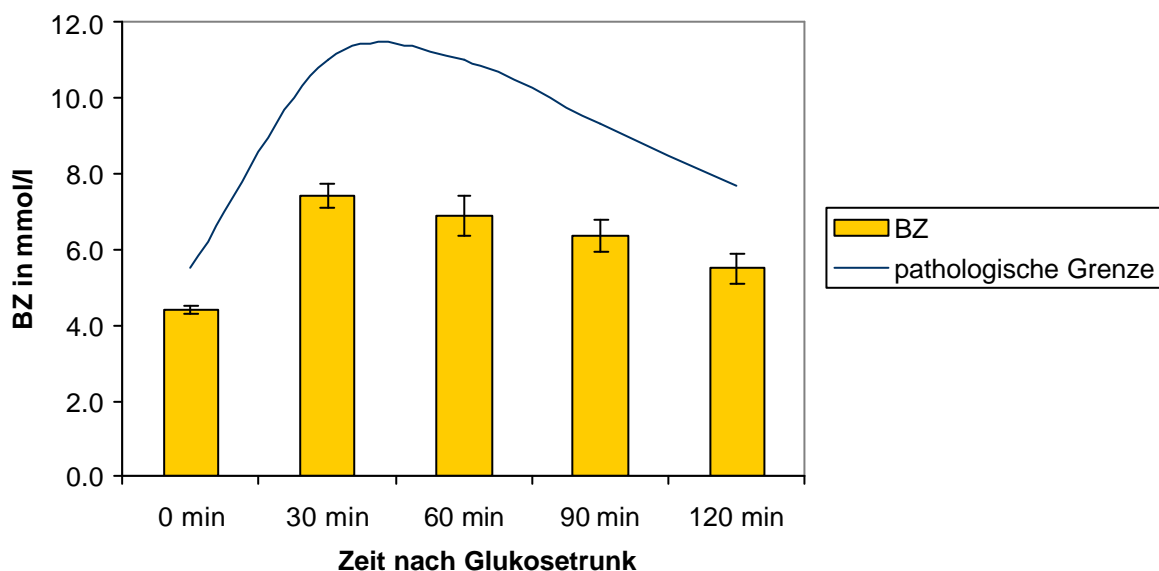


Abbildung 10 Anstieg des Blutzuckers in der Kontrollgruppe (Mittelwert aller Probanden) nach Glukosetrunk (75g in 100ml Wasser) im Vergleich zum zeitabhängigen pathologischen Grenzwert (Bibergeil 1989)

Die Ergebnisse zur Änderung der arteriellen Sauerstoffsättigung sind in der Abbildung 11 angegeben. Dargestellt sind die Werte der arteriellen Sauerstoffsättigung zu den verschiedenen Messzeitpunkten.

Die arterielle Sauerstoffsättigung zeigte im Verlauf der Messung, bis auf den Vergleich der Messwerte zum Zeitpunkt vor und 120 Minuten nach Glukosetrunk, keinen signifikanten Unterschied.

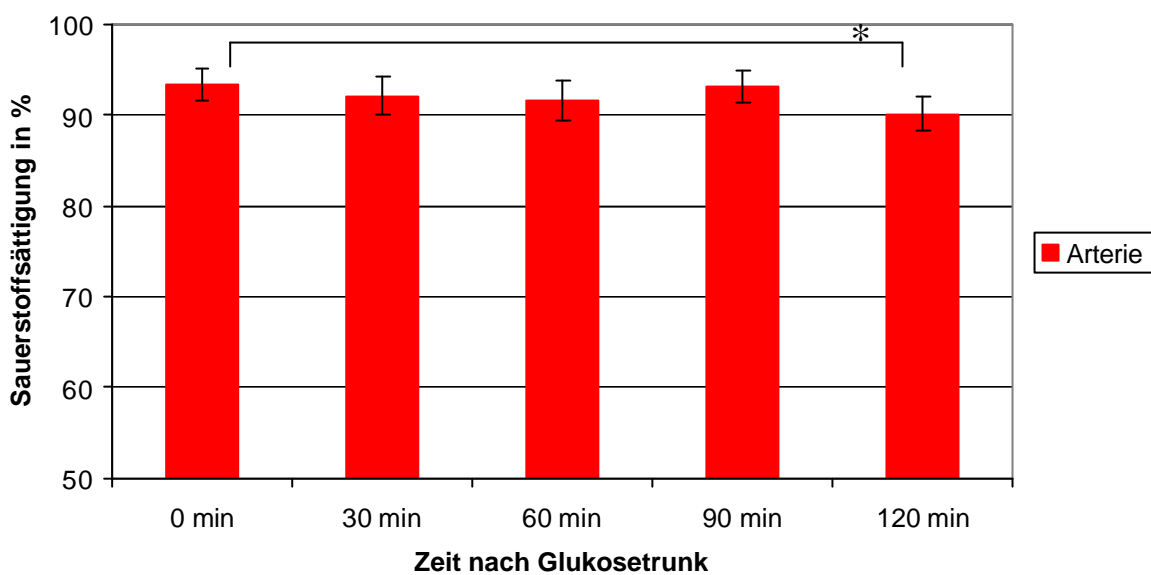


Abbildung 11 Darstellung der mittleren arteriellen Sauerstoffsättigung in % und des Standardfehlers des Mittelwertes bei Normalprobanden. (* statistisch signifikant)

Bei der venösen Sauerstoffsättigung (Abbildung 12), konnte ein signifikanter Unterschied zwischen den Messwerten vor Glukosebelastung und 30 Minuten nach Provokation mit 75g Glukose in 100ml Wasser nachgewiesen werden ($p = 0,043$). Gleiches zeigte sich dann ebenfalls zwischen 30 und 90 Minuten ($p = 0,03$) sowie 30 und 120 Minuten ($p = 0,017$) nach der Provokation. Zwischen den venösen Sauerstoffsättigungswerten zu den Zeitpunkten 0, 60, 90 und 120 Minuten nach Kohlenhydrattrunk bestand kein statistisch signifikanter Unterschied.

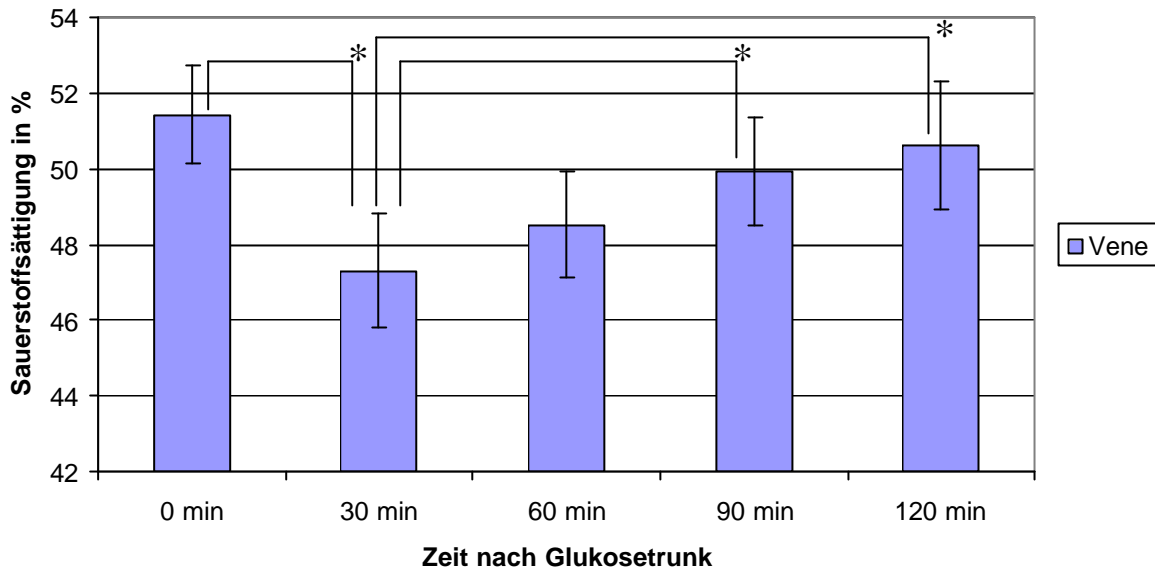


Abbildung 12 Darstellung der mittleren venösen Sauerstoffsättigung in % und des Standardfehlers des Mittelwertes bei Normalprobanden (* statistisch signifikant)

Zu Beginn des Testes lag die venöse Sauerstoffsättigung bei 51,5%. Danach folgte die Provokation mit 75g Glukose in 100ml Wasser, worauf sich die Sauerstoffsättigung 30 Minuten nach der Glukosegabe um 4,2% auf einen Mittelwert von 47,3% signifikant senkte. Nach 60 Minuten stieg sie wieder auf 48,5%. Weitere 30 bzw. 60 Minuten später ist die Sauerstoffsättigung gegenüber dem tiefstem Wert (30 Minuten nach Provokation) signifikant auf 49,9% bzw. 50,6% angestiegen. In der folgenden Abbildung 13 ist die prozentuale Änderung der Sauerstoffsättigung gegenüber dem Ausgangswert dargestellt. Es zeigt den erhöhten O₂-Verbrauch durch die Stoffwechselprovokation.

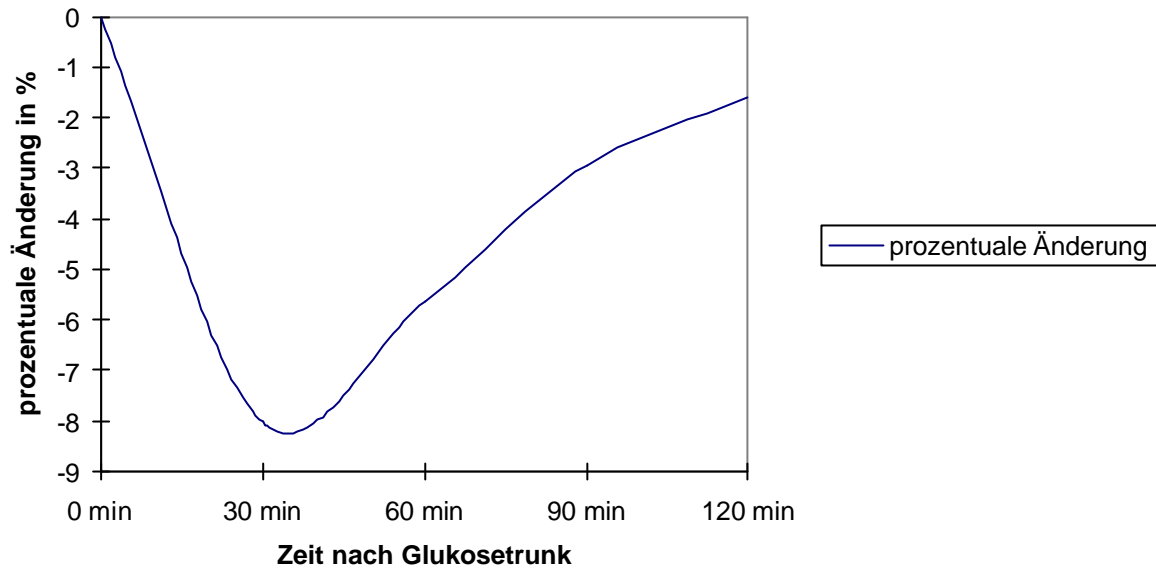


Abbildung 13 Darstellung der prozentualen Änderung der venösen Sauerstoffsättigung bezogen auf den Ausgangswert bei Normalprobanden; maximale Absenkung der venösen Sauerstoffsättigung um 8% gegenüber dem Ausgangswert; nach 120 Minuten noch immer um ca. 2% gegenüber Ausgangswert gesenkt

Aufgrund der deutlichen Senkung der venösen Sauerstoffsättigung ergibt sich auch ein signifikanter Unterschied der arterio-venösen Sauerstoffsättigungsdifferenz (DOS) zwischen den Messzeitpunkten 30 Minuten und 120 Minuten nach Provokation (Abbildung 14).

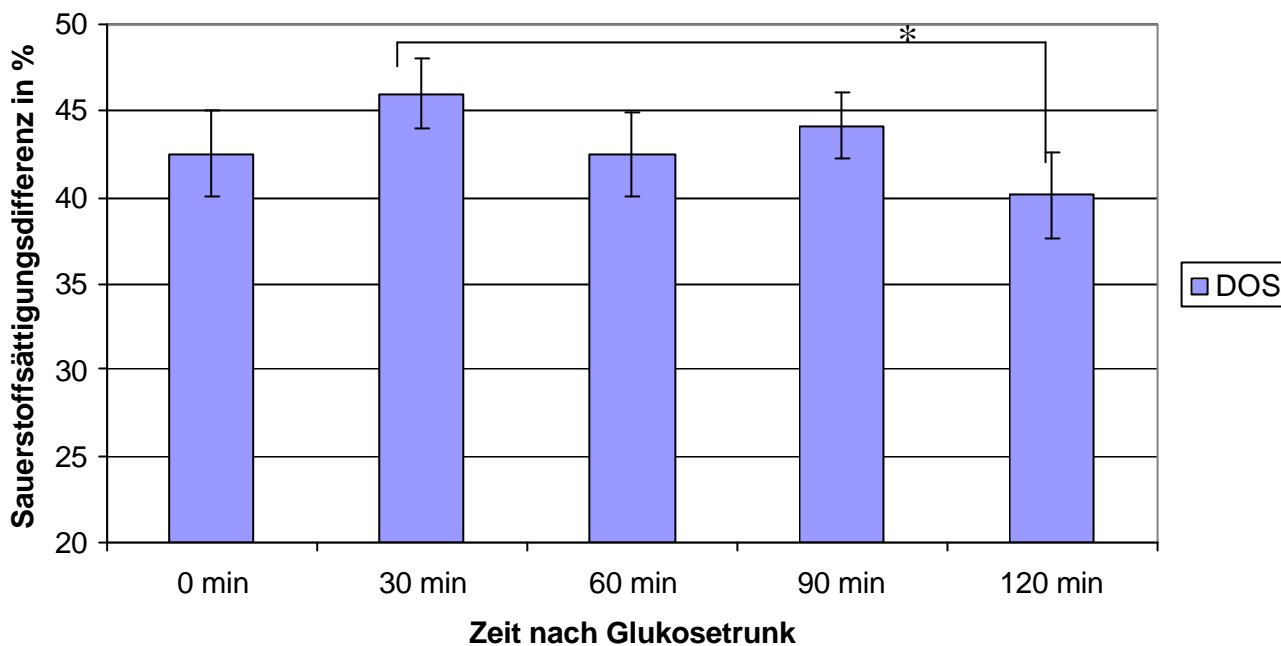


Abbildung 14 Darstellung der mittleren arterio-venösen Sauerstoffsättigungsdifferenz in % und des Standardfehlers des Mittelwertes bei Normalprobanden (* statistisch signifikant)

Bei der Untersuchung der Abhängigkeiten konnte gezeigt werden, dass die Sauerstoffsättigung bei Normalprobanden unabhängig von deren Alter und Geschlecht war.

4.1.2 Ergebnisse der Messung der Sauerstoffsättigung bei Diabetikern

Die parallele Messung des Blutzuckers im Messablauf zeigte, dass es sich bei der untersuchten Probandengruppe um Patienten handelte, die an Diabetes mellitus erkrankt waren (Abbildung 15). Angegeben sind die Mittelwerte des Blutzuckers mit den dazugehörigen Standardfehlern. Zu jedem Zeitpunkt lag der Blutzucker in der Gruppe der Diabetiker oberhalb der pathologischen Grenze. Es ist ein signifikanter Anstieg des Blutzuckers 30 Minuten nach Glukosetrunk zu erkennen. 60 und 90 Minuten nach Glukosetrunk ist der Blutzucker im Vergleich zum Ausgangswert noch immer signifikant erhöht. Nach 120 Minuten ist der Blutzuckerwert im Vergleich zum Ausgangswert nicht mehr signifikant erhöht. Im Vergleich hierzu war der

Blutzuckerwert in der Gruppe der Normalprobanden stets unterhalb der pathologischen Grenze.

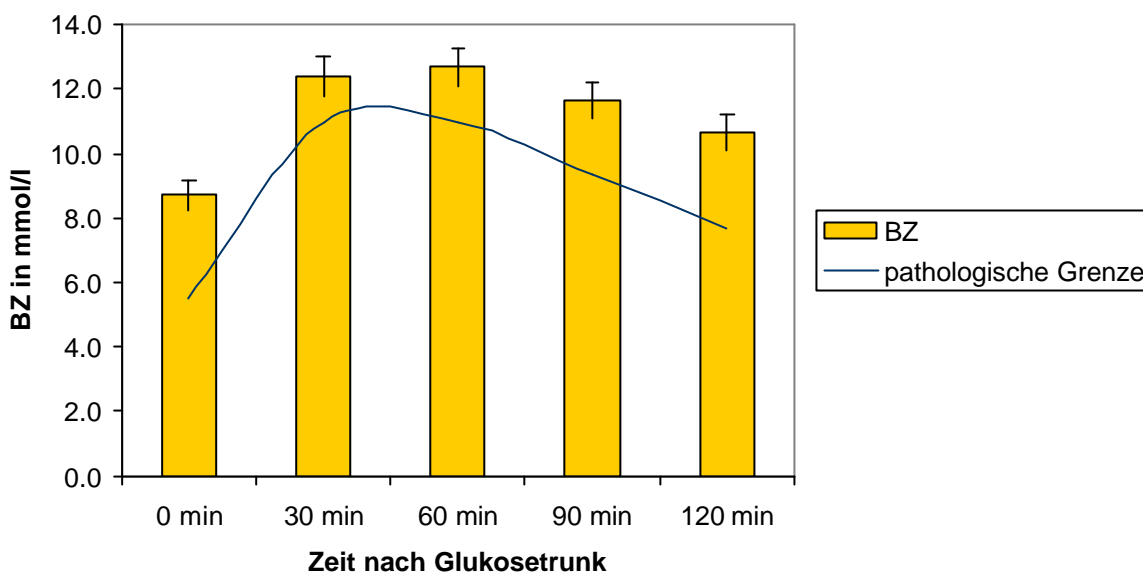


Abbildung 15 Anstieg des Blutzuckers in der Diabetesgruppe (Mittelwert aller Diabetiker) nach Glukosetrunk (20g in 100ml Wasser) im Vergleich zum zeitabhängigen pathologischen Grenzwert (Bibergeil 1989)

Die Verlaufsmessungen der arteriellen Sauerstoffsättigung zu den unterschiedlichen Zeitpunkten, vor Glukoseprovokation und 30, 60, 90 sowie 120 Minuten danach, zeigten untereinander keinen signifikanten Unterschied (Abbildung 16).

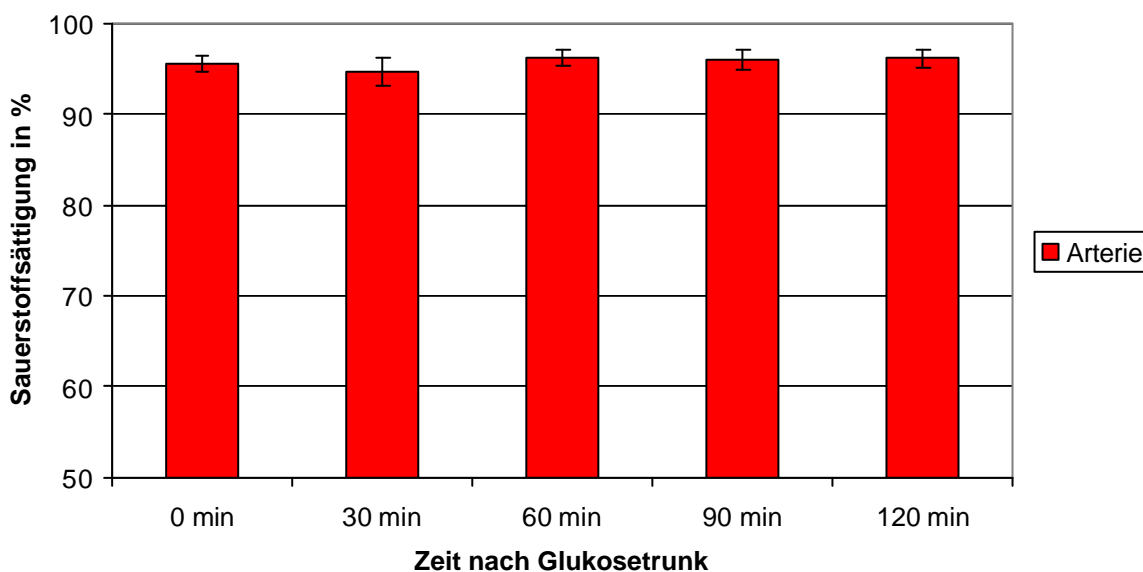


Abbildung 16 Darstellung der mittleren arteriellen Sauerstoffsättigung in % und des Standardfehlers des Mittelwertes bei Diabetikern

Auch im Verlauf der venösen Sauerstoffsättigung ließ sich bei dieser Probandengruppe kein signifikanter Unterschied der Werte untereinander nachweisen (Abbildung 17). Die mittlere venöse Sauerstoffsättigung zeigte zwar gegenüber dem Ausgangswert vor Glukoseprovokation eine Verringerung um 2,04%, jedoch war dieser Unterschied nicht signifikant.

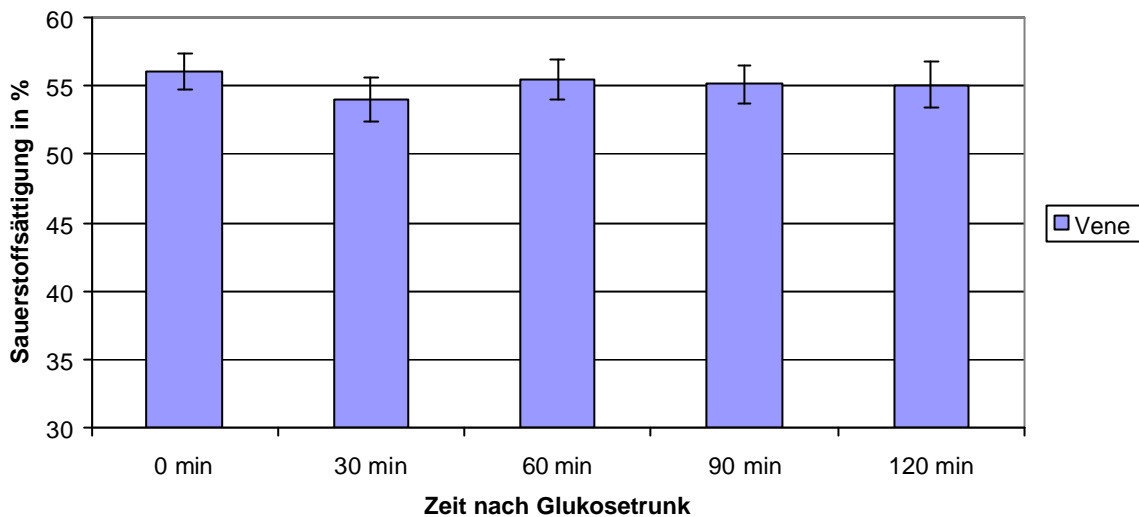


Abbildung 17 Darstellung der mittleren venösen Sauerstoffsättigung in % und des Standardfehlers des Mittelwertes bei Diabetikern

In der folgenden Abbildung 18 ist die prozentuale Änderung der venösen Sauerstoffsättigung, bezogen auf den Ausgangswert, dargestellt. Die Verringerung der venösen Sauerstoffsättigung von maximal 3,5% gegenüber dem Ausgangswert ist statistisch nicht signifikant. Anhand dieses Diagramms kann man aber erkennen, dass es auch in der Gruppe der Diabetiker zu einem Regelverhalten mit einer Absenkung der venösen Sauerstoffsättigung und einem darauf folgenden Angleichen an den Ausgangswert kommt.

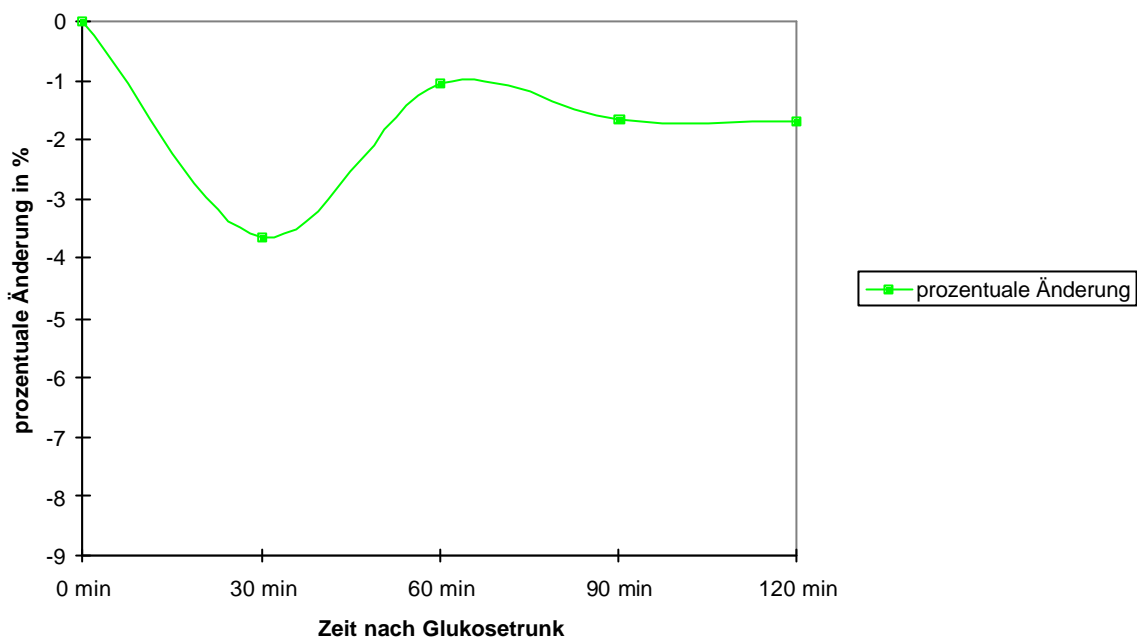


Abbildung 18 Darstellung der prozentualen Änderung der venösen Sauerstoffsättigung bezogen auf den Ausgangswert bei Diabetikern; maximale Absenkung der venösen Sauerstoffsättigung um 3,5% gegenüber dem Ausgangswert

Für die arterio-venöse Sauerstoffsättigungsdifferenz (Abbildung 19) konnten keine statistisch signifikanten Unterschiede im Verlauf nachgewiesen werden.

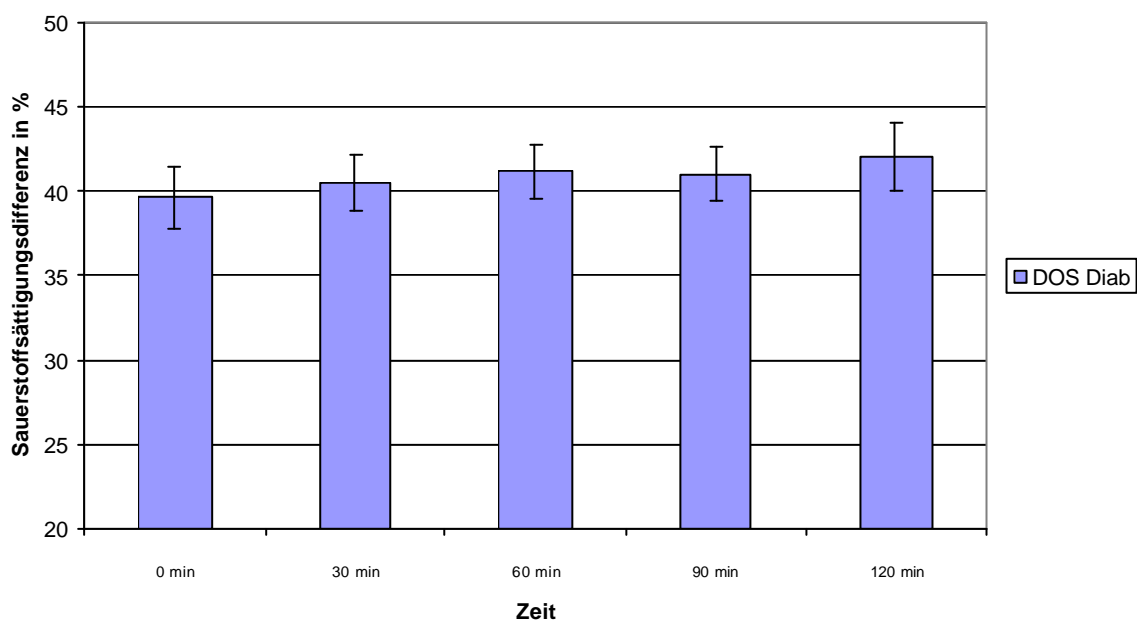


Abbildung 19 Darstellung der mittleren arterio-venösen Sauerstoffsättigungsdifferenz in % und des Standardfehlers des Mittelwertes bei Normalprobanden

4.2 Vergleich der Sauerstoffsättigung von Normalprobanden und Diabetikern

Vergleich man die Ergebnisse der Sauerstoffsättigung von Normalprobanden mit denen der Diabetiker, so ließen sich bei der arteriellen Sauerstoffsättigung 120 Minuten nach Glukosetrunk signifikante Unterschiede nachweisen. Teilte man die Gruppe der Diabetiker in Typ-I und Typ-II Diabetiker auf, so zeigte sich der gleiche signifikante Unterschied zwischen Normalprobanden und Typ-I Diabetikern und zwischen Normalprobanden und Typ-II Diabetikern. Unterschiede zwischen den zwei Diabetesgruppen (Typ-I, Typ-II) ließen sich für die arterielle Sauerstoffsättigung nicht nachweisen (Abbildung 20).

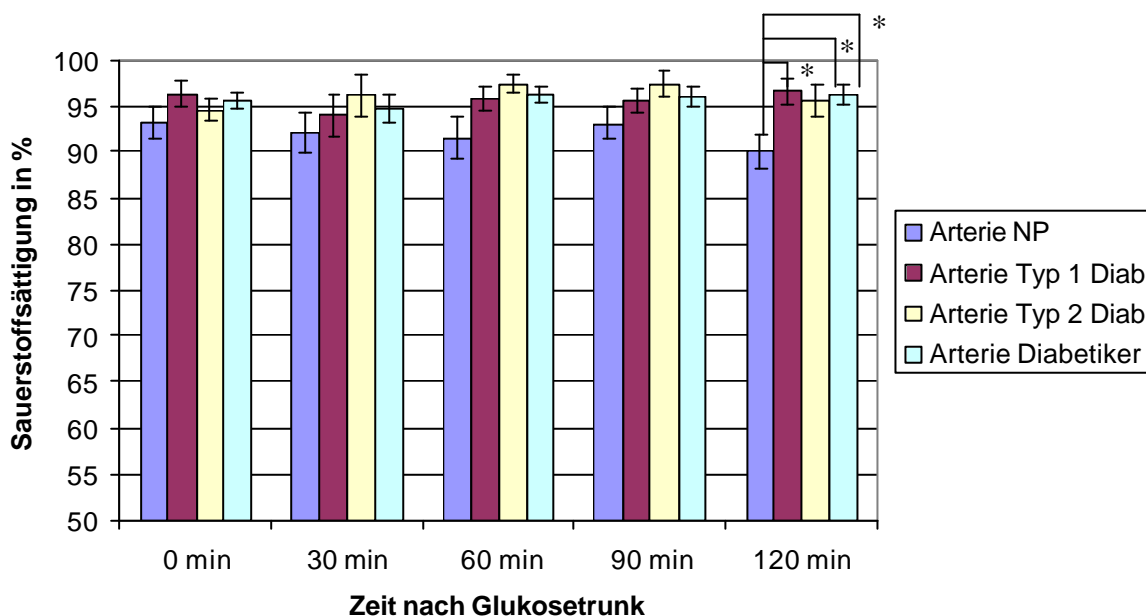


Abbildung 20 Darstellung der mittleren arteriellen Sauerstoffsättigung in % und des Standardfehlers des Mittelwertes für Normalpersonen, Typ-I, Typ-II und alle Diabetiker (* statistisch signifikant)

Im Vergleich der venösen Sauerstoffsättigung zeigte sich, dass eine signifikante Verringerung der venösen Sauerstoffsättigung 30 Minuten nach Provokation bei den Normalprobanden, nicht aber bei den Diabetikern nachweisbar war. Allerdings fiel

auf, dass in der Gesamtgruppe der Diabetiker die venöse Sauerstoffsättigung signifikant höher war als in der stoffwechselgesunden Vergleichsgruppe. Dies galt für jeden Zeitpunkt, ausgenommen die Messung 120 Minuten nach Provokation.

Vergleich man die Messung der Normalprobanden mit der Gruppe der Typ-I Diabetiker, so ließ sich kein signifikanter Unterschied zu den verschiedenen Zeitpunkten nachweisen. Bei Typ-II Diabetikern war der Unterschied zu den Normalprobanden in der venösen Sauerstoffsättigung zu den Zeitpunkten 30 Minuten und 120 Minuten signifikant (Abbildung 21).

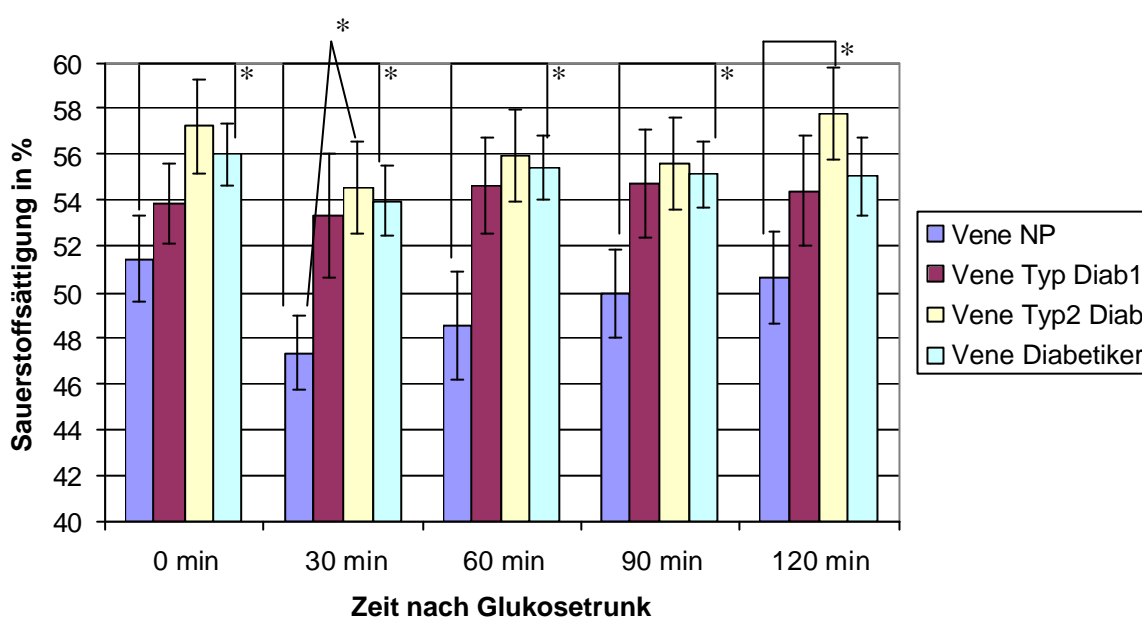


Abbildung 21 Darstellung der mittleren venösen Sauerstoffsättigung in % und des Standardfehlers des Mittelwertes für Normalpersonen, Typ-I, Typ-II und alle Diabetiker (* statistisch signifikant)

Vergleich man die Werte der arterio-venösen Sauerstoffsättigungsdifferenzen (DOS) von Normalprobanden und der Gesamtgruppe der Diabetiker, fielen signifikante Unterschiede zum Zeitpunkt 30 Minuten nach Glukosetrunk auf. Zu den anderen Zeitpunkten unterschieden sich diese Werte nicht signifikant (Abbildung 22). Vergleich man die Vergleichsgruppe mit den zwei einzelnen Diabetesgruppen, so ließen sich für die Zeitpunkte außerhalb der Messung 30 Minuten nach Glukosetrunk ebenfalls keine signifikanten Unterschiede nachweisen.

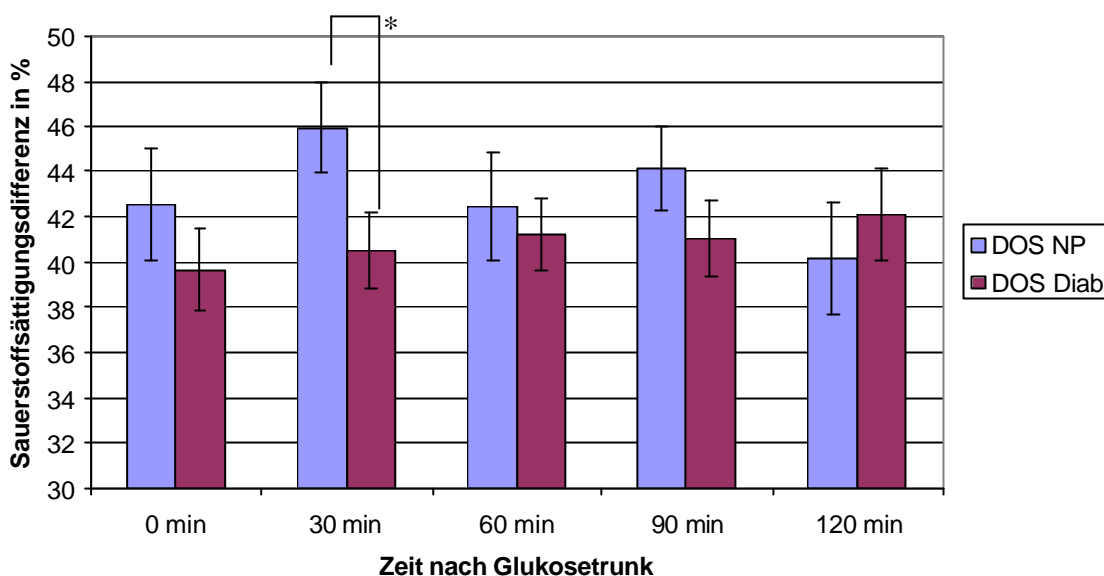


Abbildung 22 Darstellung der mittleren arterio-venösen Sauerstoffsättigungsdifferenz in % und des Standardfehlers des Mittelwertes für Normalpersonen und Diabetiker gesamt (* statistisch signifikant)

In der folgenden Abbildung 23 sind die prozentualen Änderungen der venösen Sauerstoffsättigung, bezogen auf den Ausgangswert, sowohl für Normalprobanden als auch für Diabetiker aufgezeigt.

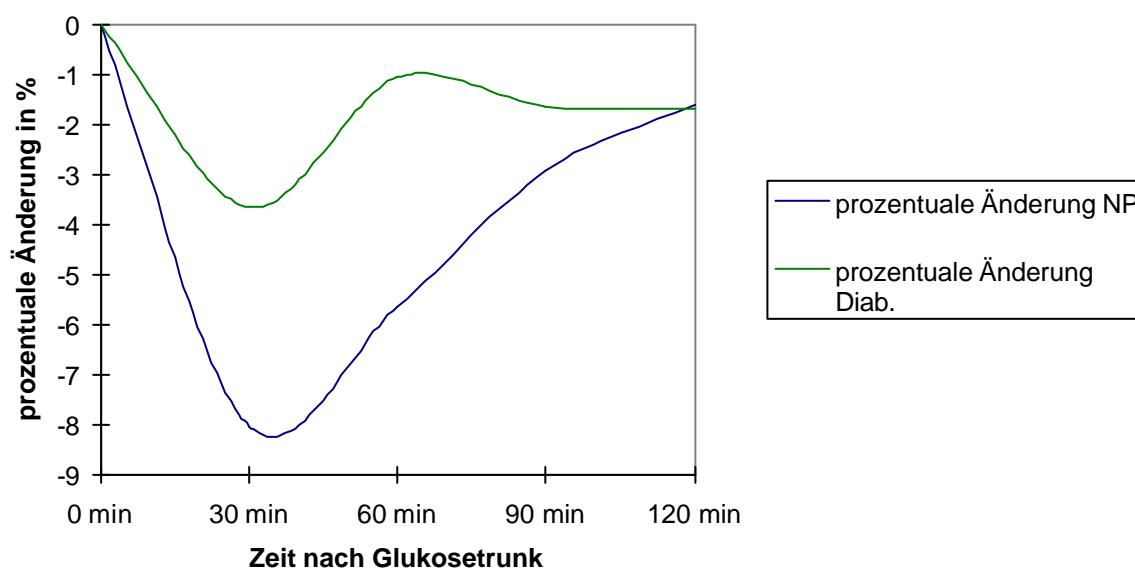


Abbildung 23 Darstellung der prozentualen Änderung der venösen Sauerstoffsättigung bezogen auf den Ausgangswert bei Normalprobanden und Diabetikern

Unterschiede fanden sich in einem unterschiedlichen Regelverhalten zwischen den beiden einzelnen Diabetesgruppen. In den folgenden Abbildungen sind die prozentualen Änderungen der venösen Sauerstoffsättigung bezogen auf den Ausgangswert zu Beginn der Messung dargestellt.

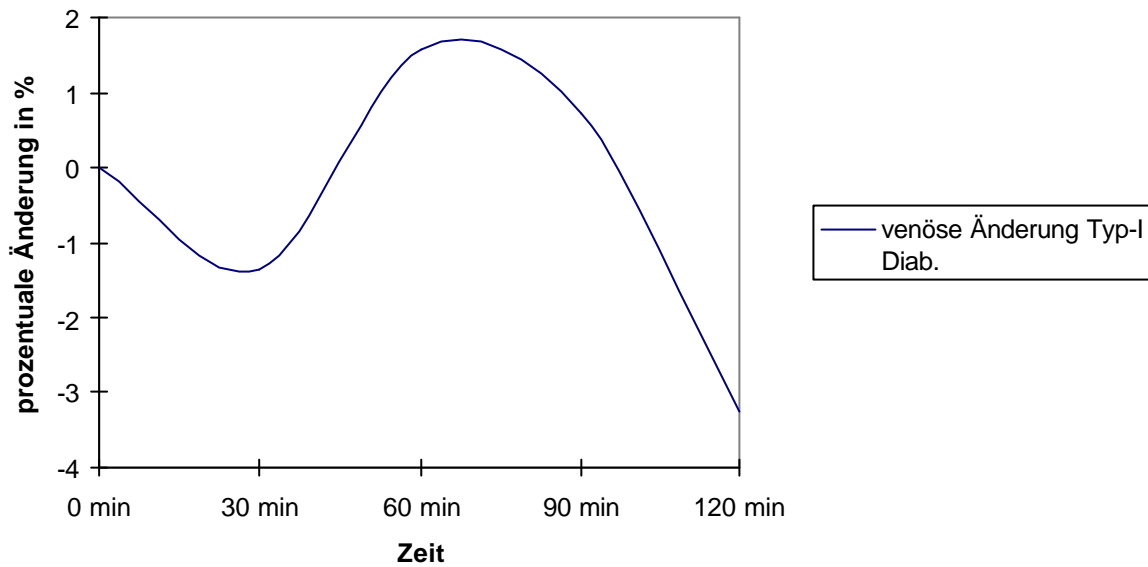


Abbildung 24 Darstellung der prozentualen Änderung der venösen Sauerstoffsättigung bezogen auf den Ausgangswert bei Typ-I Diabetikern

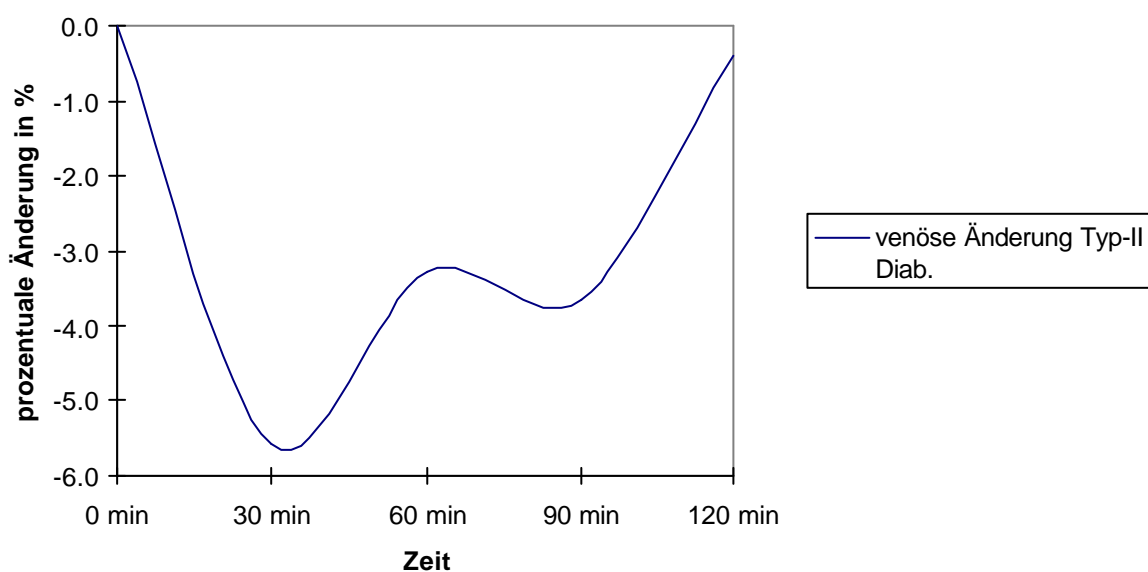


Abbildung 25 Darstellung der prozentualen Änderung der venösen Sauerstoffsättigung bezogen auf den Ausgangswert bei Typ-II Diabetikern

4.3 Abhängigkeiten der Sauerstoffsättigung

4.3.1 Abhängigkeit der Sauerstoffsättigung von dem Alter der Probanden

Untersuchte man die Messwerte der Sauerstoffsättigung der Normalprobanden auf Abhängigkeit vom Lebensalter, ließen sich hier keine Abhängigkeiten nachweisen.

In der Gruppe der Typ-I Diabetiker ließ sich anhand der gemessenen Sauerstoffsättigungswerte eine altersbedingte Abhängigkeit der venösen Sauerstoffsättigung (OSV) nachweisen. Die venöse Sauerstoffsättigung war zu den Zeitpunkten T1, T2 und T3 umso höher, je älter die Probanden waren.

Zum Zeitpunkt T1 lässt sich dies mit folgender Gleichung beschreiben.

$$\text{OSV1}_{(\text{Typ-I Diab.})} (\text{in } \%) = 0,313 (\text{in } \% \text{OS/Jahr}) \cdot \text{Alter (in Jahre)} + 43,3 (\text{in } \% \text{OS})$$

$$R^2 = 0,41 \qquad \text{Gleichung 15}$$

30 Minuten nach Glukosebelastung (T2), ließen sich Abhängigkeiten der venösen Sauerstoffsättigung von dem Probandenalter nachweisen.

$$\text{OSV2}_{(\text{Typ-I Diab.})} (\text{in } \%) = 0,433 (\text{in } \% \text{OS/Jahr}) \cdot \text{Alter (in Jahre)} + 38,7 (\text{in } \% \text{OS})$$

$$R^2 = 0,35 \qquad \text{Gleichung 16}$$

Gleiches lässt sich mit folgenden Gleichungen für den Zeitpunkt 60 Minuten nach Provokation beschreiben.

$$\text{OSV3}_{(\text{Typ-I Diab.})} (\text{in } \%) = 0,454 (\text{in } \% \text{OS/Jahr}) \cdot \text{Alter (in Jahre)} + 39,3 (\text{in } \% \text{OS})$$

$$R^2 = 0,6 \qquad \text{Gleichung 17}$$

4.3.2 Abhängigkeit der Sauerstoffsättigung von der Diabetesdauer

Signifikante Abhängigkeiten der Sauerstoffsättigung des Blutes von der Diabetesdauer ließen sich für die venöse Sauerstoffsättigung und für die arterio-venöse Sauerstoffsättigungsdifferenz zu dem Zeitpunkt T4 nachweisen. Mit steigender Diabetesdauer war in der Gruppe der Typ-II Diabetiker die venöse Sauerstoffsättigung zum Zeitpunkt T4 signifikant höher und die arterio-venöse Sauerstoffsättigungsdifferenz niedriger. Folgende Gleichungen beschreiben diese Abhängigkeiten.

$$\text{OSV4}_{(\text{Typ-II Diab.})}(\text{in \%}) = 0,725 (\text{in \%OS/Dauer}) \cdot \text{Diabetesdauer}(\text{in Jahre}) + 49,8 (\text{in \%OS})$$

$$R^2 = 0,4$$

Gleichung 18

$$\text{DOS4}_{(\text{Typ-II Diab.})}(\text{in \%}) = -0,789 (\text{in \%OS/Dauer}) \cdot \text{Diabetesdauer}(\text{in Jahre}) + 47,0 (\text{in \%OS})$$

$$R^2 = 0,23$$

Gleichung 19

Für die anderen Zeitpunkte ließen sich sowohl für die arterielle und die venöse Sauerstoffsättigung als auch die arterio-venöse Sauerstoffsättigungsdifferenz keine Abhängigkeiten der Sauerstoffsättigung von der Diabetesdauer feststellen.

4.3.3 Abhängigkeit der Sauerstoffsättigung von Blutzucker und Hb_{A1c}-Wert

Es ließ sich eine Korrelation zwischen arterieller und venöser Sauerstoffsättigung mit dem Blutzucker zu dem Zeitpunkt T5 sowohl für Typ-I Diabetiker als auch für Typ-II Diabetiker nachweisen. Die arterielle Sauerstoffsättigung war in der Gruppe der Typ-I Diabetiker zu dem Zeitpunkt T5 signifikant niedriger, je höher der Blutzucker war. Für die venöse Sauerstoffsättigung konnte in der Gruppe der Typ-II Diabetiker mit steigendem Blutzucker eine umso höhere Sättigung nachgewiesen werden.

$$\text{OSA5}_{(\text{Typ-1-Diab.})}(\text{in \%}) = -0,98 (\text{in \%OS/BZ in mmol/l}) \cdot \text{BZ (in mmol/l)} + 107 (\text{in \%OS})$$

$$R^2 = 0,5 \quad \text{Gleichung 20}$$

$$\text{OSV5}_{(\text{Typ-2-Diab.})}(\text{in \%}) = 1,848 (\text{in \%OS/BZ in mmol/l}) \cdot \text{BZ (in mmol/l)} + 37,9 (\text{in \%OS})$$

$$R^2 = 0,27 \quad \text{Gleichung 21}$$

Abhängigkeiten der Sauerstoffsättigung von dem Hb_{A1c} -Wert ließen sich nicht nachweisen.

5 Diskussion

5.1 Diskussion der Methode

Hickam et al. führten 1959 erstmalig nichtinvasive Messungen der Sauerstoffsättigung am menschlichen Augenhintergrund durch (Hickam und Frayser 1959). Hier kam eine 2-Wellenlängenmethode zur Anwendung. Diese Methodik wurde 1975 durch *Laing et al.* weiterentwickelt (Laing et al. 1975). Diese photographische Methode ist allerdings nur für einen bestimmten Hämatokritwert gültig.

Alle nichtinvasiven photographischen und spektrometrischen Methoden, denen nur zwei Wellenlängen zur Berechnung der Sauerstoffsättigung zugrunde liegen, haben den Nachteil, dass vor jeder einzelnen Messung eine Kalibrierung durchgeführt werden muss. Diese Eichung muss durchgeführt werden, da das spektral reflektierte Licht nicht nur durch die Sauerstoffsättigung des Hämoglobins, sondern auch (nach dem Lambert-Beer-Gesetz) durch die Konzentration der in dem Blut gelösten Teilchen (dem Hämatokrit), der Schichtdicke (Gefäßdurchmesser), sowie der Lichtstreuung durch die Erythrozyten beeinflusst wird.

Da die Messung bei nur zwei Wellenlängen durchgeführt wird, stehen somit auch nur zwei Gleichungen zur Berechnung dieser Unbekannten zur Verfügung (Schweitzer et al. 1999).

Auf der Feststellung, dass zwischen der optischen Dichte und der Sauerstoffsättigung ein linearer Zusammenhang besteht, beruht die von *Beach et al.* entwickelte Dual-wavelength-Imaging-Methode. Jedoch ist auch mit dieser Methode die gemessene Sauerstoffsättigung abhängig von der Schichtdicke (Beach et al. 1997, Beach et al. 1999). Damit ist die gemessene Sauerstoffsättigung von dem Durchmesser des Gefäßes abhängig. Durch den angenommenen Zusammenhang zwischen optischer Dichte und der Sauerstoffsättigung wurde somit die Sättigung um so höher gemessen desto größer der Durchmesser des Gefäßes war.

Diese Methode beruht auf der Messung der Sauerstoffsättigung bei den Wellenlängen von 569nm und 600nm. Bei der Wellenlänge von 600nm unterscheiden sich die Reflexionsspektren des oxygenierten und des desoxygenierten Hämoglobins relativ stark.

Hier liegt jedoch ein entscheidender Nachteil dieser Methode. Bei Wellenlängen größer als 586nm erhöht sich der Anteil des Lichtes, der durch Streuung an den Erythrozyten in dem Blutgefäß entsteht. Andererseits sinkt die Transmission durch erhöhte Absorption. Somit ist die Sauerstoffsättigungsbestimmung grundsätzlich unter Verwendung von Wellenlängen über 586nm erschwert. Ein weiterer Nachteil besteht darin, dass ein lineares Verhältnis zwischen Sauerstoffsättigung und Schichtdicke nur für den Sauerstoffsättigungsbereich von 20% bis 97% besteht. Somit ist eine exakte Bestimmung der arteriellen Sauerstoffsättigung nicht zu jedem Zeitpunkt sicher möglich. Auch die Bestimmung der arterio-venösen Sauerstoffsättigungsdifferenz ist nicht immer sicher möglich. Jedoch ist sie für viele Fragestellungen von großem Interesse.

Wird die Messung der Sauerstoffsättigung mit Hilfe von drei Wellenlängen durchgeführt, so kann der Fehler eingeschränkt werden. Mit Hilfe der dritten Wellenlänge sollen die Effekte der Lichtstreuung an Erythrozyten und z.T. an den okulären Medien, wie Linse bzw. Glaskörper kompensiert werden.

Delori nutzte 1988 die Wellenlängen bei 569nm und 586nm als isosbestische Punkte, da hier die Extinktionskoeffizienten von Hämoglobin und Oxyhämoglobin gleich sind (*Delori* 1988). Die dritte Wellenlänge bei 558nm wird dann als messende Wellenlänge genutzt. Bei dieser dritten Wellenlänge unterscheiden sich die beiden Extinktionskoeffizienten maximal.

Vorteil dieser 3-Wellenlängenmethode ist unter bestimmten Messbedingungen eine Messung ohne vorheriger Eichung. Ein entscheidender Nachteil dieser Methode ist das schlechte Signal/Rausch-Verhältnis, da die Messung an nur drei Wellenlängen durchgeführt wird.

Bei allen nichtinvasiven Messmethoden besteht das von dem Fundus reflektierte Licht aus zwei verschiedenen Komponenten; zum einem das durch die Blutschicht

bzw. durch das Gefäß transmittierte Licht und zum anderen das in dem Gefäß an den Erythrozyten reflektierte Licht.

Mit Hilfe der Imaging-Spektrometrie kann die simultane Messung örtlich aufgelöster Spektren erfolgen (Schweitzer et al. 1995, Schweitzer et al. 1996). Die Bestimmung der Sauerstoffsättigung aus den gemessenen Reflexionsspektren erfolgt durch die Approximation an eine Modellfunktion. Dieses Modell nutzt experimentell bestimmte Transmissionsspektren und Spektren der internen Reflexion von gesättigtem und ungesättigtem Vollblut. In der von Kraft 2001 genutzten 76-Wellenlängenmethode wird die spektrale Information aus einer großen Anzahl von Wellenlängen bestimmt (Kraft 2001). Hierdurch werden geringere Anforderungen an das Signal/Rausch-Verhältnis als bei der 2- und 3-Wellenlängenmethode gestellt. Daher kann mit Hilfe dieser Methode auch die Sauerstoffsättigung bei verrauschten Signalen bestimmt werden (Schweitzer et al. 1999). Dies ist zwar ein Vorteil gegenüber der Methode von Delori 1982 (Delori et al. 1982); in dem Vergleich zu der in dieser Arbeit genutzten 4-Wellenlängenmethode ist dies allerdings ein entscheidender Nachteil. Die Berechnung der Sauerstoffsättigung aus den 76 Wellenlängen bedeutet einen erheblich größeren Rechenaufwand als die Bestimmung der Sauerstoffsättigung aus vier Wellenlängen. Ein Vorteil beider Methoden ist die Möglichkeit, bei bekanntem Blutvolumendurchfluss mit Hilfe der Gleichung 3 das Sauerstoffangebot zu berechnen.

Hammer et al. demonstrierten 1997, dass die Genauigkeit spektrometrischer Messungen der Sauerstoffsättigung zusätzlich durch die Verwendung von polarisiertem Licht, wodurch eine Erhöhung der Modulation erreicht wird, verbessert werden kann (Hammer et al. 1997).

In der vorliegenden Arbeit fand eine 4-Wellenlängenmethode Anwendung (Hammer et al. 2002). Die Messung der Reflexionsspektren erfolgte bei den Wellenlängen 522nm, 560nm, 569nm und 586nm. Die Wellenlängen 522nm, 569nm und 586nm werden als isosbestische Punkte verwendet. Die messende Wellenlänge ist auch hier, ähnlich wie bei der 3-Wellenlängenmethode, die Wellenlänge bei 560nm. Der entscheidende Vorteil dieser Methode gegenüber den Methoden mit drei bzw. zwei

Wellenlängen besteht darin, dass keine Relationsmessungen zwischen Gefäß und dessen Umgebung notwendig sind. Damit ist es möglich, Sauerstoffsättigung auch im Kapillargebiet zu bestimmen. Allerdings stellt die 4-Wellenlängenmethode größere Anforderungen an das Signal/Rausch-Verhältnis als die 76-Wellenlängenmethode. Der entscheidende Vorteil gegenüber der von *Kraft* genutzten Methode sind die wesentlich geringeren anfallenden Datenmengen. Dieser Aspekt ist für die Weiterentwicklung dieser Messmethode zur flächenhaften Messung der Sauerstoffsättigung wichtig. Aufgrund des geringeren Rechenaufwandes ist es eher möglich, diese Methode in Zukunft in den klinischen Alltag zu etablieren.

Es wird möglich sein, mit Hilfe der 4-Wellenlängenmethode Verfahren zu entwickeln, mit denen man zwei-dimensional und nicht wie bisher nur ein-dimensional (Beach et al. 1997, Tiedeman et al. 1998, Kraft 2001) die Sauerstoffsättigung am Fundus messen kann. Somit wird die Messung der Sauerstoffsättigung nicht nur in einem Gefäß am Augenhintergrund sondern auch innerhalb einer größeren Fläche (Gefäß und Kapillargebiet) des Fundus möglich.

Ziel der Arbeit war es, einerseits die Leistungsfähigkeit dieses vereinfachten 4-Wellenlängenverfahrens zu testen und andererseits anhand der Gabe einer Glukoselösung als metabolische Provokation zu untersuchen, ob Unterschiede in der Sauerstoffsättigung von Augengesunden Nichtdiabetikern im Vergleich zu an Diabetes erkrankten Probanden ohne diabetischer Retinopathie bestehen. Die Ergebnisse stellen eine wichtige Grundlage zur Beurteilung der Sauerstoffversorgung der Netzhaut und zum besseren Verständnis der Mikrozirkulation dar.

Bisher existieren in der Literatur nur wenig Messergebnisse für die retinale Sauerstoffsättigungsmessung bei Diabetikern. Der Schwerpunkt der bisherigen Betrachtungen lag in der Untersuchung der Gefäßweite (Blum et al. 2000, Blum 2003) und der Blutflussgeschwindigkeit (Grunwald et al. 1995, Grunwald et al. 1996, Grunwald et al. 1998, Oswald et al. 1983, Oswald et al. 1985) sowie der Bestimmung des Sauerstoffpartialdruckes (Buerk DG 1993).

Die Beurteilung der Mikrozirkulation erfordert neben der Bestimmung des strömungsphysikalischen Größe Blutvolumendurchfluss auch eine Information über den Gehalt an Metaboliten. Für die Beurteilung von Angebot und Verbrauch an Sauerstoff ist die Sauerstoffsättigung zu bestimmen. Die hier vorgestellte Methode

gestattet die Messung der Sauerstoffsättigung sowohl in retinalen Gefäßen als auch im Kapillargebiet des Fundus. Sie stellt damit eine wertvolle Ergänzung zu den bekannten Methoden zur Bestimmung strömungsphysikalischer Größen dar. Die Messung der Sauerstoffsättigung am Augenhintergrund ist eine neue Methode, für die nur wenige Vergleichsuntersuchungen in der Literatur vorliegen. Insbesondere existiert zur Veränderung der Sauerstoffsättigung in retinalen Gefäßen bei Diabetikern nach Glukosegabe nur eine vergleichbare Arbeit.

Vergleichsmessungen zur Sauerstoffsättigung bei Diabetikern während Glukosebelastung führten *Tiedeman et al.* 1998 durch, jedoch sind hier keine absoluten Werte veröffentlicht, so dass man nur einen Vergleich der tendenziellen Entwicklung der Sauerstoffsättigungswerte durchführen kann (Tiedeman et al. 1998). In dieser Arbeit wurden anhand von zwei verschiedenen Probandengruppen, Normalprobanden und Diabetiker (aufgeteilt in Diabetiker gesamt, Typ-I und Typ-II Diabetiker) die Unterschiede der Sauerstoffsättigung zwischen Normalprobanden und Diabetikern untersucht.

Es wurden insgesamt 31 Diabetiker und 19 Normalpersonen gemessen.

Für die Gruppe der Normalpersonen betrug die mittlere arterielle Sauerstoffsättigung vor Glukosebelastung 93,29 ($\pm 7,62$)%, die mittlere venöse Sättigung 51,45 ($\pm 7,28$)% und die arterio-venöse Sauerstoffsättigungsdifferenz 42,54 ($\pm 9,65$)%.

Die in dieser Arbeit gemessenen Werte sind mit den von *Kraft* 2001 erhobenen vergleichbar.

Die mittlere arterielle Sauerstoffsättigung betrug 92,2 ($\pm 4,1$)%, die mittlere venöse Sauerstoffsättigung 57,9 ($\pm 9,9$)% und die arterio-venöse Sauerstoffsättigungsdifferenz 35,1 ($\pm 9,5$)% (*Kraft* 2001). Diese Ergebnisse zeigen, dass mit der 4-Wellenlängenmethode weitgehend ähnliche Werte sowohl für die arterielle und venöse Sauerstoffsättigung als auch für die arterio-venöse Sauerstoffsättigungsdifferenz wie mit der 76-Wellenlängenmethode zu messen sind.

Diese Sauerstoffsättigungswerte für Normalprobanden sind auch mit den von anderen Methoden erhobenen Messwerten vergleichbar. *Delori* führte 1988 mit der Drei-Wellenlängen-Spektrometrie („Retinal Vessel Oxymeter“) retinale Sauerstoffsättigungsmessung an insgesamt 22 Normalpersonen durch. Hier wurde

die mittlere arterielle Sauerstoffsättigung mit $98 (\pm 8)\%$ und die mittlere venöse Sauerstoffsättigung mit $45 (\pm 7)\%$ angegeben (Delori 1988).

Törnquist et al. berechneten die retinale arterio-venöse Sauerstoffdifferenz bei Schweinen mittels des O_2 -Gehaltes der A. femoralis und des retinalen, den N. opticus umgebenden, venösen Plexus (Törnquist und Alm). Hier betrug die arterio-venöse Sauerstoffsättigungsdifferenz $2,15 (\pm 0,26)$ mmol/l; dies entspricht einer Sauerstoffsättigungsdifferenz von ca. 30% und somit der in dieser Arbeit ermittelten arterio-venösen Differenz.

Ein prinzipieller Nachteil der 4-Wellenlängenmethode besteht in den größeren Streuungen der Sauerstoffsättigung durch das Signalrauschen als dies bei Anwendung der 76-Wellenlängenmethode der Fall ist.

Dieser Nachteil kann teilweise kompensiert werden, wenn die Zahl der Messpunkte erhöht wird, von denen die Sauerstoffsättigung bestimmt wird.

Vorteil sowohl der 4-Wellenlängenmethode als auch der 76-Wellenlängenmethode ist die Nichtinvasivität der Messung. Dies bedeutet für den Patienten, dass es möglich ist, eine schonende wiederholbare Messung der Sauerstoffsättigung am Augenhintergrund durchzuführen. Das ist ein klarer Vorteil gegenüber bisherigen invasiven Methoden im Tierversuch oder während intravitrealen Operationen.

Das während einer Messung detektierte Licht setzt sich aus dem reflektierten und dem durch das Gefäß transmittierten Licht zusammen. Bei der Änderung physiologischer Parameter werden diese beiden Komponenten (reflektiertes und transmittiertes Licht) unterschiedlich beeinflusst. Eine Zunahme des Gefäßdurchmessers oder Erhöhung des Hämatokritwertes bewirken eine Abnahme des transmittierten Lichtes. Gegensätzlich hierzu steigt der reflektierte Anteil des Lichtes in dem Wellenlängenbereich von $> 590\text{nm}$ an. Somit ändert sich das Verhältnis zwischen reflektiertem und transmittiertem Licht bei Veränderungen bestimmter physiologischer Größen und könnte somit zu falschen Sauerstoffsättigungswerten führen. Diesem Problem konnte in der vorliegenden Arbeit begegnet werden, indem die Messung innerhalb des Wellenlängenbereiches von 510nm bis 586nm durchgeführt wurde. In diesem Wellenlängenbereich müssen Änderungen der Schichtdicke (Gefäßdurchmesser) und des Hämatokritwertes bei

Spektren des intern reflektierten Lichtes nicht berücksichtigt werden. Somit ist der Einfluss der Schichtdicke und des Hämatokrites nur noch bei der Berechnung des transmittierten Lichtes zu beachten (Schweitzer et al. 1999).

Durch den von *Thamm et al.* 1998 entwickelten neuen mathematischen Algorithmus, der in dieser Arbeit Anwendung findet, können störende Einflüsse der Nachbarschaft eines Gefäßes und der Gefäßwand (Roberts 1987, Thamm 1998) besser ausgeglichen werden. Es wird mit Hilfe des Algorithmus unter optimalen Bedingungen der Gefäßwandreflex korrigiert.

Am ehesten vergleichbar mit der Imaging-Spektrometrie ist die aus dem klinischen Alltag bekannte Pulsoxymetrie (Doenicke et al. 1995). *De Kock et al.* setzten das Prinzip dieser Messmethode erstmals am Auge um (de Kock et al. 1993). Er verwendete eine modifizierte Kontaktlinse zur Messung der retinalen arteriellen Sauerstoffsättigung. Vorteil davon ist die Möglichkeit der kontinuierlichen Messung. Es lässt sich nicht nur eine Momentaufnahme der Sauerstoffsättigung wie bei der Imaging-Spektrometrie erheben, sondern auch über einen längeren Zeitraum kontinuierlich die Sauerstoffsättigung bestimmen. Damit können nur Werte für die arterielle und nicht für die venöse Sauerstoffsättigung bestimmt und die Messung an nur einer bestimmten Stelle, z.B. einem Gefäß, durchgeführt werden. Daher sind mit der Reflectance Pulse Oximetry nach *de Kock et al.* Aussagen bezüglich des Sauerstoffverbrauches nicht möglich. Gerade in der Änderung der venösen Sauerstoffsättigung und somit auch dem Sauerstoffverbrauch sind, wie mit der Imaging-Spektrometrie gezeigt, die aussagekräftigsten Veränderungen gefunden worden.

Ein generelles Problem bei der Betrachtung der Sauerstoffsättigung wird in der Abbildung 26 deutlich. Fehleinschätzungen der aktuellen Sauerstoffversorgung können bei der alleinigen Betrachtung der Sauerstoffsättigung entstehen.

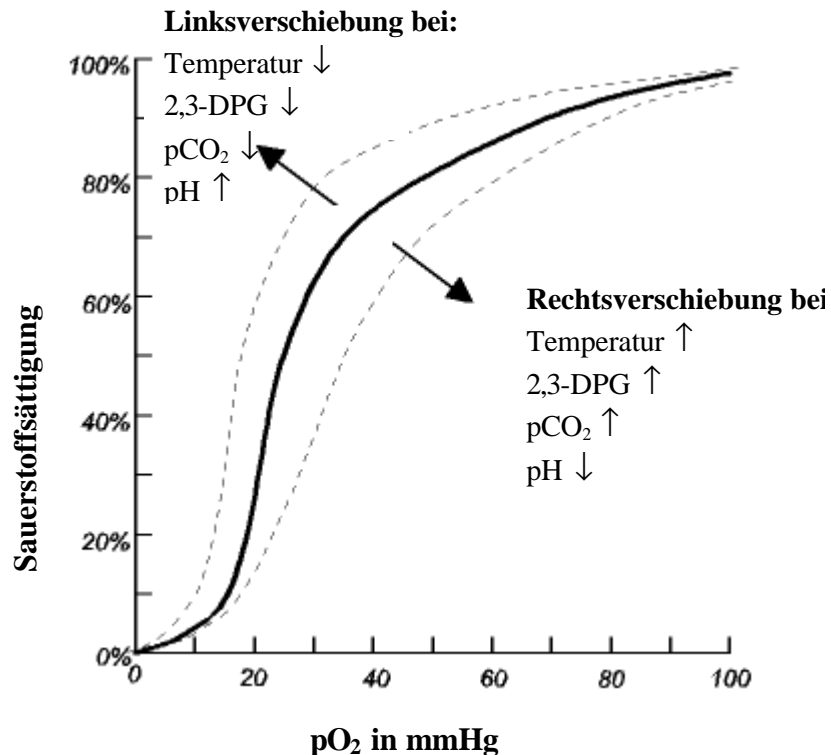


Abbildung 26 Sauerstoffbindungskurve in Abhängigkeit von physiologischen Einflussfaktoren modifiziert nach (Thews 1997)

In der Abbildung 26 ist die Sauerstoffbindungskurve dargestellt. Auf der x-Achse ist der Sauerstoffpartialdruck in mmHg und auf der y-Achse die Sauerstoffsättigung in % abgebildet. Ab einem Sauerstoffpartialdruck von ca. 60mmHg bis 100mmHg flacht die Kurve deutlich ab. Das bedeutet, dass bei steigendem Sauerstoffpartialdruck die Sauerstoffsättigung nur noch langsam ansteigt. Dieser Verlauf der Sauerstoffbindungskurve stellt somit eine wirkungsvolle Sicherung gegen eine Untersättigung des arteriellen Blutes dar. Jedoch birgt sie somit auch die Gefahr der Fehleinschätzung der aktuellen Sauerstoffversorgung, wenn nur die Sauerstoffsättigung betrachtet wird (Thews 1997). Somit verliert die Sauerstoffsättigung ihre Funktion als Warnwert für sinkende Sauerstoffpartialdrücke in dem Bereich von 60mmHg bis 100mmHg (Brown M 1988). Das bedeutet, Aussagen zur arteriellen Sauerstoffsättigung sind in diesem Bereich zurückhaltend zu bewerten.

Wie in Abbildung 26 gezeigt beeinflussen auch die Werte des pH-Wertes, der Temperatur, des CO₂-Partialdruckes und der 2,3-Diphosphoglyceratkonzentration (2,3-DPG) den Verlauf der Dissoziationskurve (Verhältnis Sauerstoffsättigung zu Sauerstoffpartialdruck).

Im Vergleich zu Stoffwechselgesunden konnten bei Diabetikern erhöhte 2,3-DPG-Konzentrationen gefunden werden (Ditzel und Andersen 1975). Erhöhte 2,3-DPG Konzentrationen führen zu einer Rechtsverschiebung der Sauerstoffbindungskurve und somit zu einer Abnahme der Sauerstoffaffinität des Hb. *Ditzel* deutete dieses Ergebnis als einen Regelmeechanismus der Mikrozirkulation zur besseren Oxygenierung des Gewebes bei Diabetikern (Ditzel 1975).

Nachteil beider Jenaer-Imaging-Spektrometrie Methoden (der 76- und der 4-Wellenlängenmethode) ist, dass die Messung nur längs einer einzelnen Zeile möglich ist. Allerdings ist es möglich, anhand der geringeren anfallenden Messdaten bei der 4-Wellenlängenmethode durch weitere Modifikationen an dem Imaging-Spektrometer eine zwei-dimensionale Messung durchzuführen. Somit wäre die Möglichkeit gegeben nicht nur in einem Gefäß, sondern auch die Sauerstoffsättigung in dem Kapillargebiet zu messen. An dieser Methode wird zur Zeit in der Arbeitsgruppe um *Schweitzer* gearbeitet. Eine Zielstellung dieser Arbeit war deshalb die Leistungsfähigkeit dieser 4-Wellenlängenmethode, in Vorbereitung der zwei-dimensionalen Messung der Sauerstoffsättigung, zu überprüfen.

Die meisten Messungen an einem Auge eines Patienten bzw. Probanden, die auf der Grundlage optischer Apparaturen basieren, so auch die Imaging-Spektrometrie, sind auf gute Eigenschaften der optischen Medien und der Mitarbeit des Probanden angewiesen. Durch ungenügend erweiterbare Pupillen und Trübungen der optischen Medien (Hornautdystrophie, Katarakt, Glaskörpertrübungen) können somit z.B. die Messungen negativ beeinflusst werden. In diesen Fällen wird eine exakte Berechnung der Sauerstoffsättigung durch den geringeren Lichteinfall und verminderte Signalintensität der Reflexionsspektren erschwert.

Diese Einschränkungen konnten in dieser Arbeit aufgrund der strengen Ausschlusskriterien vernachlässigt werden.

Auch grobe Blickbewegungen sowie eine ungenügende Fixation des Patienten können die Messung limitieren. Diese Fehlermöglichkeiten konnten in dieser Arbeit ausgeschlossen werden, da vor jeder erneuten Messung die Fixation und die optimale Kameraeinstellung durch den Untersucher kontrolliert wurde. Die Dauer des Lichtblitzes ist sehr klein (10ms); somit kann auch der Einfluss grober Blickbewegungen und des Lidschlusses minimiert werden.

In dieser Studie fand die Messung der Sauerstoffsättigung ohne Berücksichtigung der Pulsphasen statt. *Vilser et al.* zeigten 1999 eine Änderung des Gefäßdurchmessers bei Arterien und Venen von 1% – 3% in Abhängigkeit vom Pulsschlag (Vilser et al. 1999). Es zeigte sich zwar nur eine schwache Abhängigkeit der arteriellen und keine Abhängigkeit der venösen Sauerstoffsättigung, dennoch sollte die Pulsphase berücksichtigt werden. Idealerweise sollte eine durch ein EKG-Gerät getriggerte pulsphasensynchrone Messung erfolgen. Da in dieser Studie je sechs Messungen des Gefäßes zum gleichen Zeitpunkt durchgeführt wurden, ist dieser Einfluss hier zu vernachlässigen.

Die Messung der Sauerstoffsättigung in den Netzhautgefäßen stellt eine unverzichtbare Größe für das Verständnis des Netzhautmetabolismus und der Erforschung von Mikrozirkulationsstörungen dar. Das Jenaer-Imaging-Spektrometer bietet die Möglichkeit, nichtinvasiv diese Messung am Fundus eines Patienten durchzuführen.

Zusätzlich hat man die Möglichkeit, aufgrund der besonderen anatomischen Struktur der Netzhaut anhand einer Arterie mit ihrer dazugehörigen Vene die arterio-venöse Sauerstoffsättigungsdifferenz zu bestimmen. Mit der Kenntnis der Sauerstoffsättigungsdifferenz und dem Blutvolumendurchfluss ist somit die Berechnung des Sauerstoffverbrauches des entsprechenden Fundusareales möglich.

5.2 Diskussion der Ergebnisse

5.2.1 Änderung der arteriellen und venösen Sauerstoffsättigung sowie der arterio-venösen Sauerstoffsättigungsdifferenz bei Normalprobanden nach Glukoseprovokation.

Betrachtet man die Sauerstoffsättigung innerhalb der Probandengruppe der Normalpersonen im Verlauf der Provokation mit 75g Glukose, so fiel auf, dass sich die arterielle Sauerstoffsättigung, wie erwartet, nicht signifikant unterscheidet. Der signifikante Unterschied 120 Minuten nach im Vergleich zu dem Messwert vor Beginn der Provokation mit Glukose ist am ehesten als ein Fehler, der aufgrund der Messgenauigkeit entstanden ist, zu werten.

Im Gegensatz zur gleich bleibenden arteriellen Sauerstoffsättigung fiel die venöse O₂-Sättigung 30min nach Glukoseprovokation um 4,2% gegenüber dem Ausgangswert von 51,45 (\pm 1,88)% signifikant ab, um sich nach weiteren 60min wieder an den Wert vor Glukosebelastung anzugleichen.

Der Messwert zu dem Zeitpunkt 120 Minuten nach Glukoseprovokation entsprach ebenfalls näherungsweise dem Ausgangswert.

Entsprechend dem arteriellen und venösen Verlauf der Sauerstoffsättigung zeigte die arterio-venöse Sauerstoffsättigungsdifferenz einen signifikanten Abfall 120 Minuten nach Glukosebelastung (40,17 (\pm 2,47)%) im Vergleich zu dem Messwert 30 Minuten nach Glukosebelastung (45,99 (\pm 2,03)%).

Die Verringerung der venösen Sauerstoffsättigung 30 Minuten nach Glukosetrunk ist als ein Zeichen einer erhöhten Stoffwechselaktivität, ausgelöst durch die Gabe einer Kohlenhydratlösung, zu werten. Hierdurch wird ein erhöhter Sauerstoffverbrauch ausgelöst. Danach regelt sich die venöse Sättigung wieder um den Ausgangswert ein. Zu dieser Regelung kommt es, da zum einen die gegebene Zuckerlösung bereits zu einem großem Teil verbraucht ist und somit der Stoffwechsel nicht mehr aktiviert

und zum anderen aufgrund verschiedener Regelmechanismen, wie zum Beispiel Änderung des Blutvolumendurchfluss und der Gefäßweite.

Auffällig bei allen oben genannten Messverfahren sind die relativ geringen Werte für die venöse Sauerstoffsättigung der retinalen Gefäße im Vergleich zu den systemischen Werten für die Sauerstoffsättigung. Bei einem gesunden jungen Probanden beträgt die arterielle Sauerstoffsättigung 97% und die mittlere systemische venöse Sättigung 73% unter Ruhebedingungen. Diese Werte sind als Mittelwerte aufzufassen, die starken Änderungen unter körperlicher Arbeit unterliegen können (Thews 1997). Diese große Schwankungsbreite spiegelt die Variabilität des Sauerstoffgehaltes im venösen System als Ausdruck der Stoffwechselaktivität und des Sauerstoffverbrauches, der vielen physiologischen Einflussgrößen unterliegt, wieder.

Die in dieser Studie erhobenen arterio-venösen Sauerstoffsättigungsdifferenzen stimmen am ehesten mit denen aus der Literatur bekannten Werte für die zerebral arterio-venösen Sauerstoffsättigungsdifferenzen von 34% (Edvinsson et al. 1993) überein. Mit ihrem relativ hohen und unfenestrierten Endothel ähneln die Gehirnkapillaren am ehesten denen der Netzhautgefäße (Funk 1995). Die in dieser Studie gemessenen hohen Werte für die arterio-venöse Sauerstoffsättigungsdifferenz deuten also auf eine hohe Sauerstoffausschöpfung hin, die in den Netzhautkapillaren stattfindet. Bei Minderperfusion der Netzhaut, z.B. durch mikrovaskuläre Veränderungen, stehen nicht, wie im systemischen Kreislauf, ausreichende Reserven zur Verfügung. Somit kann es unter hypoxischen Bedingungen am Auge schneller zu pathologischen Veränderungen kommen.

5.2.2 Änderung der arteriellen und venösen Sauerstoffsättigung sowie der arterio-venösen Sauerstoffsättigungsdifferenz bei Diabetikern.

Auch in der Gruppe der Diabetiker wurde die arterielle und venöse Sauerstoffsättigung sowie die arterio-venöse Sauerstoffsättigungsdifferenz nach einem Glukosetrunk (20g Glukose gelöst in 100ml Wasser) gemessen. Die

Untersuchungen wurden sowohl für die Gesamtgruppe der Diabetiker als auch getrennt für Typ-I und Typ-II Diabetiker ausgewertet.

Die arterielle retinale Sauerstoffsättigung der Diabetiker zeigte im Verlauf der Stoffwechselprovokation mit Glukose keinen signifikanten Unterschied zu den verschiedenen Messzeitpunkten.

Bei der venöse Sauerstoffsättigung innerhalb der Gruppe der Diabetiker zeigte sich 30 Minuten nach Glukosetrunk zwar ebenfalls, wie in der Gruppe der Normalprobanden, ein Abfall gegenüber dem Ausgangswert von 56,02 (\pm 1,30)%, jedoch ist dieser Abfall von 2,04% statistisch nicht signifikant. Zu den übrigen Messzeitpunkten (60, 90 und 120 Minuten nach Glukoseprovokation) lag die venöse Sauerstoffsättigung bei ca. 55%.

Entsprechend den Werten der arteriellen und venösen Sauerstoffsättigung zeigt auch die arterio-venöse Sauerstoffsättigungsdifferenz im Verlauf der Provokation keinen signifikanten Unterschied. Die Messwerte für die arterio-venöse Sauerstoffsättigungsdifferenz bewegten sich zwischen 39,66 (\pm 1,82)% für den Zeitpunkt vor Glukosetrunk und maximal 42,08 (\pm 2,06)% für den Zeitpunkt 120 Minuten nach Glukosetrunk.

Bei isolierter Betrachtung der beiden Diabetesgruppen (Typ-I und Typ-II Diabetiker) zeigte sich ein ähnliches Verhalten wie bei der Gesamtgruppe der Diabetiker. Es ließen sich also keine signifikante Unterschiede weder innerhalb der Gruppe der Typ-I Diabetiker bzw. der Gruppe der Typ-II Diabetiker, noch zwischen den beiden Gruppen untereinander nachweisen.

Dies galt sowohl für die arterielle und venöse Sauerstoffsättigung als auch für die arterio-venöse Sauerstoffsättigungsdifferenz.

Die Ergebnisse für die Sauerstoffsättigung in der Gruppe der Normalprobanden werden in dem nächsten Kapitel zusammen mit den Ergebnissen für die Sauerstoffsättigung der Normalprobanden diskutiert.

5.2.3 Vergleich der Ergebnisse von Normalprobanden und Diabetikern

In dieser Arbeit wurden die Unterschiede der Sauerstoffsättigung bei Diabetikern ohne klinisch erkennbarer diabetischer Retinopathie und Augengesunden nicht an Diabetes erkrankten Probanden, ohne klinisch nachweisbare pathologische Netzhautveränderungen, anhand der Sauerstoffsättigungsbestimmung untersucht.

Zu diesem Zweck wurden zwei verschiedene Probandengruppen (Normalpersonen und Diabetiker; aufgeteilt in Diabetiker gesamt, Typ-I Diabetiker und Typ-II Diabetiker) untersucht. Es war zu erwarten, dass in der Gruppe der Diabetiker bereits Veränderungen der Mikrozirkulation nachweisbar sind.

Bei dem Vergleich der arteriellen Sauerstoffsättigung der Normalprobanden mit den Diabetikern lässt sich sowohl zu der Gruppe der Diabetiker gesamt als auch zu den Gruppen der Typ-I Diabetiker und Typ-II Diabetiker eine signifikant niedrigere Sauerstoffsättigung 120 Minuten nach Glukosebelastung nachweisen. Bei allen anderen Vergleichen der arteriellen Sauerstoffsättigung lassen sich keine signifikante Unterschiede nachweisen.

Im Vergleich der venösen Sättigung zwischen den beiden Probandengruppen fiel auf, dass die gemessenen Sauerstoffsättigungswerte der an Diabetes erkrankten Probandengruppe zu jedem Messzeitpunkt, bis auf 120 Minuten nach der Provokation, signifikant höher waren als in der Vergleichsgruppe (siehe Abbildung 21 Kapitel 4.2)

Die signifikante Verringerung der venöse Sauerstoffsättigung 30 Minuten nach Glukosetrunk in der Gruppe der Normalprobanden mit darauf folgendem Angleichen an den Ausgangswert ließ sich weder für die Gruppe der Diabetiker gesamt, noch für die Gruppe der Typ-I bzw. Typ-II Diabetiker nachweisen. Es zeigte sich zwar für die Gruppe der Diabetiker gesamt und Typ-II Diabetiker ebenfalls ein Abfall der venösen Sauerstoffsättigung 30 Minuten nach Glukosetrunk, jedoch ist dieser Abfall statistisch nicht signifikant.

Die generell höheren Werte der venösen Sauerstoffsättigung in der Gruppe der Diabetiker sind durch eine gestörte Gefäßpermeabilität erklärbar, wie sie im Rahmen der diabetischen Retinopathie bekannt ist, wodurch die Abgabe des Sauerstoffes

aus den Gefäßen in das Gewebe erschwert ist. Vergleichbare Ergebnisse konnte auch *Eckler et al.* 2002 zeigen, hier war die mittlere venöse Sauerstoffsättigung bei Diabetikern mit diabetischer Retinopathie mit $63,3 \pm (7,4)\%$ signifikant höher als in der Vergleichsgruppe mit $57,9 (\pm 9,9)\%$ (*Eckler et al.* 2002).

Für Diabetiker mit diabetischer Retinopathie sind noch größere Unterschiede, als in dieser Arbeit gezeigt, in der Sauerstoffsättigung zu erwarten.

Die unterschiedlichen Ergebnisse in dem Vergleich an Normalprobanden zu der gesamten Diabetesgruppe und Normalprobanden zu Typ-I und Typ-II Diabetikern, lassen sich durch die größere Anzahl an Probanden in der gesamten Diabetesgruppe erklären. Durch die Vergrößerung der Probandenzahl verringert sich der Standardfehler und somit lassen sich die Unterschiede statistisch besser nachweisen.

Im Vergleich zur Gruppe der Normalprobanden erhielt die Gruppe der Diabetiker in Absprache mit der Klinik für Innere Medizin (Diabetologie) einen Glukosetrunk mit nur 20g Glukose gelöst in 100ml Wasser. Die Gruppe der Normalprobanden erhielt einen Trunk mit 75g Glukose gelöst in 100ml Wasser. Mit diesen unterschiedlichen Glukosemengen konnte zwar in beiden Gruppen ein ähnlicher Anstieg des Blutzuckerwertes erreicht werden, jedoch könnte dieser Umstand ein möglicher Erklärungsansatz für die im Verlauf konstant bleibende venöse Sauerstoffsättigung in der Gruppe der Diabetiker sein. Trotz des gleichen Anstieges des Blutzuckerwertes von ca. 4mmol/l gegenüber dem Ausgangswert ist in der Gruppe der Diabetiker die Aktivierung des Stoffwechsels und somit der Sauerstoffbedarf nicht so stark ausgeprägt wie in der Gruppe der Normalprobanden, die einen Trunk mit 75g Glukose erhielten.

Für die arterio-venöse Sauerstoffsättigungsdifferenz konnte ein signifikant niedrigerer Wert für die Diabetiker als für die Normalprobanden zu dem Zeitpunkt 30 Minuten nach Glukoseprovokation gezeigt werden. Dies spricht sowohl für eine größere Sauerstoffausschöpfung und bessere Diffusionsverhältnisse als auch für eine bessere Dynamik der Regelmechanismen der Mikrozirkulation der Normalprobanden im Vergleich zu den Diabetikern.

Bis auf 120 Minuten nach Glukosetrunk war die Sauerstoffsättigungsdifferenz der Normalprobanden größer als die der Diabetiker. 120 Minuten nach Glukosetrunk

zeigte sich ein umgekehrtes Verhalten. Dieses Phänomen ist jedoch am ehesten aufgrund der Messungenauigkeit entstanden. In der Gruppe der Normalprobanden konnte zu dem Zeitpunkt T5 (120 Minuten nach Glukosetrunk) eine Verringerung der arteriellen Sauerstoffsättigung gezeigt werden. Diese Verringerung der arteriellen Sauerstoffsättigung, wie bereits oben beschrieben, ist jedoch am ehesten aufgrund der Messungenauigkeit entstanden; somit ist auch die arterio-venöse Sauerstoffsättigungsdifferenz beeinflusst.

Verschiedene Veränderungen, die den Stoffaustausch beeinflussen können, sind aus der Literatur bekannt. Diese können für die Erklärung der gestörten Diffusionsverhältnisse herangezogen werden.

Die Hauptfaktoren sind die mikrovaskulären Veränderungen, hierzu zählen die Störungen an den Kapillaren, wie Perizytenverlust (Standl 1983), Verdickung der Basalmembran (Williamson und Kilo 1992) und eine Schädigung sowie Proliferation der Endothelzellen (Standl 1987). Durch die Ansammlung des als Noxe wirkenden Sorbitols in den Gefäßendothelien und den Perizyten der Kapillarwandungen kommt es zu Ödembildung der Endothelzellschicht und somit zu einer Einschränkung der Blut-Retina-Schranke sowie zum teilweisen Verschluss der Gefäße. Die Diffusionsstrecke für Sauerstoff wird durch das Endothelödem verlängert und die Sauerstoffdiffusion somit behindert. *Larson* konnte 1990 eine erhöhte Fließgeschwindigkeit und somit eine verringerte Kontaktzeit der Erythrozyten mit der Gefäßwand bei Diabetikern nachweisen (Larson 1990). Somit ist ebenfalls die Störung der Sauerstoffdiffusion begünstigt. Die Gesamtheit dieser Veränderungen führt zu einer Hypoxie im Versorgungsgebiet des Gefäßes, die durch die vermehrte Bildung des stärker sauerstoffbindenden glykolysierten Hämoglobins begünstigt wird. Als morphologisches Korrelat der Hypoxie kommt es am Augenhintergrund zur Ausbildung der typischen Cotton-Woll-Herde, die Ausdruck ischämischer Netzhautareale sind, sowie zu Kapillarverschlüssen und zur Ausbildung avaskulärer Zonen.

Aber auch eine Veränderung des hämatologischen Systems, wie z.B.: Deformation und Geldrollenbildung der Erythrozyten sowie eine vermehrte Plättchenaggregation, führen zu einer Störung der Sauerstoffabgabe (Harris et al. 1998, Thews 1997).

5.2.4 Änderung der arteriellen und venösen Sauerstoffsättigung sowie der arterio-venösen Sauerstoffsättigungsdifferenz unter verschiedenen Einflussgrößen und Lebensgewohnheiten bei Normalprobanden und Diabetikern

Bei der Untersuchung der Altersabhängigkeit der Sauerstoffsättigung konnte gezeigt werden, dass in der Gruppe der Typ-I Diabetiker die venöse Sauerstoffsättigung zu den Zeitpunkten 0, 30 und 60 Minuten nach Glukoseprovokation signifikant höher war, umso älter die Probanden waren.

Diese Ergebnisse sprechen dafür, dass es im Alter zu Veränderungen in den Netzhautgefäßen kommt, die eine Diffusionsstörung zur Folge haben. Aus der Literatur ist bekannt, dass es im Alter sowohl bei Gesunden als auch bei Diabetikern zu arterio- und arteriolosklerotischen Veränderungen kommt. *Mehnert et al.* konnten 1994 zeigen, dass diese Veränderungen bei Diabetikern und bei Patienten mit Hypertonie früher als bei Gesunden im Alter auftreten (Mehnert et al. 1994).

Blum et al. konnten 2000 sowohl bei Normalpersonen als auch bei Diabetikern eine Vasokonstriktion nach Sauerstoffprovokation zeigen (Blum et al. 2000). Es konnte nachgewiesen werden, dass es bei Typ-II Diabetikern zu einer alterskorrelierten Abnahme der Gefäßkonstriktion kam. Nimmt man nun an, dass bei verminderter Gefäßkonstriktion der Blutvolumendurchfluss größer ist (Grunwald et al. 1996, Oswald et al. 1985), dann ist auch das Sauerstoffangebot größer. Bei geringerer Ausschöpfung dieses Sauerstoffangebotes würde es somit zu einer altersabhängigen Zunahme der venösen Sauerstoffsättigung kommen.

Eine Abhängigkeit der venösen Sauerstoffsättigung von der Diabetesdauer wäre zu jedem Zeitpunkt zu erwarten gewesen. Für die in dieser Arbeit gewonnenen Ergebnisse konnte eine Abhängigkeit der arterio-venösen Sauerstoffsättigungsdifferenz von der Diabetesdauer für die Typ-II Diabetiker zu den Zeitpunkt 90 Minuten nach Glukosetrunk gezeigt werden. Sie war umso kleiner, je länger die Diabetesdauer war. Für die venöse Sauerstoffsättigung konnte für den gleichen Zeitpunkt eine umso größere Sauerstoffsättigung gefunden werden, je länger die Diabetesdauer bestand. 0 und 120 Minuten nach der Provokation ließ sich eine tendenziell ansteigende venöse Sauerstoffsättigung in Abhängigkeit von der Diabetesdauer nachweisen.

Außerdem ließ sich 30 Minuten nach Kohlenhydrattrunk eine tendenziell höhere arterio-venöse Sauerstoffsättigungsdifferenz mit steigender Diabetesdauer der untersuchten Typ-I Diabetiker nachweisen.

Diese Ergebnisse stärken den Verdacht einer gestörten Sauerstoffdiffusion in das Gewebe und somit eines hypoxischen Gewebszustandes.

Eine Abhängigkeit der Sauerstoffsättigung von dem Blutzuckerwert wäre, speziell für die Gruppe der Normalprobanden, zu erwarten gewesen. Signifikante Abhängigkeiten der Sauerstoffsättigung von dem Blutzucker ließen sich aber nicht nachweisen. Jedoch konnten für beide Diabetesgruppen Trends der Abhängigkeit der Sauerstoffsättigung von den aktuellen Blutzuckerwerten gezeigt werden. Es deutete sich eine umso höhere venöse Sauerstoffsättigung je höher der Blutzuckerwert war an. Ebenso zeigte sich eine tendenziell niedrigere venöse Sauerstoffsättigung für die Normalprobanden zum Zeitpunkt 30 Minuten nach Glukosebelastung, je höher der Blutzuckerwert war.

Auch bei der Untersuchung einer Abhängigkeit der Sauerstoffsättigung von dem Hb_{A1c} -Wert wären signifikante Abhängigkeiten zu erwarten gewesen.

Tendenziell war die venöse Sättigung zu dem Zeitpunkt vor Glukosebelastung, in der Gruppe der Typ-II Diabetiker, umso niedriger, je höher der Hb_{A1c} -Wert war. Analog dazu war die arterio-venöse Sauerstoffsättigungsdifferenz umso größer, je größer der Hb_{A1c} -Wert war.

Allerdings ist dieses Ergebnis widersprüchlich zu der Theorie, dass es durch den erhöhten Anteil glykolysierten Hämoglobins (Hb_{A1c}) zu einer verminderten Sauerstoffabgabe an das Gewebe kommt. Eventuell wird der Sauerstoff also während der akuten und eventuell auch der chronischen Hyperglykämie verbraucht.

Die gefundenen Trends für die Abhängigkeit der Sauerstoffsättigung von dem Blutzuckerwert bzw. dem Hb_{A1c} -Wert sind mit den aus der Literatur bekannten Ergebnissen in Einklang zu bringen.

Geschlechtsabhängigkeit der Sauerstoffsättigung fanden sich wie erwartet nicht. Auch *Kraft* konnte 2001 keine Abhängigkeiten der Sauerstoffsättigung von dem jeweiligen Geschlecht der untersuchten Probanden nachweisen.

Eine Untersuchung auf Abhängigkeiten der Sauerstoffsättigung von bekannter Hypertonie in der Gruppe der Normalprobanden konnte nicht erfolgen, da sich in dieser Gruppe keine Personen befanden, die an Hypertonie erkrankt waren.

In der Gruppe der Diabetiker konnten keine signifikanten Unterschiede der Sauerstoffsättigung zwischen Probanden mit Hypertonie und denen ohne Hypertonie gefunden werden.

In dieser Arbeit zeigte der direkte Vergleich der Sauerstoffsättigung von rauchenden zu nichtrauchenden Diabetikern keinen statistisch signifikanten Unterschied.

Bei Rauchern wurde im Gegensatz zu Nichtrauchern eine kleinere arterio-venöse Sauerstoffsättigungsdifferenz und eine höhere venöse Sauerstoffsättigung erwartet (Holbrook 1994).

Blutflussuntersuchungen in extraokulären Gefäßen bei Rauchern zeigten gesteigerte Blutflussgeschwindigkeiten (Kaiser et al. 1997). Ebenso konnten bei Rauchern eine gestörte Autoregulationsfähigkeit (Langhans et al. 1997, Morgando et al. 1994) und ein reduziertes Blutflussvolumen (Morgando et al. 1994) gezeigt werden.

6 Schlussfolgerung

In dieser Arbeit sollte zum einen gezeigt werden, dass die 4-Wellenlängenmethode des Jenaer-Imaging-Spektrometers zur Bestimmung der Sauerstoffsättigung in retinalen Gefäßen eingesetzt werden kann und realistische Ergebnisse liefert. Zum anderen sollten Unterschiede der Sauerstoffsättigung bei Diabetikern und Gesunden Probanden infolge der Provokation durch Glukose untersucht werden.

Als Ergebnis dieser Arbeit lässt sich sagen, dass auch mit der rechnerisch weniger aufwendigen 4-Wellenlängenmethode im Vergleich zu der 76-Wellenlängenmethode realistische Messwerte der Sauerstoffsättigung erhoben werden können. Somit kann in Zukunft auf das aufwendigere Verfahren der Sauerstoffsättigungsmessung mit 76-Wellenlängen verzichtet werden.

Mit Hilfe der 4-Wellenlängenmethode lassen sich Aussagen über Änderungen der Sauerstoffsättigung im Verlauf einer Stoffwechselprovokation treffen.

Durch diese Erkenntnis ist es möglich, die Methode für die zwei-dimensionale Sauerstoffsättigungsmessung heranzuziehen. Damit könnte landkartenartig (Mapping) die Sauerstoffversorgung der Netzhaut dargestellt werden.

Aufgrund der zuvor beschriebenen methodischen Vorteile und der einfachen Handhabung der 4-Wellenlängenmethode gegenüber den bisherigen Methoden der Sauerstoffmessung am Fundus ist es sinnvoll, dieses Verfahren auf seine klinische Verwendbarkeit, an verschiedenen Probandengruppen, zu testen.

Die denkbaren Einsatzmöglichkeiten eines derartigen Messverfahrens sind vielfältig. Wie in dieser Studie gezeigt, ist es möglich, mit der venösen Sauerstoffsättigung eine Gruppe Diabetiker von einer Gruppe Normalprobanden zu unterscheiden. Somit ist es denkbar, mit einer zwei-dimensionalen Sauerstoffsättigungsmessung bereits frühzeitig Veränderungen am Augenhintergrund festzustellen. *Linsenmeier et al.* konnte 1998 an Katzenaugen eine retinale Hypoxie bereits vor dem Auftreten von Neovaskularisationen zeigen (*Linsenmeier et al. 1998*).

Ein weiteres denkbares Einsatzgebiet ist die Kontrolle des Effektes nach therapeutischen Maßnahmen, wie z.B. Laserkoagulation oder intravitrealen Operationen. *Stefansson et al.* konnten eine erhöhte venöse Sauerstoffsättigung in

mit Laser behandelten Netzhautgewebe und nach glaskörperchirurgischen Eingriffen nachweisen (Stefansson et al. 1986, Stefansson 1990, Stefansson et al. 1992).

Wünschenswert wäre, dass in Zukunft mit der Messmethode z.B. die Indikationsstellung für eine panretinalen Laserkoagulation verbessert werden kann.

Mit Hilfe der Sauerstoffsättigungsmessung hat man unter Umständen neben der subjektiven Beurteilung des Fundus ein objektive Möglichkeit der Beurteilung der Sauerstoffsituation am Augenhintergrund.

Die zwei-dimensionale Messung der Sauerstoffsättigung könnte als Methode zur Erfassung funktioneller Eigenschaften invasive Verfahren, wie z.B. die Fluoreszenzangiographie, in der klinischen Routine bei bestimmten Fragestellungen ergänzen.

Die in dieser Arbeit gefundenen Ergebnisse können helfen, die Pathologie der Störung der Mikrozirkulation bei Stoffwechselkranken zu verstehen.

Auch, wenn die wahrscheinlichste Ursache für die Unterschiede zwischen den Probandengruppen in der Erkrankung an Diabetes mellitus liegt, sollten auch Komorbidität wie z.B. die Hypertonie mit ihren zusätzlichen vaskulären Veränderungen bedacht werden. Denn auch diese Erkrankungen können auf die Sauerstoffsättigung Einfluss nehmen. In dieser Arbeit wurde nur der Vergleich der Sauerstoffsättigung von Diabetikern ohne klinisch nachweisbare Fundusveränderungen zu stoffwechselgesunden Probanden ohne Augenerkrankung während Glukoseprovokation, geführt. In Zukunft müssten ähnliche Provokationsteste an Patienten mit verschiedenen Stadien der diabetischen Retinopathie durchgeführt und mit diesen Ergebnissen verglichen werden, um zu prüfen, ob die verschiedenen Stadien anhand der Sauerstoffsättigung unterschieden werden können.

Sollte es möglich sein, die funktionellen Störungen der Autoregulation bei Patienten mit diabetischer Retinopathie anhand der Änderung der Sauerstoffsättigung zu erkennen, könnten Risikopatienten eventuell viel früher identifiziert werden.

Die hier vorgestellte Methode eröffnet somit eine neue, nichtinvasive Untersuchungsmöglichkeit, die in zukünftigen Studien an Probanden mit

unterschiedlichen Stadien der diabetischen Retinopathie auf ihre klinische Verwertbarkeit überprüft werden muss.

Für die Weiterentwicklung der zwei-dimensionalen Bestimmung der Sauerstoffsättigung ist die 4-Wellenlängenmethode so wichtig, da die zwei-dimensionale Bestimmung der Sauerstoffsättigung mit Hilfe der 76-Wellenlängenmethode technisch nur schwer realisierbar ist. Die anfallenden Daten sind zu umfangreich um sie zeitgleich auswerten zu können. Mit Hilfe der 4-Wellenlängenmethode lässt sich eine für die tägliche Praxis nutzbare Methode zur zwei-dimensionalen Sauerstoffsättigungsbestimmung unter Verwendung einer Funduskamera realisieren.

7 Literaturverzeichnis

- Alberti, Zimmet. 1998b. ADA Kriterien der WHO.
- Beach JM, Srinivas SR, Tiedemann JS. 1997. Dual wavelength imaging of blood oxygen saturation in retinal vessels. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 38(4):S774.
- Beach JM, Schwenzer KJ, Srinivas S, Kim D, Tiedeman JS. 1999. Oximetry of retinal vessels by dual-wavelength imaging: calibration and influence of pigmentation. *J Appl Physiol*, 86 (2):748-758.
- Bibergeil H. 1989. Diabetes mellitus. Ein Nachschlagewerk für die diabetologische Praxis:473.
- Blum M. 2003. Diabetische Retinopathie, Kontraktilität retinaler Arteriolen unter Sauerstoffatmung. *Der Ophthalmologe*, 100:306-309.
- Blum M, Kubetschka U, Hunger-Dathe W, Bachmann K, Muller UA, Strobel J. 2000. [Autoregulation of retinal arterioles in patients with diabetes mellitus and normal probands]. *Klin Monatsbl Augenheilkd*, 216 (1):40-44.
- Böhm BO, Lang GK, Jehle PM, Feldmann B, Lang GE. 2001. Octreotide reduces vitreous hemorrhage and loss of visual acuity risk in patients with high-rsk proliferative diabetic retinopathy. *Horm Metab*, 33:300-306.
- Brosius G, Brosius F. 1995. SPSS-Base-System and Professional Statistics. 1. Aufl., international Thompson; Bonn:517-519, 690-707.
- Brown M VJ. 1988. Noninvasive oxygen monitoring. *Crit Care Clin*, 4:493-509.
- Buerk DG SR, Riva CE, Cranstoun SD,. 1993. O₂-gradients and countercurrent exchange in the cat vitreous humor near retinal arterioles and venules. *Microvasc Res*, 45 (134-48)
- Buzney SM, Frank RN, Varma SD, Tanishima T, Gabbay KH. 1977. Aldose reductase in retinal mural cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 16 (5):392-396.
- Chase H, Garg SK, Marshall G, Berg CL, Harris S, Jackson WE. 1991. Cigarette smoking increases the risk of albuminuria among subjects with type I diabetes. *JAMA*, 265(5):614-617.
- Chew E, Klein ML, Ferris FL, Remaley NA, Murphy RP, Chantry K. 1996. Association of elevated serum lipid levels with retinal hard exudate in diabetic retinopathy Early Treatment Diabetic Retinopathy Study (ETDRS) Report 22. *Arch Ophthalmol*, 114(9):1079-1084.

- Clermont AC, Aiello LP, Mori F, Aiello LM, Bursell S-E. 1997. Vascular Endothelial Growth Factor and Severity of Nonproliferative Diabetic Retinopathy Mediate Retinal Hemodynamics in Vivo: A Potential Role for Vascular Endothelial Growth Factor in the Progression of Nonproliferative Diabetic Retinopathy. *American Journal of Ophthalmology*, 124:433-446.
- Cunha-Vaz JG, Lima JJ. 1978. Studies on retinal blood flow. I. Estimation of human retinal blood flow by slit-lamp fluorophotometry. *Arch Ophthalmol*, 96 (5):893-897.
- Davis MD, Fisher MR, Gangnon RE, Barton F, Aiello LM, Chew EY. 1998. Risk factors for high-risk proliferative diabetic retinopathy and severe visual loss Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Report #18. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 39(2):233-252.
- DDG. 2003. Leitlinien der Deutschen Diabetes Gesellschaft, Definition, Klassifikation und Diagnostik des Diabetes mellitus.
- de Kock JP, Tarassenko L, Glynn CJ, Hill AR. 1993. Reflectance pulse oxymetry measurements from the retinal fundus. *IEEE Trans Biomed Eng*, 40:817-823.
- Delori FC. 1988. Noninvasive technique for oxymetry in blood in retinal vessels. *Appl Optics*, 27(6):1113-1125.
- Delori FC, Rogers FJ, Bursell SE, Parker JS. 1982. A system for noninvasive oxymetry of retinal vessels. *IEEE Front Eng Health Care*:841-844.
- Diabetic Retinopathy Study Research Group. 1987. Diabetic Retinopathy Study Research Group. Indications for photocoagulation treatment of diabetic retinopathy: Diabetic Retinopathy Study Report no. 14. The Diabetic Retinopathy Study Research Group. *Int Ophthalmol Clin*, 27(4):239-253.
- Ditzel J. 1975. The problem of tissue oxygenation in diabetes mellitus III. The "three-in-one concept" for the development of diabetic microangiopathy and a rational approach to its prophylaxis. *Acta Med Scand Suppl*, 578:69-83.
- Ditzel J, Andersen. 1975. Oxygen affinity of haemoglobin and red cell 2,3-diphosphoglycerate in childhood diabetes. *Acta Paediatr Scand*, 64(2):355-361.
- Doenicke A, Kettler D, List WF, Tarnow J, Thomson D. 1995. *Anästhesiologie, Lehrbuch der Anästhesiologie und Intensivmedizin* 1. 6. Aufl

- Eckler W, Königsdörffer E, Schweitzer D, Hammer M, Voigt U, Kraft J, Strobel J. 2002. Messung der Sauerstoffsättigung retinaler Gefäße bei Diabetikern vor und nach Laserkoagulation. *Der Ophthalmologe* 99, Suppl 1:S 58.
- Edvinsson L, MacKenzie ET, McCulloch J. 1993. Cerebral blood flow and metabolism. Raven Press; New York,
- ETDRS report number 9. 1991. Early Photocoagulation for Diabetic Retinopathy. *Ophthalmology*, 98:766-785.
- ETDRS report number 10. 1991. Grading diabetic retinopathy from stereoscopic color fundus photographs--an extension of the modified Airlie House classification. ETDRS report number 10. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group. *Ophthalmology*, 98 (5 Suppl):786-806.
- Funk R. 1995. Die Anatomie und Physiologie der Blutversorgung des Auges. Kampik A, Grehn F (Hrsg) *Durchblutungsstörungen am Auge*; Enke, Stuttgart:1-14.
- Gandorfer A, Kampik A. 2000. Pars-plana-Vitrektomie bei diabetischer Retinopathie. *Der Ophthalmologe*, 97:325-330.
- Gandorfer A, Ulbig MW. 2001. Medikamentöse Therapieansätze bei diabetischer Retinopathie. *Z prakt Augenheilkd*, 22:23-30.
- Grunwald JE, DuPont J, Riva CE. 1996. Retinal haemodynamics in patients with early diabetes mellitus. *Br J Ophthalmol*, 80 (4):327-331.
- Grunwald JE, Hariprasad SM, DuPont J. 1998. Effect of aging on foveolar choroidal circulation. *Arch Ophthalmol*, 116 (2):150-154.
- Grunwald JE, Riva CE, Petrig BL, Brucker AJ, Schwartz SS, Braunstein SN, DuPont J, Grunwald S. 1995. Strict control of glycaemia: effects on blood flow in the large retinal vessels and in the macular microcirculation. *Br J Ophthalmol*, 79 (8):735-741.
- Hammer M, Thamm E, Schweitzer D. 2002. A simple algorithm for in vivo ocular fundus oximetry compensating for non-haemoglobin absorption and scattering. *Phys Med Biol*, 47 (17):N233-238.
- Hammer M, Leistritz L, Schweitzer D, Thamm E. 1997. Monte Carlo simulation of retinal vessel profiles for the interpretation of in vivo oxymetric measurements by imaging fundus reflectometry. *Proc SPIE Altshuler GB (Hrsg) Medical applications of lasers in dermatology, dentistry and endoscopy*, 3192:211-218.
- Hammes H-P. 2004. Diabetische Retinopathie Ein internistischer Beitrag zu einem ophthalmologischen Thema. *Der Ophthalmologe*, 101:1159-1164.

- Hanefeld M FS, Julius U, Schulze J, Schwanebeck U, Schmechel H, et al. 1996. Risk factors for myocardial infarction and death in newly detected NIDDM the Diabetes Intervention Study, 11-year follow-up. *Diabetologia*, 39,(12):1577-1583.
- Harris A, Kagemann L, Cioffi GA. 1998. Assessment of human ocular hemodynamics. *Surv Ophthalmol*, 42 (6):509-533.
- Hauner H, von Ferber L, Köster I. 1994. Ambulante Versorgung von Diabetikern. Eine Analyse von Krankenkassendaten der AOK Dortmund.:129-134.
- Helbig H, Kellner U, Bornfeld N, Foerster MH. 1998. Vitrectomy in diabetic retinopathy: outcome, risk factors, complications. *Klin Monatsbl Augenheilkd*, 212(5):339-342.
- Hickam JB, Frayser R. 1959. Photographic measurement of retinal venous blood oxygen. *USAF School of Aerospace Med Report*:58-155.
- Holbrook J. 1994. Nicotine addiction. *Harrison´s principles of internal medicine*, 13. Aufl. Mc Graw-Hill, New York:2433-2437.
- Jonas JB, Degenring R. 2002. Intravitreale Injektion von kristallinem Triamcinolon Acetonid als Therapie des diffusen diabetischen Makulaödems. *Klin Monatsbl Augenheilkd*, 219 (429-432)
- Joussen A. 2004. Diabetische Retinopathie. *Der Ophthalmologe*, 101:1157-1158.
- Joussen AM, Lemmen K-D, Kirchhof B. 2001. Die diabetische Makulopathie. *Der Ophthalmologe*, 98:908-921.
- Joussen AM, Fauser S, Krohne TU, Lemmen K-D, Lang GE, Kirchhof B. 2003. Diabetische Retinopathie. *Der Ophthalmologe*, 100:363-370.
- Kaiser HJ, Schoetzau A, Flammer J. 1997. Blood flow velocity in the extraocular vessels in chronic smokers. *Br J Ophthalmol*, 81 (2):133-135.
- Kanski J, Spitznas M. 2004. Retinale Gefäßerkrankungen. *Lehrbuch der klinischen Ophthalmologie*,
- Klein R, BE K, SE M, MD D, DL D. 1989b. Is blood pressure a predictor of the incidence or progression of diabetic retinopathy. *Arch Intern Med*:2427-2432.
- Kraft J. 2001. Spektrometrische Bestimmung der Sauerstoffättigung in Netzhautgefäßen des menschlichen Auges [Dissertation]. Jena: Friedrich-Schiller-Universität.
- Kroll P. 1997. Stadien-Einteilung und Laser-Therapie der diabetischen Retinopathie und Makulopathie. *Z prakt Augenheilkd*, 18:171-180.

- Laing RA, Cohen AJ, Friedman E. 1975. Photographic measurements of the retinal blood oxygen saturation: falling saturation rabbit experiments. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 14:606-610.
- Lang GE. 2004. Medikamentöse Therapie der diabetischen Retinopathie. *Der Ophthalmologe*, 101:1165-1170.
- Lang GE, Kampmeier J. 2002. Die Bedeutung der Proteinkinase C in der Pathophysiologie der diabetischen Retinopathie. *Klin Monatsbl Augenheilkd*, 219:769-776.
- Langhans M, Michelson G, Groh MJ. 1997. Effect of breathing 100% oxygen on retinal and optic nerve head capillary blood flow in smokers and non-smokers. *Br J Ophthalmol*, 81 (5):365-369.
- Larson. 1990. *Anästhesie*. Urban und Schwarzenberg, 3. Auflage,
- Lemmen K-D. 1993. Stadien-Einteilung und Laser-Therapie für die nicht proliferative diabetische Retinopathie und die diabetische Makulopathie. *Der Augenarzt*, 27:70-78.
- Linsenmeier RA, Braun RD, McRipley MA, Padnick LB, Ahmed J, Hatchel DL, McLeod S, Luty GA. 1998. Retinal hypoxia in long-term diabetic rats. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 39(9):1647-1657.
- Löwel H SJ, Koenig W, Thorand B, Hörmann A, Gostomzyk J, et al. 1999. Das Diabetes-bedingte Herzinfarkttrisiko in einer süddeutschen Bevölkerung Ergebnisse der MONICA-Augsburg-Studien 1985-1994. *Diabetes und Stoffwechsel*, 8:11-21.
- Mehnert H, Schöffling K, Standl K, Usadel K. 1994. *Diabetologie in Klinik und Praxis*. Diabetologie in Klinik und Praxis, 3. Auflage:426-439; 470.
- Michaelis D JE. 1990. Trends in mortality rates in the diabetic population of the GDR. *Exp Clin Endocrinol*, 95,(1):83-90.
- Morgando P, Chen H, Patel V, Herbert L, Kohner E. 1994. The acute effect of smoking on retinal blood flow in subjects with and without diabetes. *Ophthalmology*, 101(7):1220-1226.
- Müller UA. 2005. Gezielte Diabetesprävention in Risikogruppen: Contra. *Dtsch med Wochenschr*, 130:1104.
- Oswald B, Vilser W, Oswald H, Jutte A, Königsdörffer E, Schweitzer D. 1983. [Measurement of flow physiology of the large vessels in retinal circulation in normal subjects]. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 220 (1):39-41.

- Oswald B, Vilser W, Oswald H, Jutte A, Schweitzer D, Königsdörffer E, Deufrains A, Dietze U. 1985. Measurement of flow-physiologic parameters of retinal blood circulation in type 1 and 2 diabetics before and after photocoagulation. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 223 (3):154-157.
- Panzram G, Zabel-Langhennig R. 1981. Prognosis of diabetes mellitus in a geographically defined population. *Diabetologia*, 20,(6):587-591.
- Riva CE, Grunwald JE, Sinclair SH, Petrig BL. 1985. Blood velocity and volumetric flow rate in human retinal vessels. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 26 (8):1124-1132.
- Roberts DA. 1987. Analysis of vessel absorption profiles in retinal oximetry. *Med Phys*, 14(1):124-130.
- Schauer U. 1998. Inzidenz und Prognose des Typ-1-Diabetes in Thüringen. *Ärztebl Thüringen*, 9:590-592.
- Schenkman KA, Marble David R, Bruns David H, Feigl Eric O. 1997. Myoglobin oxygen dissociation by multiwavelength spectroscopy. *J Appl Physiol*, 82:86-92.
- Schiel R, Müller UA, Sprott H, Schmelzer A, Mertes B, Hunger-Dathe W. 1997. The JEVIN trial: a population-based survey on the quality of diabetes care in Germany 1994/1995 compared to 1989/1990. *Diabetologia*, 40,(11):1350-1357.
- Schnurrbusch U, Wolf S. 2004. Screening, Management und Therapie der diabetischen Retinopathie und des diabetischen Makulaödems. *Z prakt Augenheilkd*, 25:429-435.
- Schweitzer D, Hammer M, Scibor M. 1996. Imaging spectrometry in ophthalmology--principle and applications in microcirculation and in investigation of pigments. *Ophthalmic Res*, 28 Suppl 2:37-44.
- Schweitzer D, Leistritz L, Hammer M, Scibor M, Bartsch U, Strobel J. 1995. Calibration-free measurement of the oxygen saturation in retinal vessels of men. *Poc SPIE 2393*; Parel JM, Ren Q, Joos KM, (Hrgs): *Ophthalmic technologies V*:210-218.
- Schweitzer D, Hammer M, Kraft J, Thamm E, Königsdörffer E, Strobel J. 1999. In vivo measurement of the oxygen saturation of retinal vessels in healthy volunteers. *IEEE Trans Biomed Eng*, 46 (12):1454-1465.

- Standl E. 1983. Funktionelle und frühe strukturelle Veränderungen bei der diabetischen Mikroangiopathie. *Akt EndokrinolStoffw*, 4:1-8.
- Standl E. 1987. Diabetische Mikroangiopathien. *Internist*, 28:262-272.
- Standl E, Janka HU, Dixel T, Kolb HJ. 1976. Muscle metabolism during rest and exercise: Influence on the oxygen transport system of blood in normal and diabetic subjects. *Diabetes*, 25 [Suppl.]:914-919.
- Stefansson E. 1990. Oxygen and diabetic eye disease. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 228 (2):120-123.
- Stefansson E, Hatchell DL, Fisher BL, Sutherland FS, Machemer R. 1986. Panretinal photocoagulation and retinal oxygenation in normal and diabetic cats. *Am J Ophthalmol*, 101 (6):657-664.
- Stefansson E, Machemer R, de Juan E, Jr., McCuen BW, 2nd, Peterson J. 1992. Retinal oxygenation and laser treatment in patients with diabetic retinopathy. *Am J Ophthalmol*, 113 (1):36-38.
- Thamm E, Schweitzer D, Hammer M,. 1998. A data reduction scheme for improving the accuracy of oxygen saturation calculations from spectrometric in vivo measurements. *Phys Med Biol*, 34(6):1401-1411.
- Thews G. 1997. Atemgastransport und Säure-Basenstatus des Blutes. Schmidt RF, Thews G, (Hrsg): *Physiologie des Menschen*, 27. Aufl.; Springer Berlin, Heidelberg, New York:604-623.
- Tiedeman JS, Kirk SE, Srinivas S, Beach JM. 1998. Retinal oxygen consumption during hyperglycemia in patients with diabetes without retinopathy. *Ophthalmology*, 105 (1):31-36.
- Törnquist P, Alm A. Retinal and chorioidal contribution to retinal metabolism in vivo. A study in pigs. *Acta Physiol Scand*, 106:343-350.
- Trautner C, Icks A, Haastert B, Plum F, Berger M. 1997. Incidence of blindness in relation to diabetes. A population-based study. *Diabetes Care*, 20,(7):1147-1153.
- Ulbig MW, Kampik A. 1993. Stadienbezogene Therapie der diabetischen Retinopathie. *Der Ophthalmologe*, 90:395-414.
- Ulbig MW, Kampik A, Hamilton AMP. 1993. Diabetische Retinopathie. *Der Ophthalmologe*, 90:197-209.

- van Assendelft OW. 1970. Spectrometry of haemoglobin derivatives. Royal Vangorcum, ltd Publisher, Assen, the Netherlands, Charles C Thomas, Publisher,
- Vilser W, Nagel E, Fuhrmann G, Lundershausen R, Frank M. 1999. Möglichkeiten und Grenzen der retinalen Gefäßanalyse mit dem Retinal Vessel Analyser. Forschungsbericht Projekt GEFANA,
- Vilser W, Brandt HP, Königsdörffer E, Wittwer B, Jutte A, Dietze U, Deufrains A. 1979. [Device for measurements of blood flow in the great retinal vessels of man (author's transl)]. Albrecht Von Graefes Arch Klin Exp Ophthalmol, 212 (1):41-47.
- Williamson JR, Kilo C. 1992. Basement membrane physiology and pathophysiology. International Textbook of Diabetes Mellitus:1245-1265.
- Zander R, Mertzluft FO. 1988. Der Sauerstoffstatus des arteriellen Blutes. Karger; Basel,

8 Anhang

Danksagung

An dieser Stelle sei allen gedankt, die mich bei der Erstellung dieser Arbeit unterstützt haben. Mein besonderer Dank gilt meinem Betreuer Herrn Doz. Dr.-Ing. habil. D. Schweitzer und Herrn Prof. Dr. med. E. Königsdörffer, der die Anregung zu diesem Thema sowie wertvolle Hinweise für die Bearbeitung gab.

Meiner Familie sowie meinen vielen ungenannten Freunden, die sich als Probanden zur Verfügung stellten, möchte ich für die Hilfe und Unterstützung während der gesamten Erstellungszeit der Promotion danken.

Ehrenwörtliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass mir die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität bekannt ist,

ich die Dissertation selbst angefertigt habe und alle von mir benutzten Hilfsmittel, persönlichen Mitteilungen und Quellen in meiner Arbeit angegeben sind,

mich folgende Personen bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskripts unterstützt haben: Doz. Dr.-Ing. habil. D. Schweitzer, Prof. Dr. med. E. Königsdörffer,

die Hilfe eines Promotionsberaters nicht in Anspruch genommen wurde und dass Dritte weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen von mir für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen,

dass ich die Dissertation noch nicht als Prüfungsarbeit für eine staatliche oder andere wissenschaftliche Prüfung eingereicht habe und

dass ich die gleiche, eine in wesentlichen Teilen ähnliche oder eine andere Abhandlung nicht bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht habe.

Tagewerben, 31.05.2005

Kai Wildner

Lebenslauf***Kai Wildner***

| | |
|-------------------|---|
| geb.: 11.01.1978 | in Weißenfels ledig |
| 1984 – 1991 | „Beuditz-Oberschule“, Weißenfels |
| 1991 – 1996 | Gymnasium „Weißenfels-West“, Weißenfels |
| 1996 | Abitur |
| 1996 – 1997 | Grundwehrdienst |
| 1997 – 2003 | Studium der Humanmedizin an der Friedrich-Schiller-Universität Jena |
| 16.10.2003 | 3.Abschnitt der Ärztlichen Prüfung |
| 01/2004 – 09/2004 | Arzt im Praktikum, Universitätsaugenklinik Jena |
| seit 01.10.2004 | Assistenzarzt, Universitätsaugenklinik Jena |

Tagewerben, 31.05.2005