

Aus der Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde
der Universitätsmedizin Rostock
und
der Kinder- und Jugendklinik
der Universitätsmedizin Rostock

**Analyse diabetesinduzierter Veränderungen des Auges
bei Jugendlichen und jungen Erwachsenen mit einem
Diabetes mellitus Typ 1**

Inauguraldissertation
zur Erlangung des akademischen Grades
Doktor der Medizin (Dr. med.)
der Universitätsmedizin Rostock

vorgelegt von
Janina Dost
geboren am 22.10.1991 in Hamburg

Berlin, Februar 2021

Gutachter:

Prof. Dr. D.-C. Fischer, Universitätsmedizin Rostock, Kinder- und Jugendklinik

Prof. Dr. O. Stachs, Universitätsmedizin Rostock, Augenklinik

Prof. Dr. K.-H. Emmerich, Klinikum Darmstadt, Augenklinik

Jahr der Einreichung: 2021

Jahr der Verteidigung: 2021

| | | |
|------------|--|-----------|
| I | Inhaltsverzeichnis | I |
| II | Abkürzungsverzeichnis | IV |
| III | Abbildungsverzeichnis | VI |
| IV | Tabellenverzeichnis | IX |
| 1 | Einleitung | 1 |
| 1.1 | Der Diabetes Mellitus | 1 |
| 1.1.1 | Typ-1 Diabetes Mellitus | 2 |
| 1.1.2 | Komplikationen und Langzeitfolgen des Typ-1 Diabetes Mellitus | 3 |
| 1.1.2.1 | Die diabetische Retinopathie | 4 |
| 1.1.2.2 | Die diabetische Neuropathie | 6 |
| 1.2 | Das Auge als Zielorgan diabetesassoziierter Veränderungen und Komorbiditäten | 7 |
| 1.2.1 | Diabetesbedingte Veränderungen an der Cornea | 8 |
| 1.2.2 | Diabetesbedingte Veränderungen an der Linse | 10 |
| 1.2.3 | Diabetesbedingte Veränderungen an der Retina | 11 |
| 1.2.4 | Diabetesbedingte Veränderungen weiterer ophthalmologischer Strukturen | 13 |
| 1.3 | Sekundärpräventive Maßnahmen für pädiatrische T1DM-Patienten | 13 |
| 2 | Ziel der Arbeit | 15 |
| 3 | Material und Methoden | 17 |
| 3.1 | Studiendesign | 17 |
| 3.1.1 | Rekrutierung und Studiendurchführung | 18 |
| 3.2 | Klinische Daten | 19 |
| 3.3 | Ophthalmologischer Status | 19 |
| 3.4 | Diagnostische Methoden | 20 |
| 3.4.1 | Scheimpflugphotographie der Cornea | 20 |
| 3.4.2 | Autofluoreszenzmessung der Linse | 22 |

| | | |
|----------|--|-----------|
| 3.4.3 | Konfokale Laser-Scanning Mikroskopie der Cornea | 24 |
| 3.4.4 | Optische Kohärenztomographie der Retina | 26 |
| 3.5 | Quantitative Bildanalyse | 28 |
| 3.5.1 | Pachymetrie- und Densitometrieanalyse der Cornea | 28 |
| 3.5.2 | Analyse des subbasalen cornealen Nervenplexus | 29 |
| 3.5.3 | Segmentierung und Charakterisierung der Retinaschichtdicken | 31 |
| 3.6 | Datenverarbeitung und -auswertung | 32 |
| 4 | Ergebnisse | 34 |
| 4.1 | Studienpopulation | 34 |
| 4.2 | Darstellung der anthropometrischen und klinischen Daten | 34 |
| 4.3 | Allgemeiner ophthalmologischer Status | 37 |
| 4.4 | Vergleichende Analyse studienspezifischer ophthalmologischer Untersuchungen der T1DM-Patienten und Kontrollen | 37 |
| 4.4.1 | Corneale Transparenz- und Dickenmessung | 37 |
| 4.4.2 | Autofluoreszenzverhalten der Linse | 38 |
| 4.4.3 | Morphologie des cornealen subbasalen Nervenplexus | 39 |
| 4.4.4 | Retinaschichtdicke bei T1DM-Patienten und Kontrollen | 42 |
| 4.5 | Zusammenhänge von ophthalmologischen und klinischen Parametern | 43 |
| 4.5.1 | Zusammenhänge der Linsenautofluoreszenzwerte und dem Alter, dem aktuellen HbA _{1c} und der Erkrankungsdauer | 43 |
| 4.6 | Assoziationen zwischen ophthalmologischen Befunden | 46 |
| 5 | Diskussion | 50 |
| 5.1 | Studienergebnisse zu diabetesbedingten frühzeitigen Aberrationen ophthalmologischer Strukturen | 50 |
| 5.1.1 | Veränderungen der cornealen Transparenz und Dicke | 50 |
| 5.1.2 | Erhöhte Autofluoreszenzwerte der Linse | 51 |
| 5.1.3 | Veränderungen des cornealen subbasalen Nervenplexus | 54 |
| 5.1.4 | Neurodegenerative Veränderungen der Retina | 55 |

| | | |
|-----------|--|-----------|
| 5.2 | Diabetesassoziierte frühzeitige Neurodegeneration des Auges | 56 |
| 5.3 | Die Erkrankungsdauer als relevanter krankheitsspezifischer Parameter diabetesbedingter ophthalmologischer Aberrationen | 56 |
| 5.4 | Grenzen der Arbeit | 58 |
| 5.5 | Ausblick | 58 |
| 6 | Zusammenfassung | 60 |
| 7 | Thesen | 61 |
| 8 | Literaturverzeichnis | 62 |
| 9 | Anhang | 73 |
| 10 | Danksagungen | 75 |
| 11 | Curriculum vitae | 76 |
| 12 | Eidesstattliche Erklärung | 77 |

II Abkürzungsverzeichnis

| | |
|-------------------|---|
| ADN | Autonome Diabetische Neuropathie |
| AF | Autofluoreszenz |
| AGE | Advanced Glycation Endproducts |
| ALL | Gesamte Retinadicke |
| CNCP | corneal nerve connection points (Nervale Bildrandberührungspunkte pro mm ²) |
| CNFB | corneal nerve fibre branching (Corneale Nervenfaserverzweigungen pro mm ²) |
| CNFD | corneal nerve fibre density (Anzahl der cornealen Nervenfasern pro mm ²) |
| CNFL | corneal nerve fibre length (Addierte corneale Nervenfasernlänge pro mm ²) |
| CNFT _h | corneal nerve fibre thickness (Corneale Nervenfaserdicke) |
| CNFT _o | corneal nerve fibre tortuosity (Corneale Nervenfaserverdrillung) |
| CGM | Continuous Glucose Monitoring |
| CLSM | Confocal Laser Scanning Microscopy (Konfokale Laser-Scanning Mikroskopie) |
| CSII | Continuous Subcutaneous Insulin Infusion |
| DCCT | Diabetes Control and Complications Trial |
| DDG | Deutsche Diabetes Gesellschaft |
| DR | Diabetische Retinopathie |
| DN | Diabetische Neuropathie |
| EDIC | Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications Study |
| EFL | Durchschnittliche corneale Einzelfaserlänge |
| ETDRS | Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Group |
| GCL | ganglion cell layer (Retinale Ganglienzellschicht) |
| HRT II/RCM | Heidelberg-Retina-Tomograph II / Rostock Cornea Module |
| I _A | Autofluoreszenz der Linse |
| I _{A/R} | Intensitätsverhältnis von Autofluoreszenz und Rayleigh Streuung |
| ICT | Intensified Conventional Therapy |
| INL | inner nuclear layer (Retinale innere Körnerschicht) |
| IOD | Intraokulärer Druck |

| | |
|------|--|
| IPL | inner plexiform layer (Retinale innere plexiforme Schicht) |
| IRL | inner retinal layer (Innere Retina) |
| kBGM | kapilläre Blutglukosemessung |
| MDI | Multiple Daily Injections |
| MODY | Maturity-onset of the young |
| NFF | Segmentierte corneale Nervenfaserverfläche |
| OCT | optical coherent tomography (Optische Kohärenztomographie) |
| ONL | outer nuclear layer (Retinale äußere Körnerschicht) |
| OPL | outer plexiform layer (Retinale äußere plexiforme Schicht) |
| ORL | outer retinal layer (Äußere Retina) |
| OVS | Oscillating Volume Scan |
| PNP | Periphere Sensomotorische Polyneuropathie |
| PRL | photoreceptor layer (Retinale Photorezeptorschicht) |
| RNFL | retinal nerve fibre layer (Retinale Nervenfaserschicht) |
| RPE | Retinales Pigmentepithel |
| SNP | Subbasaler Nervenplexus |
| T2DM | Typ-2 Diabetes mellitus |
| T1DM | Typ-1 Diabetes mellitus |
| VEGF | Vascular Endothelial Growth Factor |

III **Abbildungsverzeichnis**

| | | |
|----------|---|----|
| Abb. 1: | Fundusaufnahmen eines gesunden Auges mit Papille und Makula und Fundusaufnahmen eines Auges mit nicht-proliferativer DR mit Cotton-wool-Herden, Lipidexsudaten und intraretinalen Fleckblutungen. | 5 |
| Abb. 2: | Schematische Darstellung des Auges. | 7 |
| Abb. 3: | Schematische Darstellung des histologischen Aufbaus der Cornea mit dem subbasalen Nervenplexus. | 8 |
| Abb. 4: | Histologischer Aufbau der Retina mit Choroidea. | 11 |
| Abb. 5: | Exemplarische Scheimpflugaufnahme eines Auges in Mydriasis und Densitometrieanalyse der Scheimpflugaufnahme an Cornea und Linse. | 21 |
| Abb. 6: | Optisches System des Fluoreszenz-Biomikroskop ClearPath DS-120® zur Ermittlung der Autofluoreszenz der Linse. | 22 |
| Abb. 7: | Darstellung des Vorwärts- und Rückwärtsscans mit den jeweiligen Ergebnissen des Gesamtsignals, der Autofluoreszenz und des Intensitätsverhältnisses von Autofluoreszenz zu Rayleigh Streuung | 23 |
| Abb. 8: | Darstellung des gemessenen Intensitätsverhältnis von Autofluoreszenz zu Rayleigh Streuung eines 23-jährigen Kontrollprobanden in Abhängigkeit vom Alter. | 24 |
| Abb. 9: | CLSM-Aufnahmen des cornealen Epithels, des SNPs und des Stromas. | 25 |
| Abb. 10: | Retinales Querschnittsbild eines OCT-Scan als B-Scan und als Volume-Scan. | 27 |
| Abb. 11: | Mosaikbild des SNP eines T1DM-Patienten mit gekennzeichneten Morphologieparametern: Nervenfasernlänge, Nervenfaserverzweigungen, nervale Bildrandberührungspunkte und Nervenfaserdicke. | 30 |

| | | |
|----------|--|----|
| Abb. 12: | OCT-Scan einer gesunden rechten Retina mit Darstellung der einzelnen Retinaschichten und Veranschaulichung eines ET-DRS-Gitter mit der zentralen, perizentralen, peripheren Zone und den dazugehörigen superioren, nasalen, inferioren und temporalen Quadranten. | 32 |
| Abb.13: | Häufigkeiten der von T1DM-Patienten genutzten Methode zur Kontrolle der Blutglukose und der Therapieform. | 34 |
| Abb. 14: | Zusammenhang zwischen den aktuellen HbA _{1c} -Werten und dem Körpergewicht bei T1DM-Patienten. | 36 |
| Abb. 15: | Die an der Linse bestimmten Intensitätsverhältnisse von Autofluoreszenz und Rayleigh Streuung von Kontrollen und T1DM-Patienten, bei einem HbA _{1c} < 7,85% und > 7,85%, bzw. mit einer Erkrankungsdauer von < 7 Jahren und > 7 Jahren. | 39 |
| Abb. 16: | Vergleich quantitativer morphologischer Charakteristika des cornealen SNP zwischen T1DM-Patienten und Kontrollen mit segmentierter Nervenfaserverfläche, durchschnittlicher Einzelfaserlänge, addierter Nervenfaserverlänge, Nervenfaserdichte, Nervenfaserverzweigungen und nervalen Bildrandberührungspunkten. | 40 |
| Abb. 17: | Vergleich der NFF und CNFL von Kontrollen und T1DM-Patienten, bzw. von T1DM-Patienten mit einer Erkrankungsdauer von < 7 Jahren und > 7 Jahren. | 41 |
| Abb.18: | Zusammenhang zwischen cornealen Densitometrie und der Erkrankungsdauer von T1DM-Patienten. | 43 |
| Abb. 19: | Signifikante Assoziationen zwischen dem Alter und der reinen Autofluoreszenz und dem Intensitätsverhältnis von Autofluoreszenz und Rayleigh Streuung bei Kontrollen und T1DM-Patienten. | 44 |
| Abb. 20: | Vergleich der Korrelationen der Fluoreszenzparameter mit dem aktuellen HbA _{1c} und der Erkrankungsdauer innerhalb der Diabeteskohorte. | 45 |

- Abb. 21: Korrelationen der apikalen und minimalen Corneadicke mit der durch die CLSM erhobenen Dicke einzelner Nerven des SNP von Kontrollen im Vergleich zu den Daten von T1DM-Patienten. 46
- Abb. 22: Kontrollen mit einem höheren Anteil segmentierter Nervenfaserverfläche zeigten dünnere Schichtdicken der peripheren RPE, der perizentralen ORL und der peripheren ORL, sowie der perizentralen PRL und der peripheren PRL. 47
- Abb. 23: Zunehmende corneale Einzelfaserlängen gehen bei Kontrollen mit dickeren retinalen Schichten der perizentralen ORL, der peripheren ORL und der perizentralen PRL einher. 48
- Abb. 24: Bei Kontrollen ist sowohl eine zunehmende Nervenfaserdichte als auch eine zunehmende Nervenfaserverzweigung mit dünner werdenden Schichtdicken der perizentralen ORL und der peripheren ORL assoziiert. 49

IV Tabellenverzeichnis

| | | |
|----------|--|----|
| Tab. 1: | Stadieneinteilung der DR anhand von ophthalmoskopischen Untersuchungsbefunden. | 4 |
| Tab. 2: | Langzeitkomplikationen, Screeningintervalle und -methoden des T1DM. | 14 |
| Tab. 3: | Morphologische Parameter des SNP und dazugehörige Abkürzungen und Einheiten. | 29 |
| Tab. 4: | Anthropometrische und klinische Daten aller Probanden. | 35 |
| Tab. 5: | Intraokulärer Druck aller Probanden. | 37 |
| Tab. 6: | Vergleich der Corneatransparenz und -dicke von Kontrollen und Patienten. | 37 |
| Tab. 7: | Vergleich der Intensität der Autofluoreszenz, der Intensität der Rayleigh Streuung, des Intensitätsverhältnis von Autofluoreszenz und Rayleigh Streuung und der Verteilung normwertiger bzw. pathologischer Intensitätsverhältnisse von T1DM-Patienten und Kontrollen. | 38 |
| Tab. 8: | Vergleich der Nervenfaserdicke und -tortuosität von Kontrollen und T1DM-Patienten. | 39 |
| Tab. 9: | Design und Ergebnisse ausgewählter klinischer Studien zur Fluoreszenzmessungen an der Augenlinse von T1DM- und T2DM-Patienten. | 53 |
| Tab. 10: | Übersicht der OCT-Ergebnisse von Kontrollen und T1DM-Patienten. | 73 |

1 Einleitung

Der Typ-1 Diabetes Mellitus (T1DM) ist einer der häufigsten pädiatrischen chronischen Erkrankungen. Hier wird vor allem in der Phase des Übergangs von der Pädiatrie zur Erwachsenenmedizin häufig verdrängt, welche Bedeutung eine gute und stringente Einstellung des Blutzuckers für die Vermeidung akuter Komplikationen und die Prävention der Langzeitfolgen hat (Cheung et al. 2002, Cadario et al. 2009).

Sowohl an (kardio)-vaskulären Strukturen als auch am peripheren Nervensystem können sich diabetische Langzeitfolgen und deren Vorstufen manifestieren. Diabetesbedingte periphere Nervenschäden manifestieren sich auch im Auge zunächst unbemerkt. Deswegen bietet das Auge aufgrund seines strukturellen Aufbaus und der guten Zugänglichkeit die einmalige Gelegenheit, T1DM-assoziierte Veränderungen nicht-invasiv und frühzeitig zu erkennen. Als Teil einer interdisziplinären Querschnittsstudie befasst sich diese Arbeit anhand etablierter und experimenteller ophthalmologischer Untersuchungen mit einer umfassenden Analyse diabetesinduzierter Veränderungen des vorderen und hinteren Augenabschnittes bei Jugendlichen und jungen erwachsenen T1DM-Patienten relativ zu gesunden Kontrollen. Ein Vorteil des jungen Alters der Studienteilnehmer ist, dass alters- und lebensstilbedingte Einflussfaktoren nahezu vernachlässigbar klein sind, sodass die potenziell erfassten okulären Aberrationen in direktem Zusammenhang mit der Grunderkrankung gebracht werden können.

1.1 Der Diabetes Mellitus

Unter dem Begriff "Diabetes Mellitus" werden Erkrankungen zusammengefasst, die aufgrund verschiedenster Ätiologien durch eine chronische Hyperglykämie gekennzeichnet sind. Von dem durch Untergang der β -Zellen induzierten T1DM und dem durch eine periphere Insulinresistenz gekennzeichneten Typ-2 Diabetes Mellitus (T2DM) lassen sich unter anderem der Maturity-onset of the young (MODY), der mit einer Cystischen Fibrose assoziierte Diabetes und der Gestationsdiabetes (Typ-4 Diabetes Mellitus, T4DM) unterscheiden. Im Rahmen dieser Arbeit wurden nur Jugendliche und junge Erwachsene mit einem T1DM untersucht.

1.1.1 Typ-1 Diabetes Mellitus

Der T1DM ist eine autoimmune endokrinologische Erkrankung, die bereits im Kindes- und Jugendalter, bevorzugt zwischen dem 12. und 24. Lebensjahr, auftritt (Herold 2016). Mit geschätzten 30.000 T1DM-Patienten im Alter von 0-19 Jahren ist es die häufigste pädiatrische Stoffwechselerkrankung (Neu et al. 2018). Beängstigend ist zudem, dass die Inzidenzrate pro Jahr um ca. 3 % ansteigt und sich im Vergleich zu den frühen 1990er Jahren in der Altersgruppe der 0-14 Jährigen knapp verdoppelt hat (Bendas et al. 2015, Neu et al. 2018). Epidemiologische Daten legen nahe, dass die Diagnose, Therapie und Prävention der Akut- und Langzeitfolgen eines T1DM auch weiterhin einen hohen Stellenwert in der pädiatrischen Endokrinologie einnehmen muss.

Ursache des T1DM ist der durch cytotoxische T-Zellen vermittelte Untergang der pankreatischen β -Zellen mit konsekutivem Verlust der Insulinsekretion. Für die Glukoseaufnahme in Skelettmuskulatur und Fettgewebe sind zellmembranständige insulinabhängige Glukosetransporter (z.B.: GLUT-4) verantwortlich. Absoluter Insulinmangel und die damit fehlende Aktivität der zellulären Glukosetransporter führt zu einer extrazellulären Hyperglykämie, welche unbehandelt zum Tod führt. Daher ist eine lebenslange Insulinsubstitution bei T1DM-Patienten indiziert und unabdingbar (Heinrich et al. 2014, Herold 2016).

Die Diagnose eines T1DM ergibt sich aus der Zusammenschau von klinischen Symptomen und laborchemischen Befunden (u.a. Blutglukosespiegel und Kontrolle des C-Peptids). Nach Stellung der Diagnose sollte unverzüglich mit einer individualisierten Insulintherapie (Intensified Conventional Therapy, ICT) begonnen werden. Insulin kann mehrfach täglich mit einem Insulinpen (Multiple Daily Injections, MDI) oder kontinuierlich über eine Pumpe (Continuous Subcutaneous Insulin Infusion, CSII) in das subkutane Fettgewebe appliziert werden. Bei der MDI wird der Basisbedarf durch ein langwirksames Verzögerungsinsulin (bis zu 2x/d) abgedeckt. Zusätzlich werden nach Bedarf und unter Berücksichtigung von Ernährung und körperlicher Betätigung variierende Dosen eines kurzwirksamen Insulins injiziert. Durch die Insulinpumpe werden über einen Katheter in regelmäßigen Abständen kleine Dosen eines kurzwirksamen Insulins als Grundbedarf in das subkutane Fettgewebe abgegeben und nach Bedarf durch zusätzliche Dosen ergänzt. (Hien und Böhm 2007, Jeitler et al. 2008).

Um den Stoffwechsel optimal einzustellen, sind regelmäßige Bestimmungen der Blutglukosekonzentration unerlässlich. Neben den von Patienten durchgeführten punktuellen Messungen aus Kapillarblut ermöglicht das kontinuierliche Blutglukosemonitoring (Continuous Glucose Monitoring, CGM) einen detaillierteren Überblick. Zur Kontrolle der Blutglukoseeinstellung über einen längeren Zeitraum ist die Konzentration des glykierten Hämoglobins (HbA_{1c}) ein etablierter Marker. Die Konzentration des HbA_{1c} bildet den durchschnittlichen Blutglukosegehalt der letzten 2-3 Monate ab und sollte bei optimaler Einstellung unter 7,5% liegen (Haak et al. 2018).

Laut der Deutschen Diabetes Gesellschaft (DDG) können durch eine interdisziplinäre Behandlung inklusive strikter Insulintherapie, regelmäßigen Blutzuckerkontrollen, Schulungen und psychosozialer Betreuung "... akute Stoffwechsellentgleisungen, diabetesbedingte mikro- und makrovaskuläre Folgeerkrankungen vermieden sowie eine normale körperliche Entwicklung (Längenwachstum, Gewichtszunahme, Pubertätsbeginn) erreicht werden" (Neu et al. 2018).

1.1.2 Komplikationen und Langzeitfolgen des Typ-1 Diabetes Mellitus

Neben akuten Stoffwechsellentgleisungen sind vor allem nervale und vaskuläre Schäden und die damit assoziierte Morbidität und Mortalität gefürchtet. Wesentliche Ursache diabetesassoziierter Schädigung ist vermutlich die Aktivierung alternativer Stoffwechselwege mit konsekutiv erhöhtem oxidativen Stress als Folge lang anhaltender Hyperglykämien und häufig wechselnder Phasen von Normo-, Hyper- und Hypoglykämie (Brownlee 2001, 2005, Barrett et al. 2017). Diabetesinduzierte Schäden entstehen schleichend, verlaufen über relativ lange Zeiträume subklinisch und werden in der Regel erst in fortgeschrittenen und dann bereits irreversiblen Stadien diagnostiziert. Da das Risiko für diabetische Folgeerkrankungen mit der Erkrankungsdauer und der Güte der Stoffwechsellentstellung steigt, können T1DM-Patienten bereits als junge Erwachsene unter diabetischen Folgeerkrankungen leiden (DCCT Research Group 1993, Danne et al. 1998, Hürter und Danne 2005, Albers et al. 2010, Grehn 2012).

Bei den vaskulären Langzeitfolgen wird zwischen diabetischen Makro- und Mikroangiopathien unterschieden. Makroangiopathien äußern sich hauptsächlich durch die Ausbildung arteriosklerotischer Veränderungen an mittleren bis großen Gefäßen des kardiovaskulären Systems, des zentralen Nervensystems und der Peripherie. Diabetische Mikroangiopathien führen hauptsächlich zu

Veränderungen kapillarer Endstromgebiete der Niere, des Nervensystems und des Auges (Müller und Eppinger 2016).

1.1.2.1 Die diabetische Retinopathie

Die diabetische Retinopathie (DR) ist nicht nur die häufigste diabetesassoziierte Folgeerkrankung, sondern gleichzeitig auch die häufigste Erblindungsursache in der arbeitenden Bevölkerung und kann bereits im Jugendalter auftreten (Grehn 2012). Eingeteilt in eine nicht-proliferative und proliferative Form kommt es bei der DR durch vermehrten oxidativen Stress zu einer Schädigung der Blut-Retina-Schranke mit Mikrozirkulationsstörungen (Tab. 1). Häufig wird die DR erst in fortgeschrittenen Stadien und bei Befall der Makula in Form einer Diabetischen Makulopathie verbunden mit Visuseinschränkungen symptomatisch.

Tab. 1: Stadieneinteilung der DR anhand von ophthalmoskopischen Untersuchungsbefunden. Modifiziert nach (AWMF-Leitlinie 2015)

| Stadieneinteilung DR | Befunde der Funduskopie |
|--------------------------------------|---|
| Nicht-proliferative DR Milde Form | Einzelne Mikroaneurysmen |
| Mäßige Form | Mikroaneurysmen; intraretinale Blutungen; beginnende Exsudate |
| Schwere Form | mehr als 20 Mikroaneurysmen und intrare- tinale Blutungen in jedem der vier Quadran- ten; perlschnurartige Venen in min. zwei Quadranten; intraretinale mikrovaskuläre Anomalien in min. einem Quadranten |
| Proliferative DR | Sichtbare Neovaskularisationen |
| Diabetische Makulopathie | Ödembildung der Makula durch Permeabili- tätsstörung u./o. Kapillaroklusion perimaku- lärer Gefäße |

Im Rahmen der nicht-proliferativen DR zeigen sich initial in den retinalen Blutgefäßen neben einer Basalmembranverdickung auch der Verlust von Pericyten,

Endothelzellen und glatter Muskulatur. Im Verlauf können, unter Ausbildung von Mikroaneurysmen und Kapillarverschlüssen, intraretinale Blutungen und Mikroinfarkte entstehen. Blutungen und ischämische Areale ("Cotton-Wool-Herde") aber auch Exsudate lassen sich durch die Funduskopie am Augenhintergrund darstellen (Abb. 1). Die proliferative DR ist durch eine okuläre Neovaskularisation gekennzeichnet. Die neu entstandenen und sehr fragilen Gefäße können rupturieren und zu ausgedehnten Retina- und Glaskörperblutungen führen. Narbige Verheilungen bergen das Risiko traktiver Retinaablösungen mit erheblichen Visusverschlechterungen bis hin zum Visusverlust. .



Abb. 1: **A:** Fundusaufnahmen eines gesunden Auges mit Papille (1) und Makula (2); **B:** Fundusaufnahmen eines Auges mit nicht-proliferativer DR mit Cotton-wool-Herden (1), Lipidexsudaten (2) und intraretinalen Fleckblutungen (3). Modifiziert nach (Grehn 2012).

Aufgrund der funktionellen intraretinalen Kopplung von vaskulären und neuronalen Strukturen kommt es bereits vor sichtbaren vaskulären Läsionen zu einer Neurodegeneration (Barber et al. 1998, Fletcher et al. 2005, van Dijk et al. 2009). Dennoch wird die DR definitionsgemäß als reine Mikrozirkulationsstörung angesehen und die Vorsorgeuntersuchungen konzentrieren sich bislang auf die Detektion vaskulärer Pathologien durch die Funduskopie (Neu et al. 2018).

1.1.2.2 Die diabetische Neuropathie

Ähnlich wie bei der DR ist die Pathogenese der diabetischen Neuropathie (DN) nicht endgültig geklärt. Eine durch Mikrozirkulationsstörung bedingte Ischämie und die pathologisch vermehrte Glykierung von Proteinen (Advanced Glycation End Products, AGE) führen sowohl zu axonaler Atrophie als auch zu neuronaler Apoptose und progressiven Demyelinisierung (Brownlee 2001, 2005, Barrett et al. 2017). Hauptsächlich eingeteilt in die periphere sensomotorische Polyneuropathie (PNP) und die autonome diabetische Neuropathie (ADN) sind auch die deutlich seltener auftretende diabetische Schwerepunktneuropathie und die diabetische Radikulopathie zu nennen (Hürter und Danne 2005, Herold 2016).

Bei der PNP kommt es zu symmetrisch, distal betonten sensomotorischen Ausfällen wie Parästhesien, Areflexie, Muskelkrämpfen und neuropathischen Schmerzen, die sich im Verlauf nach proximal ausbreiten. Diese Dysfunktionen können konsekutiv zu weiteren diabetestypischen Komplikationen wie z.B. einem diabetischen Fußsyndrom führen. Im Gegensatz dazu betrifft die ADN das vegetative Nervensystem und manifestiert sich vorwiegend multilokal und an verschiedenen Organsystemen, wobei der Befall des kardiovaskulären Systems am stärksten gefürchtet wird, da hier durch "stumme Infarkte" ein erhöhtes Mortalitätsrisiko besteht (Herold 2016, Kallinikou et al. 2019).

Analog zur DR verläuft die DN lange asymptomatisch und ihr Auftreten ist nicht nur von der Güte der Stoffwechseleinstellung sondern auch von der Erkrankungsdauer und dem Lebensalter abhängig. Obwohl bei Kindern und Jugendlichen eine klinisch relevante DN selten ist, können bereits subklinische neuropathische Veränderungen vorliegen. Diese werden durch die derzeit angebotenen Vorsorgeuntersuchungen für pädiatrische T1DM-Patienten jedoch nicht erfasst (Hürter und Danne 2005, Lee et al. 2010, Kallinikou et al. 2019).

1.2 Das Auge als Zielorgan diabetesassoziierter Veränderungen und Komorbiditäten

Chronische Systemerkrankungen, wie der T1DM, wirken sich auf die Konfiguration nahezu aller Organsysteme durch die Aktivierung alternativer Stoffwechselwege aus. Da gerade die Integrität und Funktion von neuralen Strukturen durch einen T1DM gefährdet und diese im Auge direkt und nichtinvasiv darstellbar sind, ist das Auge für eine frühzeitige Detektion diabetesassoziierter Veränderungen prädestiniert.

Diese diabetesinduzierten Aberrationen lassen sich nahezu an jedem Kompartiment des Auges nachweisen (Negi und Vernon 2003, Luty 2013). Die vorliegende Arbeit konzentriert sich auf Veränderungen an Cornea, Linse und Retina.

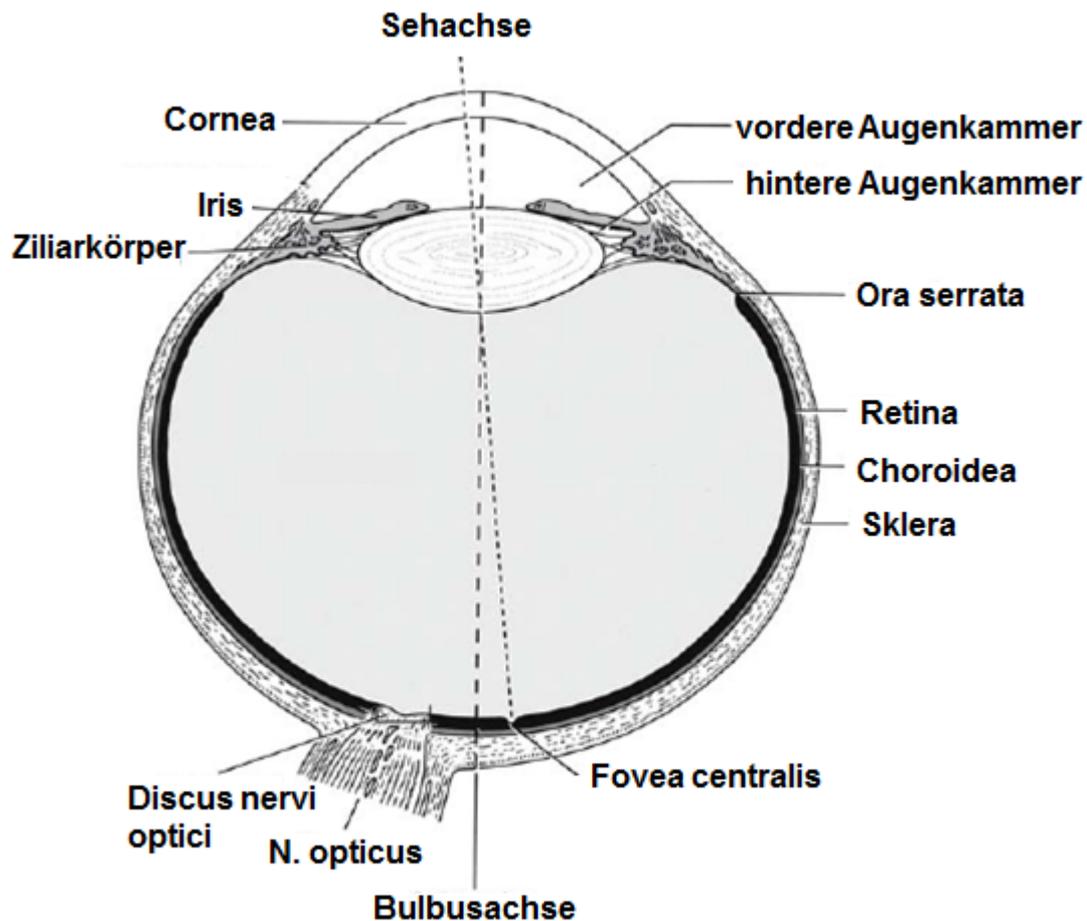


Abb. 2: Schematische Darstellung des Auges. Angepasst nach (Schiebler 2005).

1.2.1 Diabetesbedingte Veränderungen der Cornea

Die Cornea besteht aus Epithel, Stroma und Endothel und zeichnet sich durch eine hohe Transparenz, dichte Innervation und ihre exponierte Lage aus. Neben protektiven Eigenschaften trägt sie entscheidend zur Brechkraft des Auges bei. Der histologische Aufbau ist schematisch in Abb. 3 dargestellt.

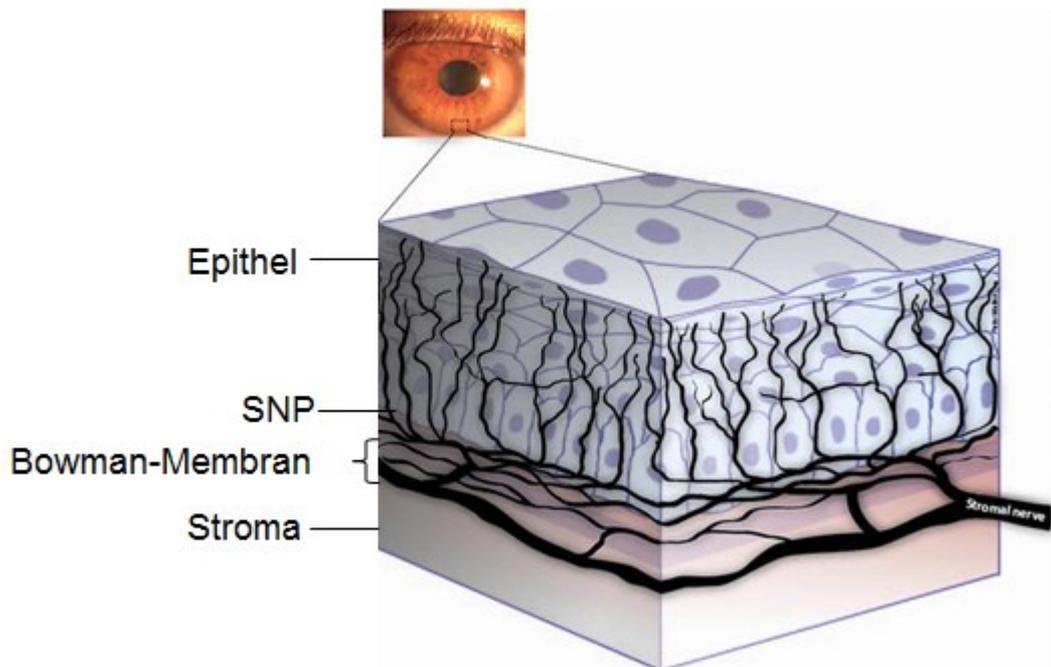


Abb. 3: Schematische Darstellung des histologischen Aufbaus der Cornea mit dem subbasalen Nervenplexus (SNP). Angepasst nach (Cruzat et al. 2017).

Nur durch den Tränenfilm geschützt, steht das Epithel als äußerste Schicht in direktem Kontakt zur Umwelt. Es zeichnet sich durch seine Robustheit und die Fähigkeit zur raschen Regeneration nach Schädigung aus. An das Epithel angrenzend trennt die Bowman-Membran dieses vom Stroma. Als nicht vaskularisiertes Gewebe besteht das Stroma zum Großteil aus extrazellulärer Matrix mit Proteoglykanen, parallel angeordneten Kollagenfibrillen und Wasser. Die Abstände der parallel angeordneten Kollagenfibrillen werden durch die Glykosaminoglykanketten der cornealen Proteoglykane festgelegt und sorgen für die hohe Transparenz und Brechkraft der Cornea. Für die Aufrechterhaltung der cornealen Transparenz ist neben dem strukturellen Aufbau des Stromas auch dessen konstanter Wassergehalt wichtig. Diese Funktion wird vom Endothel übernommen, welches als innerste Schicht mit der Descementmembran an das

Stroma grenzt. Im Sinne eines Pumpmechanismus sorgt es durch Elektrolyt- und konsekutivem Wassertransport aus dem Stroma in die Vorderkammer für eine Wasserelimination und gewährleistet somit den konstanten Wassergehalt des Stromas und die Aufrechterhaltung der cornealen Transparenz (Welsch et al. 2018). Diabetesbedingt kann es zu ultrastrukturellen Veränderungen einzelner Corneabestandteile und Abänderungen physiologischer Mechanismen kommen, die wiederum Auswirkung auf die corneale Dicke und / oder deren Transparenz haben (Busted et al. 1981, McNamara et al. 1998, Rehany et al. 2000).

Die Cornea wird durch Diffusion der Nährstoffe aus Kammerwasser Endothel seitig und Tränenflüssigkeit Epithel seitig versorgt (Müller et al. 1997, Grehn 2012). Mit geschätzten 7000 freien Nervenendigungen ist die Cornea eines der am stärksten innervierten Gewebe des menschlichen Körpers (Cruzat et al. 2017). Nervenfasern des 1. Trigeminusastes treten über die Nn. ciliares longi in die Cornea ein und ziehen durch das Stroma. Im weiteren Verlauf durchbrechen sie die Bowmanmembran und bilden direkt unterhalb der basalen Epithelzellen den subbasalen Nervenplexus (SNP) (Abb. 3). Zusätzlich enden weitere, kleine Nervenfasern frei zwischen den Epithelzellen und tragen so ebenfalls zur hohen Sensibilität der Cornea bei (Müller et al. 2003, Grehn 2012, Schünke et al. 2012).

Ein abnormaler Glukosemetabolismus und die mit einer diabetischen Neuropathie einhergehenden Veränderungen des peripheren Nervensystems wirken sich auch auf die Konfiguration der Nervenfasern des SNP aus (Rehany et al. 2000, Malik et al. 2003, De Clerck et al. 2015). Wir konnten bereits zeigen, dass morphologische Veränderungen des SNP auch bei pädiatrischen T1DM-Patienten zu erkennen sind (von Keyserlingk 2016). Bei fortschreitender nervaler Degeneration kann es zu einem Verlust der cornealen Innervation und Sensibilität mit resultierenden zellulären Defekten und verzögerter Epithelregeneration kommen (Neurotrophe Keratopathie) (Grehn 2012, Luttj 2013, Shih et al. 2017).

1.2.2 Diabetesbedingte Veränderungen der Linse

Die ebenfalls transparente und zudem elastische Linse trägt durch Veränderung der Brechkraft zur Akkommodation bei. Kapsel, Rinde und Kern der Linse bestehen hauptsächlich aus Linsenproteinen, Wasser und einreihigem Linsenepithel. Die physiologische Alterung führt über eine abnehmende Linsenelastizität zum Verlust der Akkommodation (Presbyopie), während die Akkumulation des Alterspigmentes im Linsenkern die Transparenz mindert und ggf. zu einem senilen Cataract führt (Harding und Dilley 1976, Grehn 2012).

Glukose führt als osmotisch wirksames Teilchen bei Hyperglykämie zu einer Erhöhung des osmotischen Drucks und konsekutivem Zustrom von Wasser, um diesen bzw. die Glukosekonzentration zu senken. Hyperglykämien können auch zu erhöhten Glukosekonzentrationen in der Linse führen, sodass extreme glykämische Fluktuationen mit Schwankungen des osmotischen Drucks innerhalb der Linse einhergehen können. Diese Druckschwankungen können zu Schwellungen und damit zu reversiblen Akkommodationsstörungen mit Visuseinschränkungen führen (Bron et al. 1993). Rezidivierende Schwankungen des osmotischen Druckes können in der Linse in Kombination mit der vermehrten Bildung von Advanced Glycation Endproducts (AGE) zu einer Störung des Linsenepithels bis hin zur Ausbildung eines diabetischen Cataracts führen. Diese Pathologien können bereits bei jungen T1DM-Patienten für erhebliche Visuseinschränkungen verantwortlich sein (Klein et al. 1985, Rohrbach et al. 2008).

Eine weitere Eigenschaft der Linse ist ihre Fähigkeit zur Autofluoreszenz, welche sich größtenteils auf die altersbedingte Akkumulation von AGEs zurückführen lässt. Im menschlichen Organismus werden auch bei Normoglykämie freie Aminosäureketten von Proteinen nichtenzymatisch glykiert und damit irreversibel in ihrer Struktur und/oder Funktion beeinträchtigt. Diese Reaktion findet in nahezu jedem Kompartiment des Organismus statt und betrifft zahlreiche Proteine (Thorpe und Baynes 2003). Die durch nicht-enzymatische Glykierung gebildeten Proteine werden als Advanced Glycation Endproducts (AGEs) zusammengefasst. AGEs werden für zahlreiche morphologische und letztlich auch funktionelle Veränderungen und Pathologien, z.B. der Gefäßwände, verantwortlich gemacht (Brownlee 2001, 2005). Die biologische Halbwertszeit der AGEs ist organspezifisch, um eine ausgeprägte Akkumulation zu verhindern sind die meisten Proteine jedoch eher kurzlebig. Da allerdings die Halbwertszeit der Lin-

senproteine sehr lang ist, kommt es dort mit zunehmenden Alter zu einer physiologischen Akkumulation (Garlick et al. 1984, Occhipinti et al. 1986). Der Entstehungsprozess und die Akkumulation ist nicht nur physiologisch vom Alter, sondern auch pathologisch von hyperglykämischen Stoffwechsellagen, wie sie bei einem T1DM vorliegen, abhängig. Ein gestörter Glukosemetabolismus und die damit einhergehende vermehrte Produktion und Akkumulation von AGEs führt zu einer vermehrten Autofluoreszenz der Linse (Bleeker et al. 1986, Sparrow et al. 1992, Cahn et al. 2014).

1.2.3 Diabetesbedingte Veränderungen der Retina

Hauptaufgabe der Retina ist es, sichtbares Licht in ein neuronales Signal zu übersetzen. Daher besteht die Retina zu 95% aus komplex vernetztem neuronalem Gewebe und Neuronen (Gardner et al. 2011). Die einzelnen Bestandteile der Neurone können histologisch unterschiedlichen Schichten zugeordnet werden (Abb. 4)

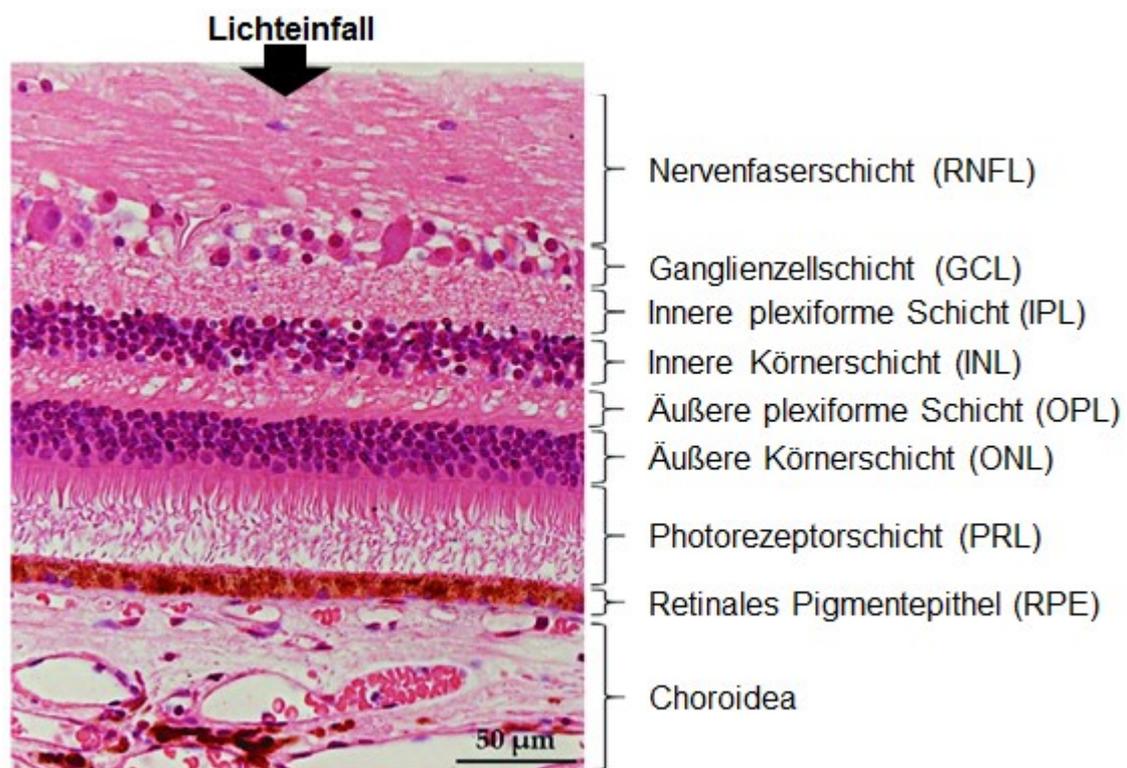


Abb. 4: Histologischer Aufbau der Retina mit Choroidea. Angepasst nach (Ding et al. 2017).

Als primäre Sinneszellen und erstes Neuron der Sehnervenbahn verwandeln die Stäbchen und Zapfen der Photorezeptorzellen Licht in elektrische Aktionspotenziale. Diese Signale werden über die bipolaren Ganglienzellen (zweites Neuron der Sehnervenbahn) an die weiter innen liegenden multipolaren Ganglienzellen (drittes Neuron der Sehnervenbahn) weitergeleitet. Die zusammenlaufenden und gebündelten Gliazellaxone ziehen zur Papille und bilden im weiteren Verlauf den Nervus opticus (Schünke et al. 2012, Trepel 2017). Sowohl makroskopisch als auch mikroskopisch lassen sich bestimmte Lokalisationen von dem typischen retinalen Schichtaufbau abgrenzen.

Die als blinder Fleck bezeichnete Papille enthält keine Photorezeptoren und ist daher nicht an der Reizwahrnehmung beteiligt. Sie dient ausschließlich als Ein- bzw. Austrittspunkt für vaskuläre (A. und V. centralis retinae) bzw. nervale Strukturen (Gliazellaxone). Im Gegensatz dazu ist die Fovea centralis der Ort des schärfsten Sehens. Sie zeichnet sich durch eine neuronale eins-zu-eins Verknüpfung und das Fehlen potenziell lichtabsorbierender Strukturen (wie z.B. Bindegewebe und Blutgefäße) aus. Die Isolierung der für die Reizweiterleitung wichtigen Strukturen führt zu einem dünnen, trichterförmigen Aufbau und ermöglicht eine optimale Reizauflösung (Welsch et al. 2018).

Um diese komplexen und energieintensiven Prozesse zu gewährleisten, hat die Retina einen hohen Sauerstoffumsatz und wird durch zwei unterschiedliche Systeme versorgt. Der, bezogen auf die retinale Gesamtmasse, relativ kleine Anteil des intraretinalen vaskulären Gewebes entsteht aus den Hauptästen der A. centralis retinae. Diese sind für die Versorgung der inneren Retinaschichten inklusive der inneren Körnerschicht verantwortlich, während die Versorgung der äußeren Retinaschichten durch Diffusion aus Blutgefäßen der angrenzenden Aderhaut gewährleistet wird (Kolb et al. 2012).

Bereits vor dem Auftreten vaskulärer Veränderungen wie z.B. Leckage oder Cotton-Wool-Herden, können diabetesassoziierte neurodegenerative Veränderungen an der Retina beobachtet werden (Fletcher et al. 2005). Dazu zählen neben neuronaler Apoptose eine Ausdünnung der inneren Retina, insbesondere der Ganglienzell- und Nervenfaserschicht (Barber et al. 1998, El-Fayoumi et al. 2016, Götze et al. 2018, Tekin et al. 2018).

1.2.4 Diabetesbedingte Veränderungen weiterer ophthalmologischer Strukturen

Eine diabetesbedingte neurovaskuläre Schädigung kann zu weiteren, jedoch selteneren ophthalmologischen Komplikationen und Erkrankungen führen. So können z.B. eine verminderte Tränendrüsenaktivität oder eine Lähmung der Augenmuskulatur neuronaler Genese sein (Grehn 2012). Durch eine hyperglykämieinduzierte retinale Ausschüttung von Wachstumsfaktoren wie z.B. dem Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) kann es auch in Glaskörper, Vorderkammer und Iris zu Neovaskularisationen kommen. Okuläre Neovaskularisationen können neben Glaskörper- und Vorderkammerblutungen zu Sekundärglaukomen bei Verlegung des Kammerwinkels führen (Gartner und Henkind 1978).

1.3 Sekundärpräventive Maßnahmen für pädiatrische T1DM-Patienten

Als führende okuläre diabetesbedingte Komplikation ist die Retinopathie vielseitig untersucht und erforscht worden. Wie aus Tab. 2 hervorgeht werden jedoch weitere häufig auftretende ophthalmologische Veränderungen die ihrerseits auf neurologische Komplikationen hinweisen bei der Vorsorge bislang außer Acht gelassen. Dieses gilt nicht nur für die Untersuchung des SNP sondern betrifft auch die retinale Neurodegeneration, die zudem deutlich vor vaskulären Phänomenen entsteht. Erst bei Vorliegen sichtbarer vaskulärer Anomalien werden weitere diagnostische Schritte und Interventionen, wie z.B. die Spaltlampenuntersuchung des vorderen Augenabschnittes oder die OCT, empfohlen.

Tab. 2: Langzeitkomplikationen, Screeningintervalle und –methoden des T1DM.

| Mikrovaskuläre Langzeitkomplikation | Screeningintervall | Empfohlene Screeningmethode |
|--|--|--|
| Retinopathie | <ul style="list-style-type: none"> - Alle 1-2 Jahre - Ab dem 11. Lebensjahr oder ab 5 Jahren Diabetesdauer | Binokulare bimi- kroskopische Funduskopie in Mydriasis durch routinierten Augenarzt |
| Nephropathie | <ul style="list-style-type: none"> - Jährlich - Ab dem 11. Lebensjahr oder ab 5 Jahren Diabetesdauer | Nachweis einer Mikroalbuminurie (Konzentrationsmessung, Albumin-Exkretionsrate, Albumin-Kreatinin-Ratio) |
| Neuropathie | Bei langfristig schlechter Stoffwechsellage ab dem 11. Lebensjahr oder ab 5 Jahren Diabetesdauer | <ul style="list-style-type: none"> - Anamnese - Berührungsempfinden - Vibrationsempfinden - Eigenreflexe |

Neben der regelmäßigen Erhebung anthropometrischer Daten und laborchemischer Parameter (HbA_{1c}) empfiehlt die DDG regelmäßige, spezifische Screeninguntersuchungen diabetesbetroffener Organsysteme. Angepasst nach (Neu et al. 2018).

2 Ziel der Arbeit

Chronische Erkrankungen haben Auswirkungen auf nahezu jedes Organsystem. Der T1DM als chronisch metabolische Erkrankung geht mit einer lebenslangen erhöhten glykämischen Variabilität einher, welche sich vor allem in vasculären und neurologischen Veränderungen manifestiert. Neurovaskuläre Läsionen entwickeln sich kontinuierlich und werden meist erst in irreversiblen Krankheitsstadien symptomatisch. Daher ist es wichtig, strukturelle Schäden frühzeitig und in einem reversiblen Stadium zu erkennen, um Progression bis hin zu irreversiblen funktionellen Schäden zu vermeiden oder diese wenigstens hinaus zu zögern.

Zur Erfassung diabetesinduzierter struktureller Aberrationen bietet das Auge aufgrund seiner exponierten Lage und einem hohen Anteil an neurovaskulärem Gewebe optimale Voraussetzungen für nichtinvasive Untersuchungstechniken. Die corneale Densitometrie und Pachymetrie mit Hilfe der Scheimpflugphotographie sind geeignet, ultrastrukturelle Veränderungen der Cornea zu erfassen. Desweiteren kann durch die konfokale Laser-Scanning-Mikroskopie (CLSM) vergleichsweise einfach, nichtinvasiv und in vivo der corneale SNP dargestellt und hinsichtlich der Zahl, Länge und Orientierung der Nervenfasern auch quantitativ analysiert werden. Die Intensität der Linsenautofluoreszenz kann mit einem Fluoreszenzmikroskop nicht-invasiv erfasst werden und erlaubt schnelle Rückschlüsse auf den glykämischen Status der letzten Monate. Die optische Kohärenztomographie mit anschließender quantitativer Bestimmung der Dicke der subretinalen Schichten ist ein Verfahren, Veränderungen der Retina objektiv zu beurteilen.

Die Untersuchung Jugendlicher und junger Erwachsener bietet den Vorteil, dass alters- bzw. lebensstilbedingte Komorbiditäten eine untergeordnete Rolle spielen, sodass eventuell vorhandene okuläre Aberrationen in einen direkten Zusammenhang mit der Grunderkrankung gebracht werden können.

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit den folgenden Fragestellungen:

1. Lassen sich bereits diabetesinduzierte ophthalmologische Veränderungen an Jugendlichen und jungen Erwachsenen mit einem T1DM relativ zu den Befunden gesunder Kontrollen feststellen?
2. Sind die erfassten Veränderungen mit bestimmten krankheitsspezifischen Parametern assoziiert?
3. Eignen sich die gewählten Verfahren als potenzielle Screeningmethoden im Rahmen der Sekundärprävention?

3 Material und Methoden

3.1 Studiendesign

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit den ophthalmologischen Aspekten im Rahmen einer interdisziplinären, klinisch-experimentellen Querschnittstudie. Die Studie wurde in Übereinstimmung mit der Deklaration von Helsinki durchgeführt und der Ethikkommission der Universitätsmedizin Rostock angezeigt (AZ: A 2016-0044). Gezielte klinisch-experimentelle Untersuchungen sollten zeigen, ob bei Jugendlichen bzw. jungen Erwachsenen bereits T1DM-assoziierte Veränderungen vorliegen.

Einschlusskriterien für Kontrollen und T1DM-Patienten:

- Aktuelles Alter 14-26 Jahre

Weitere Einschlusskriterien für T1DM-Patienten:

- Insulinpflichtiger T1DM
- Diagnose vor dem 18. Lebensjahr
- C-Peptid <0,3 nmol
- stabiles therapeutisches Regime seit mindestens 6 Monaten mit intensiver Insulintherapie (entweder durch MDI oder CSII)

Ausschlusskriterien aller Studienteilnehmer:

- Akute oder chronische Infektionen
- Tumorerkrankung während der vergangenen 5 Jahre
- Schwangerschaft
- Epilepsie
- nicht-Diabetes-assoziierte neuropathische oder ophthalmologische Erkrankungen
- Entzündungen, Traumata und/oder Operationen des Auges in den letzten 6 Monaten vor Studienuntersuchung
- Fehlende Einwilligung zur Studienteilnahme

3.1.1 Rekrutierung und Studiendurchführung

In der endokrinologischen Ambulanz der Kinder- und Jugendklinik der Universitätsmedizin Rostock wurden geeignete T1DM Patienten durch Akteneinsicht identifiziert und schriftlich zur Teilnahme eingeladen. Bei Interesse folgten ein informatives Telefongespräch und die Terminabsprache. Zusätzlich wurden Patienten und gleichaltrige Kontrollen über private Kontakte und einen Aufruf über den Mailverteiler der Universität Rostock über die Studie informiert und zur Teilnahme eingeladen.

Um an der Studie teilzunehmen, mussten Probanden und/oder ihre Erziehungsberechtigten ihr schriftliches Einverständnis erklären. Zudem erhielten alle Probanden eine Aufwandsentschädigung. Probanden konnten auch an der Studie teilnehmen, wenn sie eine der geplanten, studienspezifischen Untersuchungen ablehnten oder bestimmte Untersuchungen, aufgrund von fehlender Compliance, nicht durchführbar waren.

Initial wurden bei allen Teilnehmern neben einer ausführlichen Anamnese, ein körperlicher Untersuchungsbefund (inkl. Blutdruckmessung, Gewicht und Größe, Stimmgabeltest, Körperzusammensetzung mittels Bio-Impedanz), eine Blutentnahme und weitergehende Untersuchungen (sonografische Charakterisierung der Gefäßmorphologie und Charakterisierung des muskuloskelettalen Status an Radius und Tibia) im Zentrum für Innere Medizin der Universitätsmedizin Rostock durchgeführt. Anschließend fanden zu individuell vereinbarten Terminen die ophthalmologischen Studienuntersuchungen in der Augenklinik der Universitätsmedizin Rostock statt. Diese erforderten einen Zeitaufwand von insgesamt ca. einer Stunde. Hierbei wurde zunächst ein allgemeiner ophthalmologischer Status erhoben und anschließend sowohl der vordere Augenabschnitt (inkl. konfokaler Laser-Scanning Mikroskopie (CLSM), Scheimpflugfotographie der Cornea und Autofluoreszenzmessung der Linse), als auch der hintere Augenabschnitt (Optische Kohärenztomographie (OCT)), eigenständig unter Supervision eines Facharztes untersucht.

3.2 Klinische Daten

In einem Anamnesegespräch und mit einem Fragebogen wurden alle klinischen Daten erfasst. Körpergröße und -gewicht der Probanden wurden mit einem geeichtem Stadiometer mit integrierter elektronischer Waage (Seca 285, Schubert Medizinprodukte GmbH & Co. KG, Wackersdorf) ermittelt. Der Gelegenheitsblutdruck wurde nach Riva-Rocci gemessen. Alle alters- und geschlechtsabhängigen Z-Scores für Größe, Gewicht und BMI wurden mit einem im Internet verfügbaren Algorithmus anhand der von Kromeyer-Hauschild publizierten Daten berechnet (Kromeyer-Hauschild et al. 2001). Die standardisierten Z-Scores der Blutdruckwerte wurden mithilfe der Leitlinie der National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Children and Adolescents berechnet (National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Children and Adolescents 2004).

3.3 Ophthalmologischer Status

Alle ophthalmologischen Untersuchungen wurden nach erfolgreicher Anleitung und Einarbeitung durch erfahrene Augenärzte selbstständig durchgeführt und bei auffälligen Befunden mit einem erfahrenen Ophthalmologen besprochen. Nach einer allgemeinen ophthalmologischen Untersuchung, erfolgte eine Refraktionsmessung (Nidek ARK 560A; OCULUS Optikgeräte GmbH, Wetzlar, Deutschland), eine Visusbestimmung, eine Augeninnendruckmessung (Icare[®] Tonometers TAO1i, Finnland) und eine cornealen Ästhesiometrie mit einem Cochet-Bonnet Ästhesiometers (Luneau Ophtalmology, Frankreich). Es folgten spezifische Untersuchungen des vorderen und hinteren Augenabschnitts. Hierbei handelte es sich im Detail um Scheimpflugaufnahmen zur Erfassung der cornealen Dicke und Transparenz (Pentacam[®] HR; OCULUS Optikgeräte GmbH, Wetzlar, Deutschland), die konfokale Laser-Scanning Mikroskopie zur Charakterisierung des cornealen subbasalen Nervenplexus (HRTII+RCM; Heidelberg Engineering GmbH, Heidelberg, Deutschland), die Autofluoreszenzmessungen der Linse (ClearPath DS-120[®] Fluoreszenz-Biomikroskop, Freedom Meditech, Inc., San Diego, California, USA) sowie die Optische Kohärenztomographie zur Analyse der Retina (Spectralis; Heidelberg Engineering GmbH, Heidelberg, Deutschland).

3.4 Diagnostische Methoden

3.4.1 Scheimpflugphotographie der Cornea

Für eine qualitative Darstellung des vorderen Augenabschnittes und hier insbesondere der Cornea wurde die Pentacam HR in der Scheimpflugkonfiguration eingesetzt.

Die Scheimpflugkonfiguration der Pentacam ermöglicht durch Kippen der Film-/Sensorebene Gegenstände, die sich in verschiedenen Abständen und Neigungswinkeln zur Kamera befinden, mit der größtmöglichen Schärfe und minimaler Verzerrung abzubilden (Wegener und Laser-Junga 2009). Dadurch können Cornea, Vorderkammer inkl. Kammerwinkel und Linse gleichzeitig in einem hochauflösenden Bild dargestellt werden und die unterschiedlichen Strukturen anschließend computergestützt ausgewertet und spezielle Parameter wie z.B. die Hornhautdicke (Pachymetrie) oder die Transparenz der Cornea oder Linse (Densitometrie) ermittelt werden. In der Augenheilkunde wird diese Untersuchungsmethode v.a. in der Beurteilung und Verlaufskontrollen von Katarakten oder Hornhautaberrationen (z.B. Keratokonus) eingesetzt.

Die fest installierte Einheit aus Spaltbeleuchtung und scheimpflugkonfigurierter Kamera rotiert vor dem Auge um 360° herum und erstellt somit bis zu 50 Segmentaufnahmen. Durch Grenzflächen und Transparenzunterschiede zwischen Cornea, Vorderkammer und Linse kommt es zur Streuung und Reflexion des Lichts, welches detektiert, korrigiert und anschließend in Form von Schnittbildern des vorderen Augenabschnittes (Abb. 5) dargestellt werden kann. Voraussetzungen für die optimale Bildaufnahme waren konstante Lichtverhältnisse und eine ideale Ausrichtung des Patienten. Die Untersuchungen dauerten insgesamt 5-10 Minuten und wurden bilateral durchgeführt. Die quantitative Bildauswertung wurde nach der Speicherung extern durchgeführt.

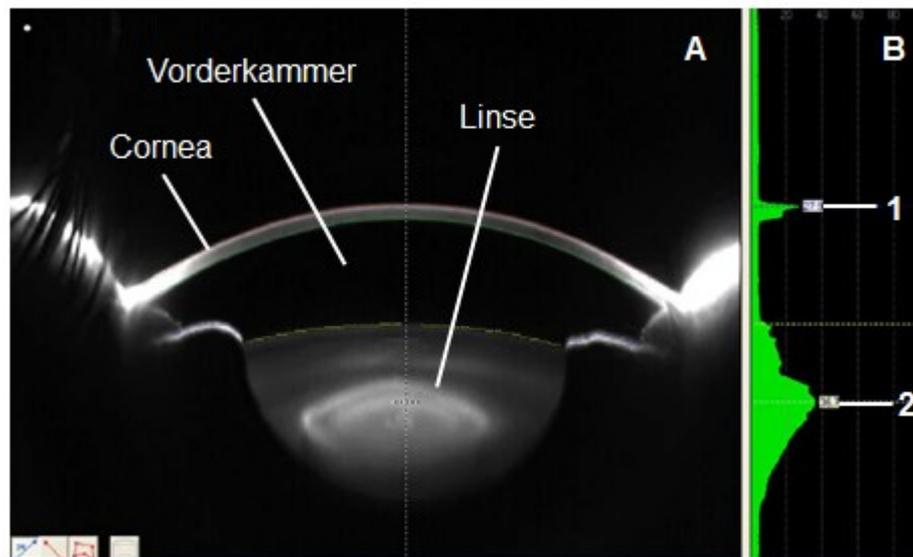


Abb. 5: **A:** Exemplarische Scheimpflugaufnahme eines Auges in Mydriasis; **B:** Densitometrieanalyse der Scheimpflugaufnahme an Cornea (1) und Linse (2). Modifiziert nach (OCULUS Optikgeräte GmbH 2018).

3.4.2 Autofluoreszenzmessung der Linse

Zu diesem Zweck wurde das ClearPath DS-120[®] Fluoreszenz-Biomikroskop benutzt. Die Messung dauerte ca. 6-8 s und wurde bei allen Probanden unilateral durchgeführt.

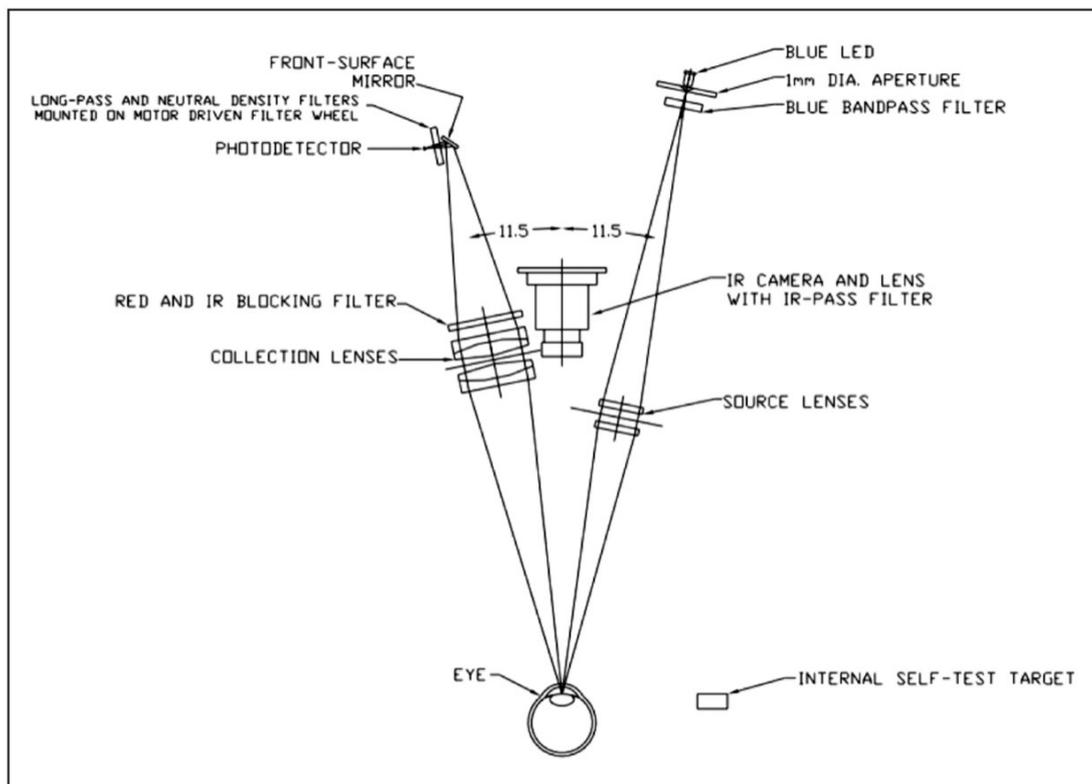


Abb. 6: Optisches System des Fluoreszenz-Biomikroskop ClearPath DS-120[®] zur Ermittlung der Autofluoreszenz der Linse nach (Freedom Meditech 2014).

Softwaregesteuert und unter der Verwendung konfokaler Beleuchtungsoptik wird der Fokus der blauen Anregungslichtquelle (465nm; mit anschließendem Bandbreitenfilter 430 - 470nm) direkt hinter der posterioren Linsenkapsel positioniert. Im Anschluss wird dieser in Schritten von 0,31mm durch die Linse, von hinten nach vorne, bis in das Kammerwasser und wieder zurück gescannt. Die dadurch angeregten und reichgestreuten Spektren werden durch eine zusätzliche konfokale Sammeloptik auf den Photodetektor fokussiert. Dem Detektor vorgeschaltete Langpass- und Neutralfilter dienen dazu, zwischen Rayleigh-gestreutem und fluoresziertem Licht zu unterscheiden. Die sowohl beim Vorwärts-, als auch Rückwärtsscan gemessenen Intensitäten werden automatisch

analysiert und graphisch dargestellt. Aus diesen Berechnungen ergeben sich pro Proband folgende drei Werte:

- das Gesamtsignal inklusive Rayleigh gestreutem Licht (I_{Rayleigh})
- die Autofluoreszenz (I_A)
- Verhältnis von Autofluoreszenz zu Rayleigh Streuung ($I_{A/R}$)

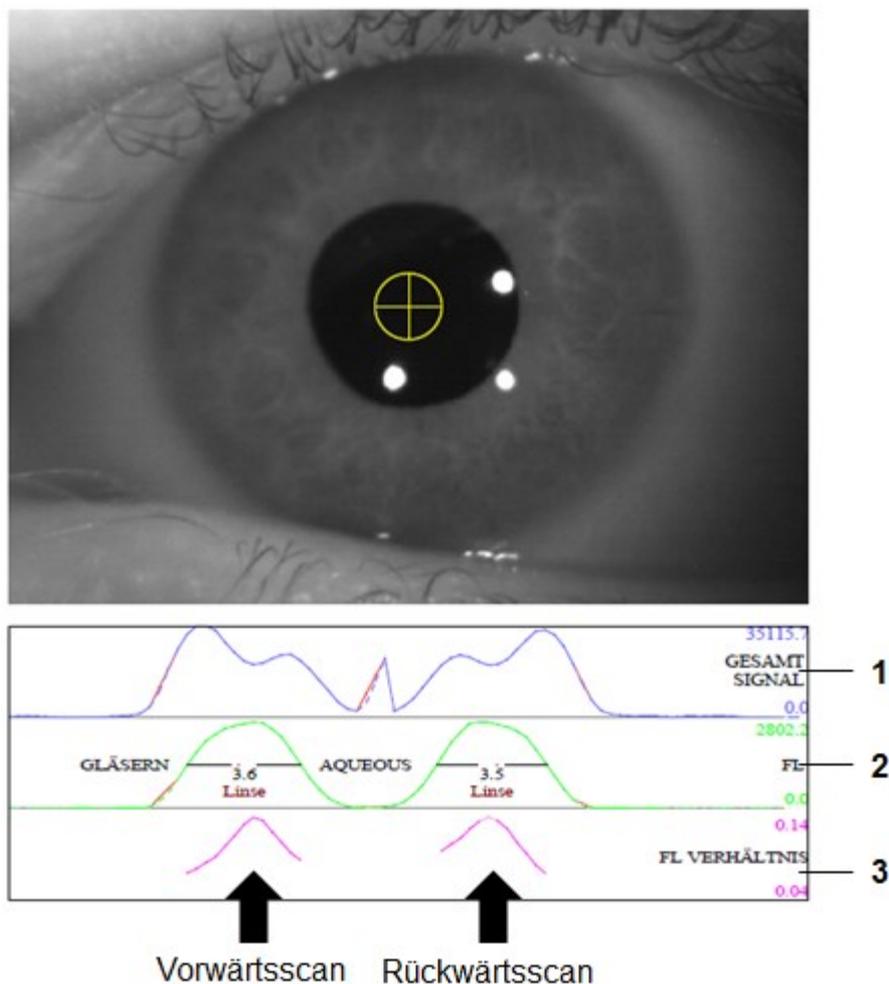


Abb. 7: Darstellung des Vorwärts- und Rückwärtsscans mit den Ergebnissen des Gesamtsignals (1), der Autofluoreszenz (2) und des Intensitätsverhältnisses von Autofluoreszenz zu Rayleigh Streuung (3).

Da die Autofluoreszenz mit dem Alter korreliert (Burd et al. 2012), werden die individuellen Ergebnisse zusammen mit den in der Software integrierten Referenzwerten inkl. der 50., 80. und 90. Perzentile als Funktion des Alters dargestellt (Abb. 8). In dieser Arbeit wurden alle Werte oberhalb der 80. Perzentile als Hinweis auf eine pathologische Akkumulation von AGEs gewertet.

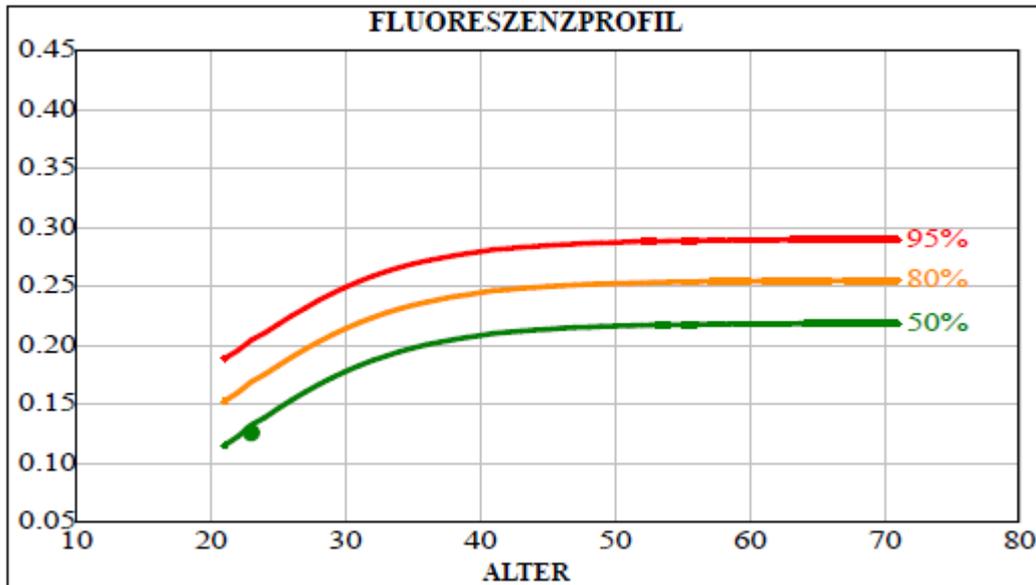


Abb. 8: Darstellung des gemessenen Intensitätsverhältnis von Autofluoreszenz zu Rayleigh Streuung (● = 0,13) eines 23-jährigen Kontrollprobanden in Abhängigkeit vom Alter.

3.4.3 Konfokale Laser-Scanning Mikroskopie der Cornea

Für die nichtinvasive Darstellung des cornealen SNPs in vivo wurde das aus einem Heidelberg-Retina-Tomograph II mit einem Rostock Cornea Module (HRT II/RCM) (Heidelberg Engineering GmbH, Heidelberg, Deutschland) und einem Kontaktobjektiv (63x/0.95W, 670nm; Zeiss, Jena, Deutschland) bestehende System verwendet.

Aus Compliancegründen wurden vor dem Beginn jeder Untersuchung beide Corneae mit 0,5% Propakaintropfen (Ursapharm Arzneimittel GmbH & Co, Saarbrücken) lokal betäubt und das Objektiv mit einer sterilen Einwegkappe (TomoCap®; Heidelberg Engineering GmbH, Heidelberg) versehen. Um sowohl die optische Kopplung zwischen Cornea und Objektiv, als auch zwischen Objektiv und Einwegkappe zu verbessern wurde jeweils auf der Cornea bzw. in der Einwegkappe, ein Kontaktgel (Visidic, Dr. Mann Pharma, Berlin) appliziert. Zudem wurde der Proband angehalten mit dem nicht untersuchten Auge einen Punkt in der Ferne zu fixieren.

Nach idealer Positionierung des Probanden und Einschalten des Lasers (670 nm) wurde durch langsames Heranfahren des Objektivs vorsichtig der Kontakt zwischen Einwegkappe und Cornea hergestellt. Anschließend wurde durch den

Untersucher in einer Tiefe von ca. 60-70 μm der SNP scharf dargestellt. Nach Optimierung der Lichtverhältnisse wurden an unterschiedlichen Stellen des SNP mehrere Einzelbilder (Abb. 9; jeweils 384 x 384 Pixel; 400 x 400 μm Gesamtgröße) aufgenommen. Zusätzlich wurden Volumenscans des SNPs durchgeführt. Hierbei handelt es sich um ein Oszillationsverfahren (oscillating volume scan, OVS), bei dem in drei Aufnahmezyklen vom basalen Corneaepithel über Basalmembran, SNP, Bowman-Membran bis hin zum apikalen Stroma und vice versa ca. 100 Einzelbilder nacheinander aufgenommen werden (Köhler et al. 2011). Die Untersuchung erfolgte einseitig links und dauerte durchschnittlich 5-15 Minuten.

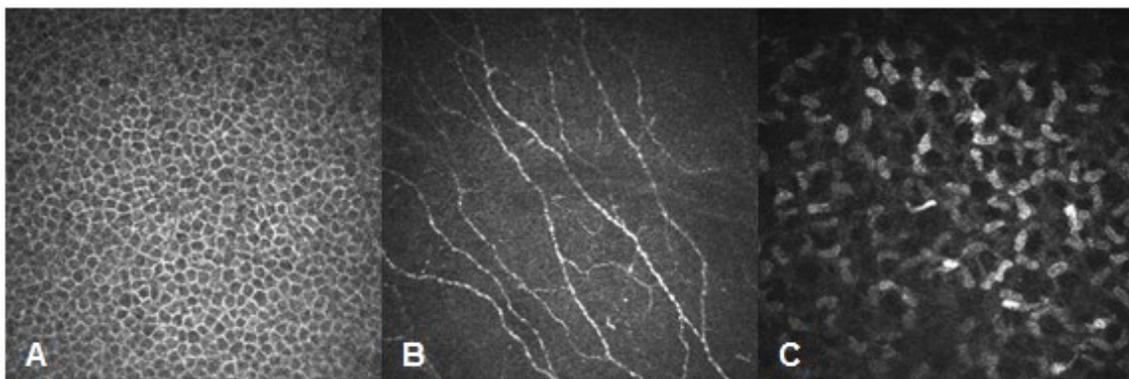


Abb. 9: CLSM-Aufnahmen des cornealen Epithels (A), des SNPs (B) und des Stromas (C).

3.4.4 Optische Kohärenztomographie der Retina

Zur Charakterisierung des hinteren Augenabschnittes wurden hochauflösende Querschnittsbilder der Retina unter Verwendung des Spectralis HRA+OCT (Heidelberg Engineering) aufgenommen.

Die Spectralis-OCT arbeitet mit einer Lichtquelle von 815 nm Wellenlänge. Der Infrarotlaser wird durch einen Strahlenteiler vor Eintritt in das Auge in einen Referenz- und einen Probenstrahl aufgeteilt. Während die Lichtwellen des Referenzstrahls auf einen Referenzspiegel treffen, werden die Lichtwellen des Probenstrahls intraretinal in Abhängigkeit der unterschiedlichen Grenzflächen einzeln reflektiert. Dabei entstehen Lichtwellen unterschiedlicher Laufzeiten. Sowohl die reflektierten Referenzlichtwellen als auch die unterschiedlichen Probenlichtwellen vereinen sich und werden spektroskopisch ausgewertet. Dabei kann eine Überlagerung der Lichtwellen zu einer maximalen Verstärkung oder Auslöschung führen. Die resultierenden Amplitudenintensitäten dieser Interferenzen entsprechen typischen Tiefeneigenschaften der Retina (Schulze et al. 2009).

Im Anschluss lassen sich so in y-Richtung Unterschiede der einzelnen Retinaschichtdicken aufweisen (A-Scan). Um ein zweidimensionales Querschnittsbild zu erzeugen, tastet der Laser die Retina in x-Richtung ab (B-Scan). In einem weiteren Schritt können die so erzeugten Querschnittsbilder (B-Scans) in bis zu 11 μm Abständen aneinander gefügt werden und somit dreidimensionale Übersichten der gesamten Retina geschaffen werden (Volume-Scan) (Abb. 10).

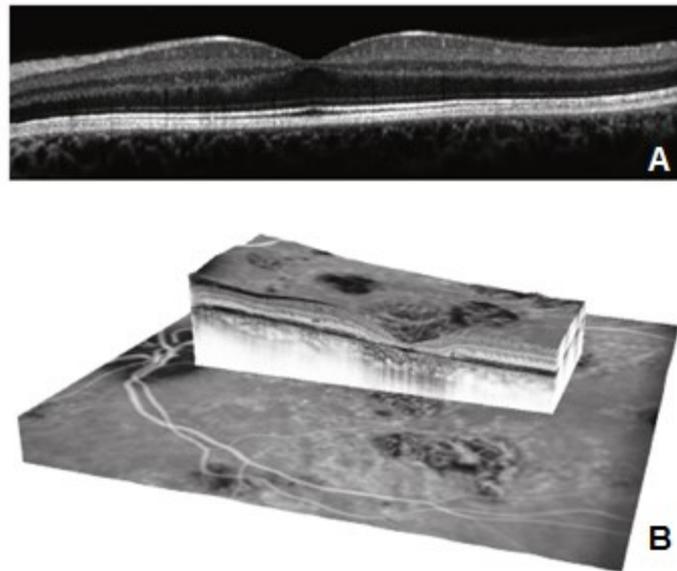


Abb. 10: Retinales Querschnittsbild eines OCT-Scan als B-Scan (**A**) und als Volume-Scan (**B**). Modifiziert nach (© Heidelberg Engineering GmbH Academy).

Nach optimaler Ausrichtung wurde der Proband angehalten während der Untersuchung einen Punkt zu fixieren, um Augenbewegungen zu vermeiden. Anschließend wurde über das Kontrollpanel der Untersuchungsmodus ausgewählt und der Laser eingeschaltet. Weitere Parameter wie Aufnahmemodus (Makula) und Größe des Scanfeldes wurden über den Computer eingestellt. Der optimale Abstand zwischen Kamera und Auge zur Erzeugung eines scharfen Retinabildes wurde ermittelt und nach Optimierung der Lichtverhältnisse hochauflösende Querschnittsbilder der Retina erstellt. Diese Untersuchung wurde einmalig an beiden Augen durchgeführt, für die Auswertung wurden lediglich die Daten des linken Auges verwendet.

3.5. Quantitative Bildanalyse

Jedes der genannten Verfahren ergab spezifische Bilder, welche mit speziellen Programmen analysiert wurden. Da die Analyse vertiefte Kenntnisse der entsprechenden Software erforderte, bzw. die entsprechenden Softwaremodule vor Ort nicht verfügbar waren, wurden die Bildanalysen teilweise extern durchgeführt.

3.5.1 Pachymetrie- und Densitometrieanalyse der Cornea

In dieser Arbeit wurde der Fokus auf die Auswertung der cornealen Morphologie gelegt und die 3D-Scans zur Erfassung der cornealen Dicke (Pachymetrie) und Transparenz (Densitometrie) von Herrn J. Iwanczuk der Firma OCULUS Optikgeräte GmbH ermöglicht und durchgeführt.

Die Hornhautdicke wurde in ihrer Apex, an der Pupillenmitte und in 3 mm Abständen um sie herum (superior, inferior, nasal, temporal) gemessen. Zudem wurden die minimale Hornhautdicke und die Position relativ zur cornealen Apex angegeben. In Abhängigkeit der Intensität des corneal reflektierten Lichts wurde die Transparenz auf einer Grauskala mit Werten von 0 (maximal transparent) bis 100 (maximal lichtundurchlässig) angegeben. Messungen wurden an unterschiedlichen Bereichen der Cornea durchgeführt. Hierfür wurde ein im Durchmesser 12 mm großer Bereich der Cornea in vier konzentrische Ringe aufgeteilt. Die erste zentrale Fläche lag direkt um die Apex der Cornea und hatte einen Durchmesser von 2 mm. Die angrenzenden, konzentrischen Ringe umfassten Areale mit einer Ringbreite von jeweils 4mm (2-6 mm, 6-10 mm und 10-12 mm). Zudem wurde die Hornhauttransparenz jedes Rings in drei unterschiedlichen Tiefen der Cornea berechnet. Somit ergaben sich pro Ring drei Densitometriewerte (OCULUS Optikgeräte GmbH 2018). Zur Datenreduktion wurden alle gemessenen Werte gemittelt, sodass sich ein Durchschnittswert für die corneale Densitometrie ergab.

3.5.2 Analyse des subbasalen cornealen Nervenplexus

Die quantitative Auswertung der CLSM Aufnahmen des SNP wurde von der Arbeitsgruppe von Dr. B. Köhler des Instituts für angewandte Informatik, Karlsruher Institut für Technologie, und von Dr. K. Winter, Institut für Anatomie der Universität Leipzig, durchgeführt.

Zunächst wurden die 3D Volumenscans in 2D-Bilder des SNP umgewandelt und daraus ein Mosaikbild erstellt (Abb. 11). Mit geeigneten Algorithmen wurden in dem Mosaikbild definierte morphologische Merkmale erfasst und quantifiziert. Die sich daraus ergebenden cornealen Parameter sind in Tab. 3 mit ihrer Abkürzung und Einheit angegeben und in Abb. 11 dargestellt.

Tab. 3: Morphologische Parameter des SNP und dazugehörige Abkürzungen und Einheiten. Nach (Winter et al. 2017).

| Corneale Parameter | Abkürzung | Einheit |
|--|-------------------|-------------------------------|
| Segmentierte Nervenfaserfläche | NFF | [%] |
| Durchschnittliche Einzelfaserlänge | EFL | [μm] |
| Addierte Nervenfaserlänge pro mm^2 | CNFL | [$\mu\text{m}/\text{mm}^2$] |
| Anzahl der Nervenfasern pro mm^2 | CNFD | [mm^{-2}] |
| Nervenfaserverzweigungen pro mm^2 | CNFB | [mm^{-2}] |
| Nervale Bildrandberührungspunkte pro mm^2 | CNCP | [mm^{-2}] |
| Nervenfaserdicke | CNFT _h | [μm] |
| Nervenfasertortuosität | CNFT _o | - |

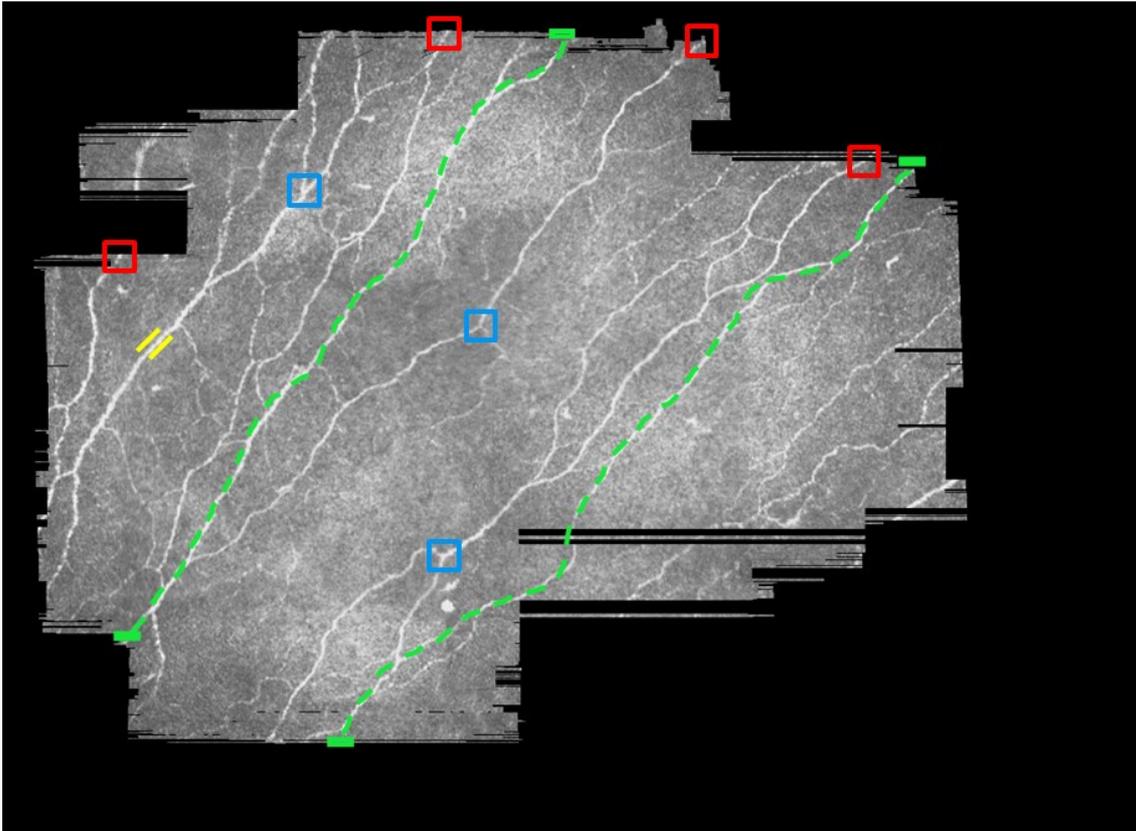


Abb. 11: Mosaikbild des SNP eines T1DM-Patienten mit gekennzeichneten Morphologieparametern: Nervenfaserverzweigungen (CNFB; *blau*), nervale Bildrandberührungspunkte (CNCP; *rot*) und Nervenfaserdicke (CNFTh; *gelb*).

Die mit der CLSM erstellten Bilder konnten nur für eine Subgruppe der Studienteilnehmer (Kontrollen n=10; T1DM n=14) quantitativ analysiert werden, da die Bildqualität (durch z. B. überstrahlte Bereiche, unscharfe Bildränder) nicht ausreichte.

3.5.3 Segmentierung und Charakterisierung der Retinaschichtdicken

Die Auswertung der OCT Daten erfolgte in Kooperation mit M. Röhlig vom Institut für Visual and Analytic Computing der Universität Rostock.

Die Retina wurde entsprechend dem von der Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Group vorgeschlagenen Gitter (ETDRS-Gitter) in drei konzentrischen Ringen um die Makula angeordnet und Quadranten in superior, temporal, inferior und nasal aufgeteilt (Abb. 12).

Jedem ETDRS-Gitter-Sektor wurden folgende gemittelte Retinaschichtdicken in μm berechnet (Abb. 12):

- Retinale Nervenfaserschicht (RNFL)
- Ganglienzellschicht (GCL)
- Innere plexiforme Schicht (IPL)
- Innere Körnerschicht (INL)
- Äußere plexiforme Schicht (OPL)
- Äußere Körnerschicht (ONL)
- Retinales Pigmentepithel (RPE)
- Photorezeptorschicht (PRL)

Zusätzlich wurden Werte der gesamten (ALL), inneren (IRL) und äußeren (ORL) Retina angegeben. Während sich die gesamte Retinadicke aus der Addition aller Schichten ergibt, besteht die IRL aus den Schichtdicken der RNFL, GCL, IPL, INL, OPL und ONL. Respektive bildet sich die ORL aus den Schichtdicken der RPE und PRL.

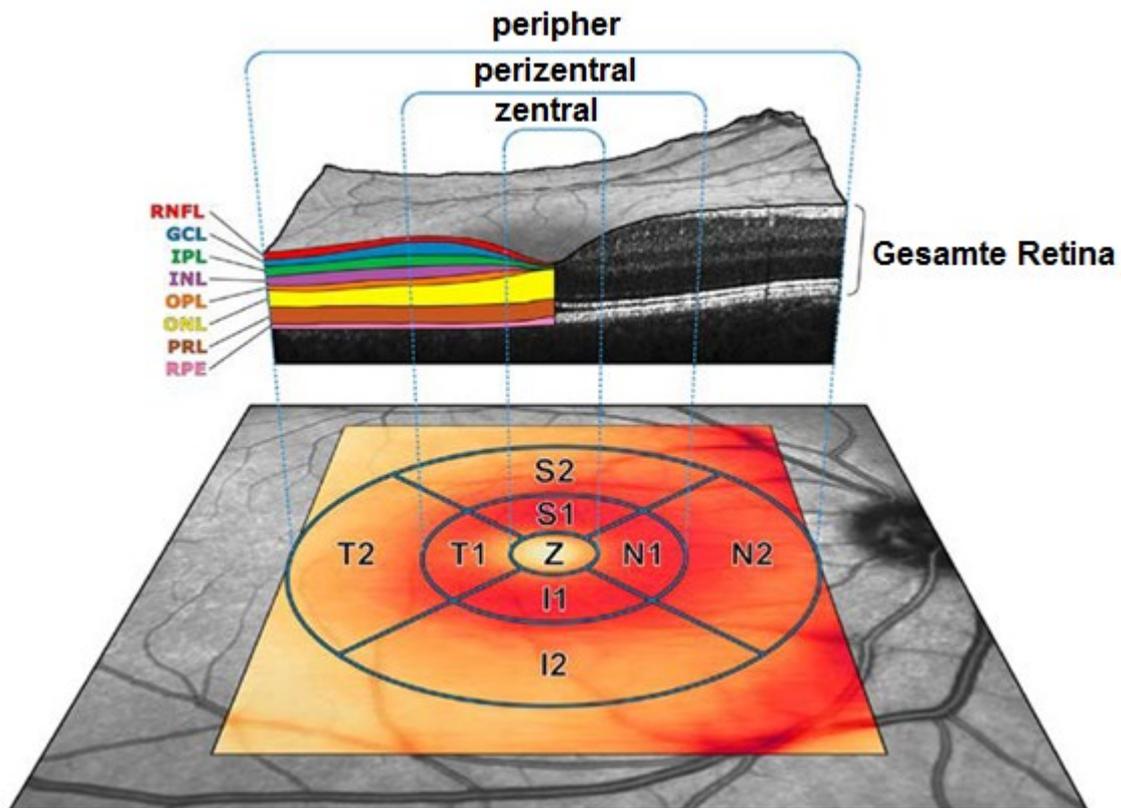


Abb. 12: OCT-Scan einer gesunden rechten Retina mit Darstellung der einzelnen Retinaschichten und Veranschaulichung eines ETDRS-Gitter mit der zentralen (**Z**), perizentralen (**1**), peripheren Zone (**2**) und den dazugehörigen superioren (**S**), nasalen (**N**), inferioren (**I**) und temporalen (**T**) Quadranten. Modifiziert nach (Fischer und Stachs 2018).

Anschließend wurden die erfassten Retinaschichtdicken der perizentralen und peripheren Quadranten gemittelt. Folglich konnten jeder Retinaschicht jeweils 3 Werte für die unterschiedlichen Zonen (zentral, perizentral und peripher) zugeordnet werden.

3.6. Datenverarbeitung und -auswertung

Alle im Rahmen der Studie erfassten Daten wurden pseudonymisiert gespeichert und zur statistischen Analyse in SPSS, Version 22 (SPSS Inc, Chicago, Illinois, USA) übertragen. Die Normalverteilung der Daten wurden mit dem Kolmogorov-Smirnov Test überprüft. Bei nicht normaler Verteilung wurden die Ergebnisse der deskriptiven Statistik mit ihrem Median und Range angegeben und signifikante Unterschiede in Gruppenvergleichen mit dem Mann-Whitney-U

Test überprüft. Um Zusammenhänge zwischen den einzelnen Parametern zu identifizieren wurden Korrelationsanalysen mit dem Spearman-Rho-Test durchgeführt. Verteilungsteste wurden mit dem Chi-Quadrat-Test nach Pearson durchgeführt. Berücksichtigt wurden nur die zweiseitigen Signifikanzen und p-Werte $\leq 0,05$ als statistisch signifikant festgelegt. Graphische Darstellungen wurden mit Sigmaplot (Version 10.0, Systat Software GmbH) erstellt.

4 Ergebnisse

In dieser Arbeit wurde der ophthalmologische Status von jungen Diabetespatienten mit dem von gleichaltrigen, gesunden Kontrollen verglichen.

4.1 Studienpopulation

Aus einem Pool von 72 grundsätzlich geeigneten T1DM-Patienten stimmten 23 Patienten einer Teilnahme primär zu. Fünf dieser Patienten sagten die Untersuchungen kurzfristig ab und widerriefen die Einwilligung zur Studienteilnahme, ein Patient gab nur lückenhafte Auskunft zu seiner Krankengeschichte und wurde daher ebenfalls ausgeschlossen. Gesunde Kontrollen wurden über private Kontakte akquiriert. Zusätzlich konnten weitere 5 Patienten über private Kontakte, sowie über einem Aufruf via Unimailverteiler gewonnen werden. Sowohl die T1DM-Patienten, als auch die Kontrollen enthielten ein zweieiiges, männliches Zwillingspärchen.

4.2 Darstellung der anthropometrischen und klinischen Daten

Die anthropometrischen und klinischen Daten sind in Tab. 4 dargestellt. T1DM-Patienten erkrankten im Mittel in einem Alter von 11 Jahren. Die gewählten Modi der Blutzuckerkontrolle und Therapieform sind in Abb. 13 dargestellt.

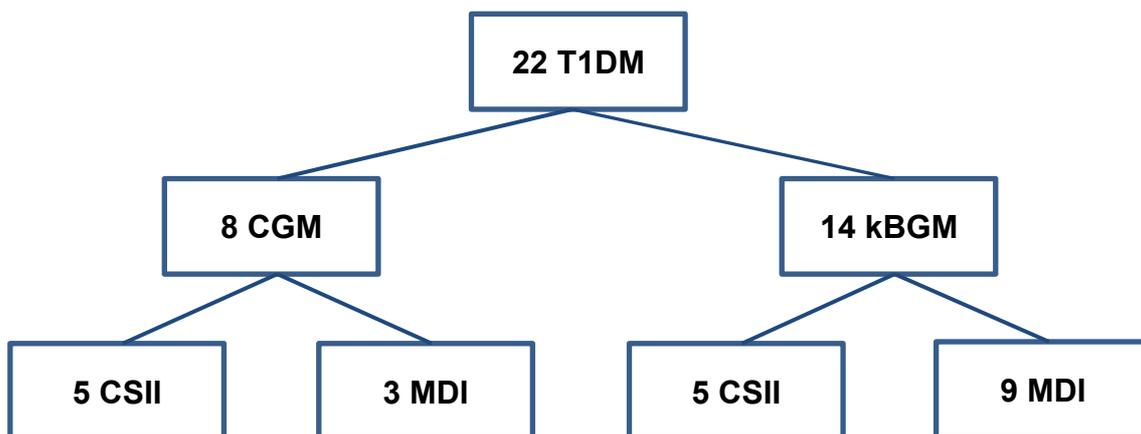


Abb. 13: Häufigkeiten der von T1DM-Patienten genutzten Methode zur Kontrolle der Blutglukose (CGM oder kapilläre Blutglukosemessung (kBGM)) und der Therapieform (CSII oder MDI).

Tab. 4: Anthropometrische und klinische Daten aller Probanden (* p < 0,05).

| | Kontrollen (8m/16f) | T1DM (9m/13f) |
|---------------------------------------|----------------------------|-----------------------|
| Alter [Jahre] | 22,8 (16,1 - 26,4)* | 17,3 (14,2 - 24,4)* |
| Körperlänge | | |
| absolut [cm] | 174 (159 - 189) | 170 (160 - 191) |
| Z-score [SD] | 0,29 (-1,27 - 2,16) | 0,17 (-1,31 - 1,53) |
| Körpergewicht | | |
| absolut [kg] | 64,5 (49,2 - 113) | 68 (52 - 85,7) |
| Z-score [SD] | 0,12 (-1,14 - 2,87) | 0,54 (-0,77 - 2,26) |
| BMI | | |
| absolut [kg/m²] | 21,12 (18,36 - 33,74) | 21,71 (17,99 - 26,81) |
| Z-score [SD] | -0,35 (-1,1 - 2,63) | 0,34 (-1,22 - 1,66) |
| sys. Blutdruck | | |
| absolut [mmHg] | 120 (98 - 166) | 126 (100 - 149) |
| Z-score [SD] | 0,64 (0,00 - 2,33) | 1,28 (-0,68 - 2,33) |
| dias. Blutdruck | | |
| absolut [mmHg] | 76 (59 - 86) | 81 (60 - 90) |
| Z-score [SD] | 0,64 (0,00 - 1,65) | 1,28 (0 - 2,33) |
| Erkrankungsdauer [a] | - | 8,2 (0,9 - 15,1) |
| aktueller HbA_{1c} [%] | - | 7,65 (5,50 - 13,10) |

Zwischen dem standardisiertem Körpergewicht (z-score) und dem aktuellen HbA_{1C}-Wert besteht ein signifikanter Zusammenhang (Abb. 14). Darüber hinaus ließen sich keine signifikanten Assoziationen zwischen krankheitsspezifischen Daten (HbA_{1C}, Erkrankungsdauer, bisheriger Insulinbedarf) feststellen.

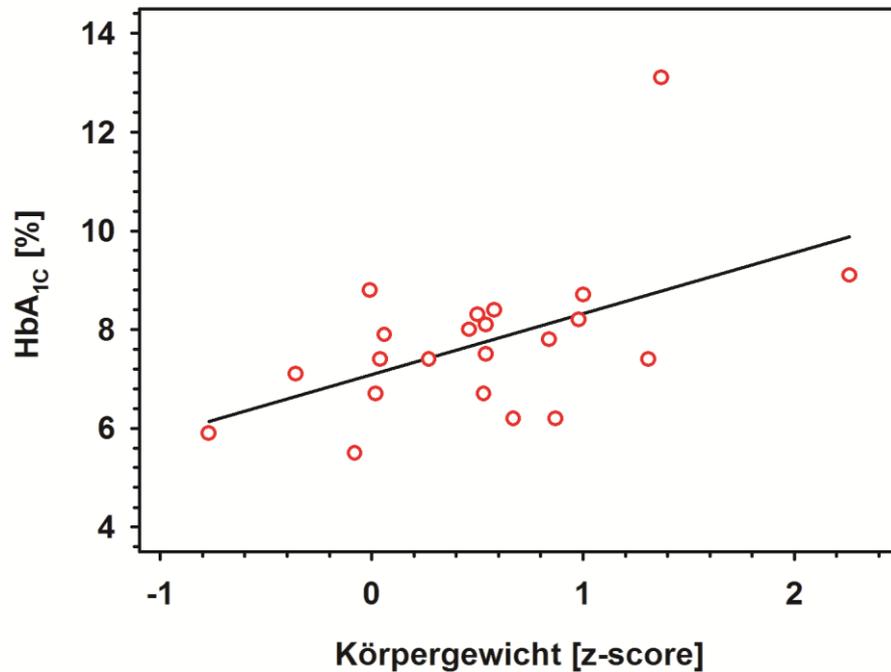


Abb. 14: Zusammenhang zwischen den aktuellen HbA_{1C}-Werten und dem Körpergewicht bei T1DM-Patienten (rot). $R = 0,480$ und $p \leq 0,05$

4.3 Allgemeiner ophthalmologischer Status

Bei keinem der Teilnehmer waren ophthalmologische Vorerkrankungen bekannt. Alle Probanden hatten korrigiert einen Visus von mindestens 0,9 und die corneale Ästhesiometrie war in allen Fällen unauffällig. Der gemessene Augeninnendruck war bei 8 Teilnehmern (drei Kontrollen / vier Patienten), sowohl uni- als auch bilateral, erhöht (>21 mmHg). In Tab. 5 ist der intraokuläre Druck (IOD) mit Median und Range angegeben.

Tab. 5: Intraokulärer Druck aller Probanden.

| | Kontrollen (8m/16f) | T1DM (9m/13f) |
|-------------------|----------------------------|----------------------|
| IOD [mmHg] | | |
| rechts | 17,0 (10,0 - 24,0) | 18,0 (11,0 - 29,0) |
| links | 17,5 (10,0 - 24,0) | 17,5 (10,0 - 26,0) |

4.4 Vergleichende Analyse studienspezifischer ophthalmologischer Untersuchungen der T1DM-Patienten und Kontrollen

4.4.1 Corneale Transparenz- und Dickenmessung

Zwischen T1DM-Patienten und Kontrollen ergaben sich weder für die corneale Transparenz noch für die corneale Dicke signifikanten Unterschiede (Tab. 6).

Tab. 6: Vergleich der Corneatransparenz und -dicke von Kontrollen und Patienten.

| | Kontrollen (8m/16f) | T1DM (9m/13f) |
|----------------------------------|----------------------------|-----------------------|
| Corneale Transparenz [GU] | 17,5 (15,2 - 21,5) | 16,7 (15,1 - 22,8) |
| Corneale Dicke | | |
| Apex [µm] | 556,3 (487,5 - 595,5) | 563,8 (490,5 - 628,5) |
| Minimum [µm] | 549,8 (483,5 - 586,5) | 559,0 (486,0 - 624,5) |

4.4.2 Autofluoreszenzverhalten der Linse

Die Intensität der Autofluoreszenz sowie das Intensitätsverhältnis von Autofluoreszenz und Rayleigh Streuung waren bei T1DM-Patienten signifikant höher als bei Kontrollen (Tab. 7/ Abb. 15). Zudem ließ sich eine signifikante Häufung des Intensitätsverhältnisses von Autofluoreszenz zu Rayleigh Streuung über der 80. Perzentile bei diabetischen Patienten feststellen (7 vs. 1; $p < 0,05$). Darüber hinaus war das Intensitätsverhältnis von Autofluoreszenz und Rayleigh Streuung bei Patienten mit einem $HbA_{1C} \geq 7,85\%$ und mit einer Erkrankungsdauer von mehr als sieben Jahren signifikant höher als bei gesunden Kontrollen und Patienten mit kürzerer Erkrankungsdauer (Abb. 15).

Tab. 7: Vergleich der Intensität der Autofluoreszenz (I_A), der Intensität der Rayleigh Streuung (I_R), des Intensitätsverhältnis von Autofluoreszenz und Rayleigh Streuung (I_A/I_R) und der Verteilung normwertiger bzw. pathologischer Intensitätsverhältnisse von T1DM-Patienten und Kontrollen (* $p \leq 0,05$).

| | Kontrollen (8m/15f) | T1DM (9m/13f) |
|---------------------|---------------------------|---------------------------|
| Intensitäten | | |
| I_A [AU] | 2.723 (1.576 - 3.794)* | 3.161 (1.864 - 7.120)* |
| I_R [AU] | 34.132 (22.672 - 120.053) | 38.310 (21.337 - 126.072) |
| $I_{A/R}$ [AU] | 0,11 (0,08 - 0,17)* | 0,14 (0,08 - 0,23)* |

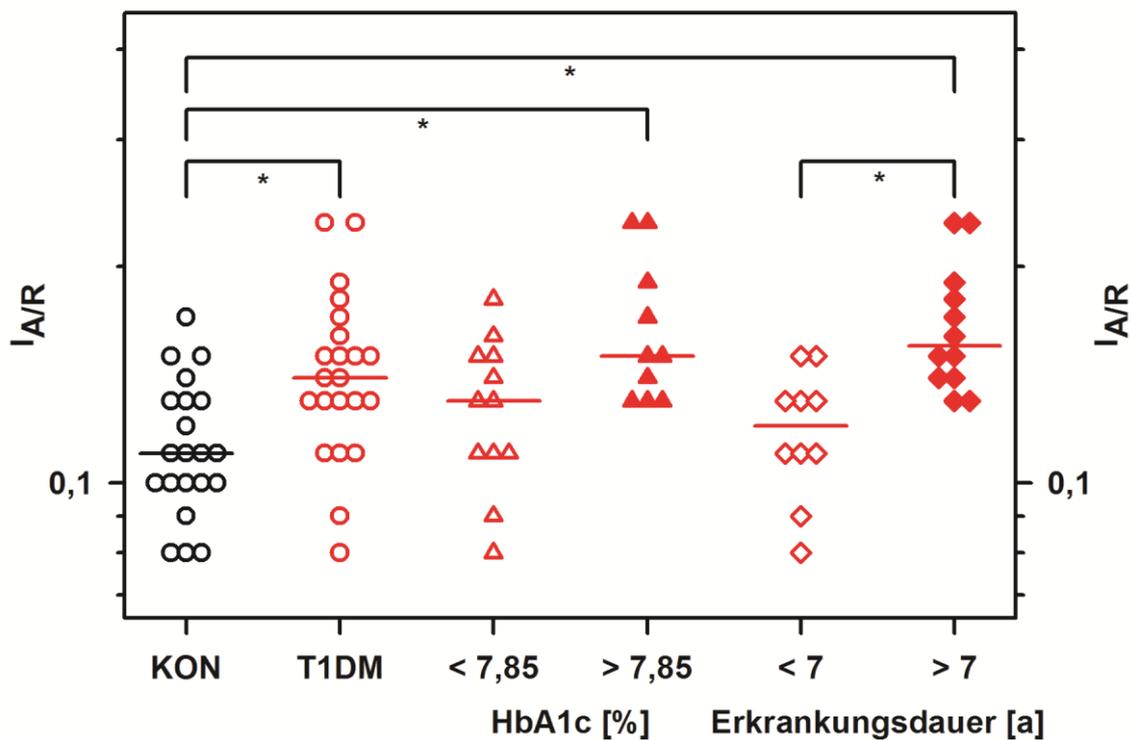


Abb. 15: Die an der Linse bestimmten Intensitätsverhältnisse von Autofluoreszenz und Rayleigh Streuung von Kontrollen (*schwarz*) und T1DM-Patienten (*rot*), bei einem HbA_{1c} < 7,85% (Δ) und > 7,85% (\blacktriangle), bzw. mit einer Erkrankungsdauer von < 7 Jahren (\diamond) und > 7 Jahren (\blacklozenge). *p < 0,005

4.4.3 Morphologie des cornealen subbasalen Nervenplexus

Unsere Diabetiker zeigten relativ zu den Befunden gesunder Kontrollen signifikant geringere Werte für die NFF, die CNFL, die CNFB und die CNFD. Nach Korrektur nach Bonferroni waren lediglich die NFF und CNFL signifikant unterschiedlich (Abb. 16). Weitere mit der CLSM bestimmte SNP Parameter sind in Tab. 9 angegeben.

Tab. 8: Vergleich der Nervenfaserdicke (CNFTh) und -tortuosität (CNFTo) von Kontrollen und T1DM-Patienten.

| | Kontrollen (2m/8f) | T1DM (6m/8f) |
|-------------------------|---------------------|---------------------|
| CNFTh [μm] | 2,55 (2,29 - 2,62) | 2,44 (2,27 - 2,63) |
| CNFTo | 0,092 (0,07 - 0,14) | 0,079 (0,07 - 0,10) |

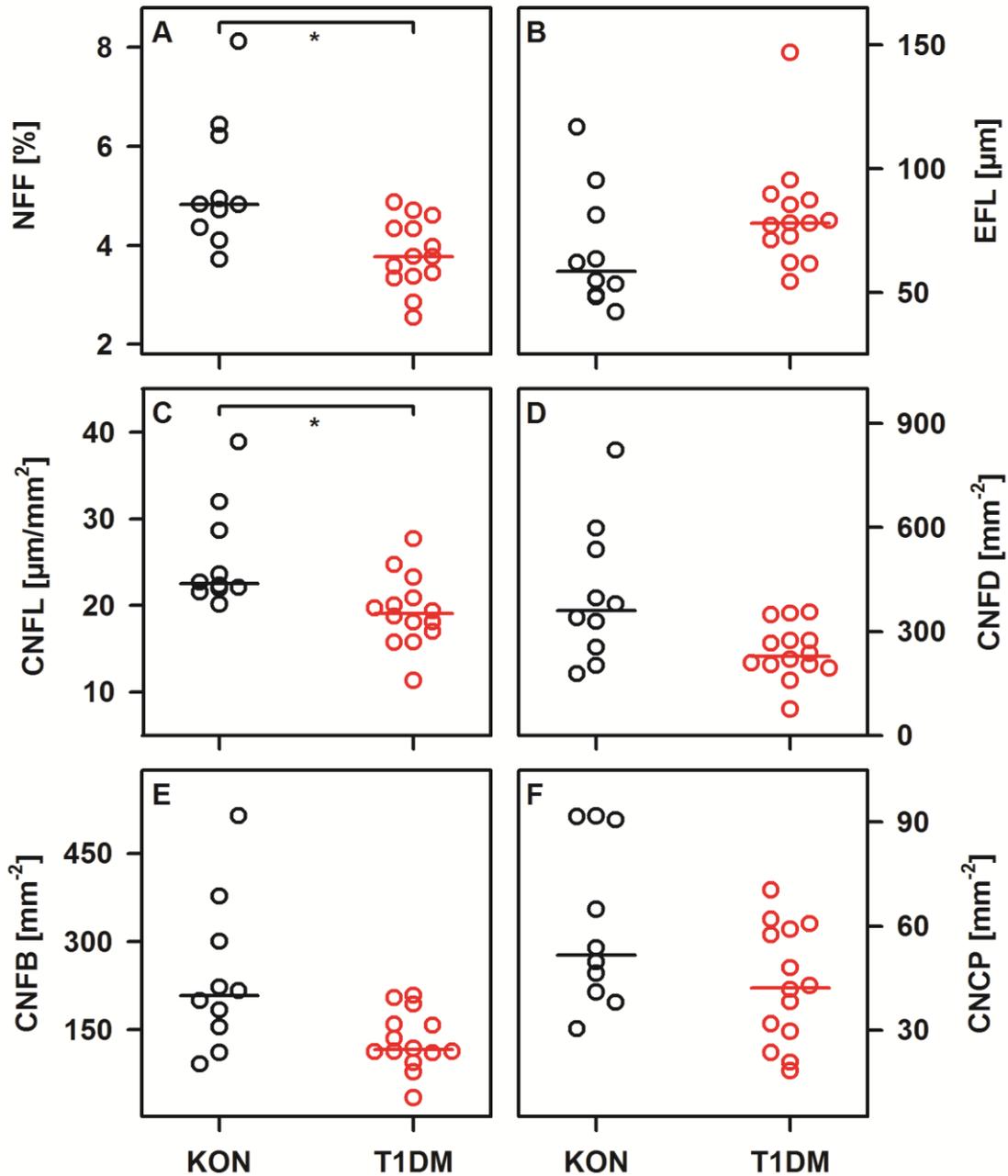


Abb. 16: Vergleich quantitativer morphologischer Charakteristika des cornealen SNP zwischen T1DM-Patienten (*rot*) und Kontrollen (*schwarz*) mit segmentierter Nervenfaserverfläche (A), durchschnittlicher Einzelfaserlänge (B), addierter Nervenfaserverlänge (C), Nervenfaserdichte (D), Nervenfaserverzweigungen (E) und nervalen Bildrandberührungspunkten (F). Korrigierte p-Werte: * $p < 0,005$

Die signifikanten Unterschiede zwischen T1DM-Patienten und Kontrollen ließen sich im Wesentlichen auf T1DM-Patienten mit einer Erkrankungsdauer von mehr als sieben Jahren zurückführen (Abb. 17).

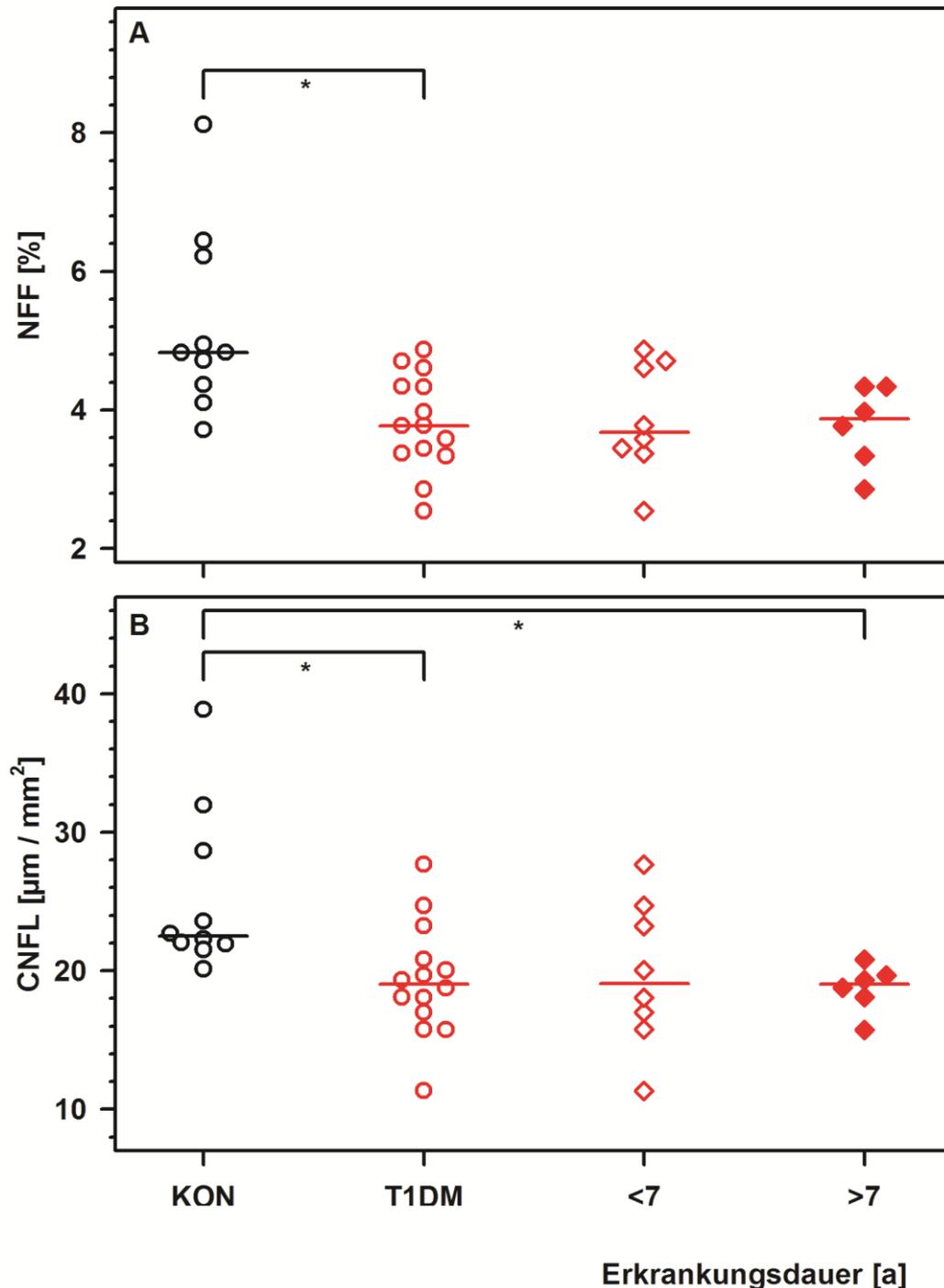


Abb. 17: Vergleich der NFF (A) und CNFL (B) von Kontrollen (*schwarz*) und T1DM-Patienten (*rot*), bzw. von T1DM-Patienten mit einer Erkrankungsdauer von < 7 Jahren (\diamond) und > 7 Jahren (\blacklozenge). * $p < 0,005$

4.4.4 Retinaschichtdicke bei T1DM-Patienten und Kontrollen

Anders als in vorangegangenen Studien konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen jungen Diabetikern und gesunden Kontrollen festgestellt werden. Diabetiker mit einem erhöhten HbA_{1c} und längerer Krankheitsdauer neigten tendenziell zu geringeren Werten der zentralen ONL und ORL, darüber hinaus neigten T1DM-Patienten mit längerer Erkrankungsdauer zu niedrigeren Werten der perizentralen ORL. Die Retinaschichtdicken aller Probanden sind mit Median und Range im Anhang in Tabelle 10 dargestellt.

4.5 Zusammenhänge von ophthalmologischen und klinischen Parametern

Signifikante Korrelationen zwischen ophthalmologischen und klinischen, bzw. krankheitsspezifischen Parametern ergaben sich für die corneale Transparenz und die Autofluoreszenzmessungen der Linse. Sowohl die mit der CLSM erhobenen SNP-Parameter als auch die mit der OCT erhobenen Retinaschichtdicken wiesen keine signifikanten Assoziationen zu klinischen und krankheitsspezifischen Parametern auf.

Die Corneatransparenz der T1DM-Patienten nimmt mit längerer Erkrankungsdauer ab, d.h. densitometrisch wurden höhere Werte ermittelt (Abb 18).

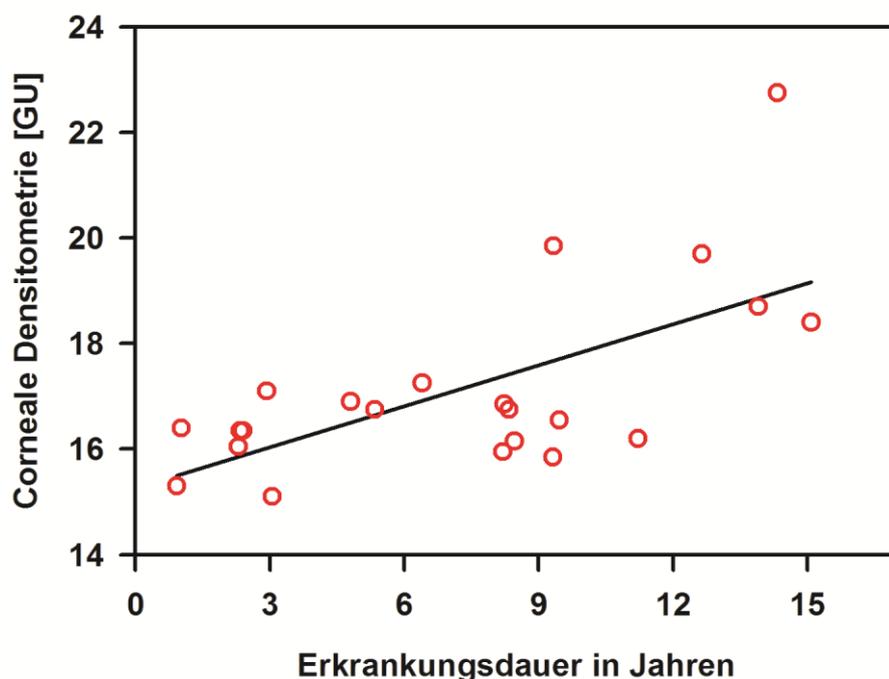


Abb. 18: Zusammenhang zwischen der cornealen Densitometrie und der Erkrankungsdauer von T1DM-Patienten (*rot*; $p = 0,009$; $R = 0,542$).

4.5.1 Zusammenhänge der Linsenautofluoreszenzwerte und dem Alter, dem aktuellen HbA_{1c} und der Erkrankungsdauer

In beiden Kohorten konnten signifikante Assoziationen zwischen dem Lebensalter und der Autofluoreszenz, bzw. dem Intensitätsverhältnis von Autofluoreszenz und Rayleigh Streuung gezeigt werden (Abb. 19).

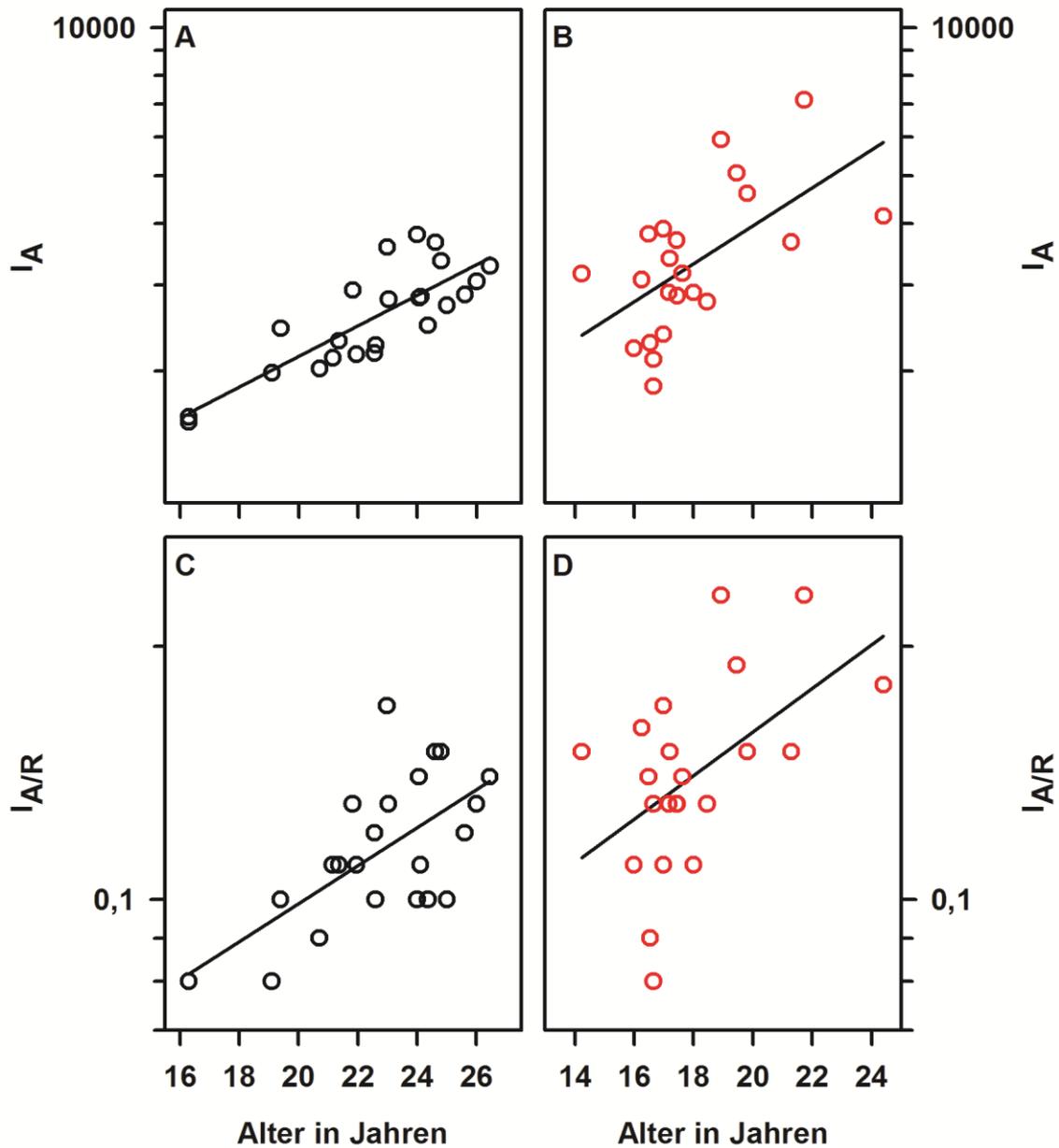


Abb. 19: Signifikante Assoziationen zwischen dem Alter und der Autofluoreszenz (**A; B**) und dem Intensitätsverhältnis von Autofluoreszenz und Rayleigh Streuung (**C; D**) von Kontrollen (*schwarz*) und T1DM-Patienten (*rot*). **A:** $R = 0,759$, $p = 0,000$; **B:** $R = 0,608$, $p = 0,003$; **C:** $R = 0,611$, $p = 0,002$; **D:** $R = 0,481$, $p = 0,023$.

Zudem waren höhere Autofluoreszenzwerte und Intensitätsverhältnisse stärker mit der Erkrankungsdauer, als mit den aktuellen HbA_{1C}-Werten assoziiert (Abb. 20)

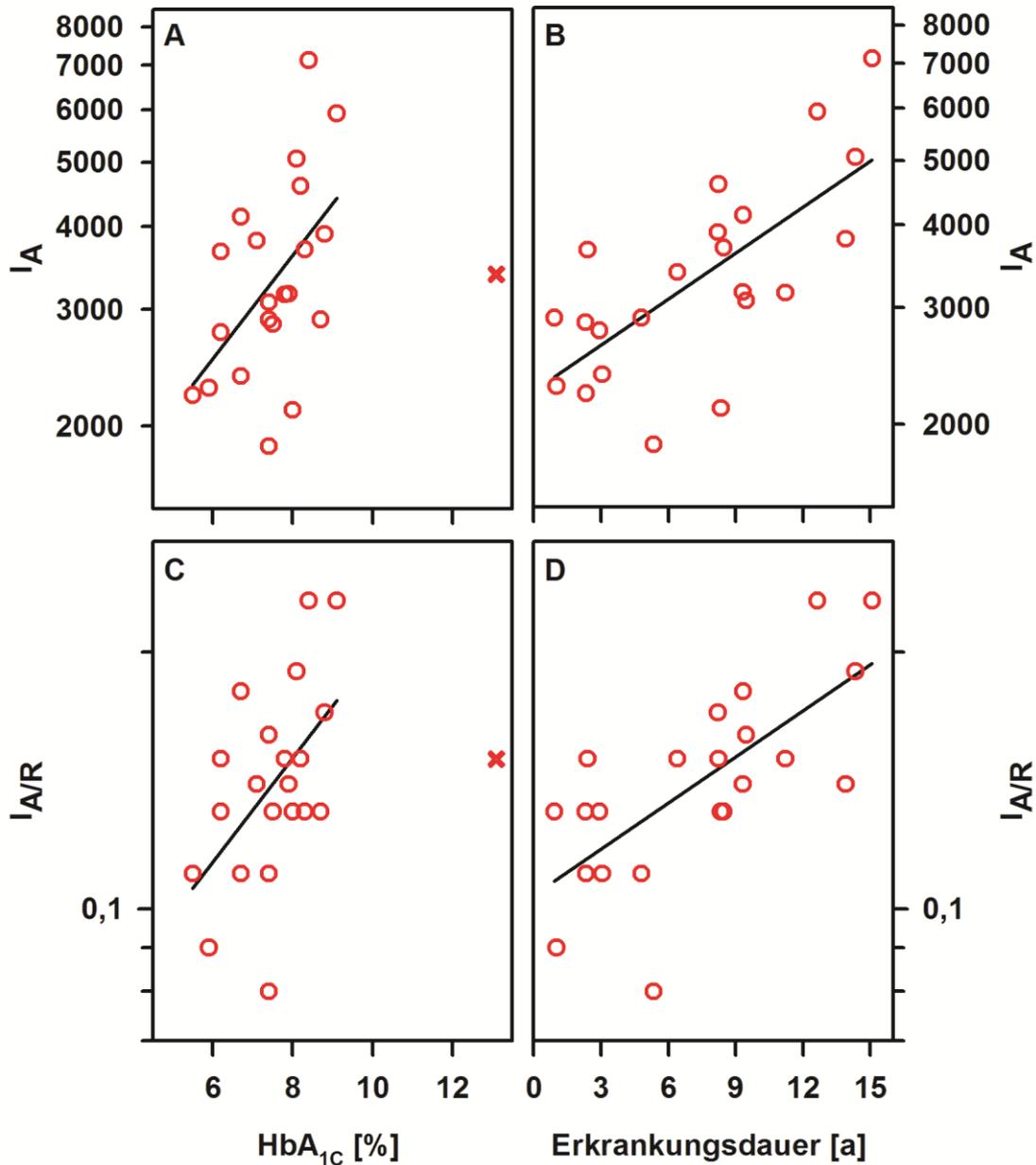


Abb. 20: Vergleich der Korrelationen der Fluoreszenzparameter mit den aktuellen HbA_{1C}-Werten und der Erkrankungsdauer innerhalb der Diabeteskohorte (rot; Ausreißer (x) bei Berechnung nicht berücksichtigt). Assoziation der Autofluoreszenz mit aktuellen HbA_{1C}-Werten (A: R = 0,555 und p = 0,009) und mit der Erkrankungsdauer (B: R = 0,671 und p = 0,001); Assoziation des Intensitätsverhältnisses mit aktuellen HbA_{1C}-Werten (C: R = 0,511 und p = 0,018) und mit der Erkrankungsdauer (D: R = 0,711 und p = 0,000).

4.6 Assoziationen zwischen ophthalmologischen Befunden

Die Corneadicke gesunder Kontrollen zeigte sich signifikant abhängig von der Nervenfaserdicke des cornealen SNP. Diese Assoziation konnte bei T1DM-Patienten nicht festgestellt werden (Abb. 21).

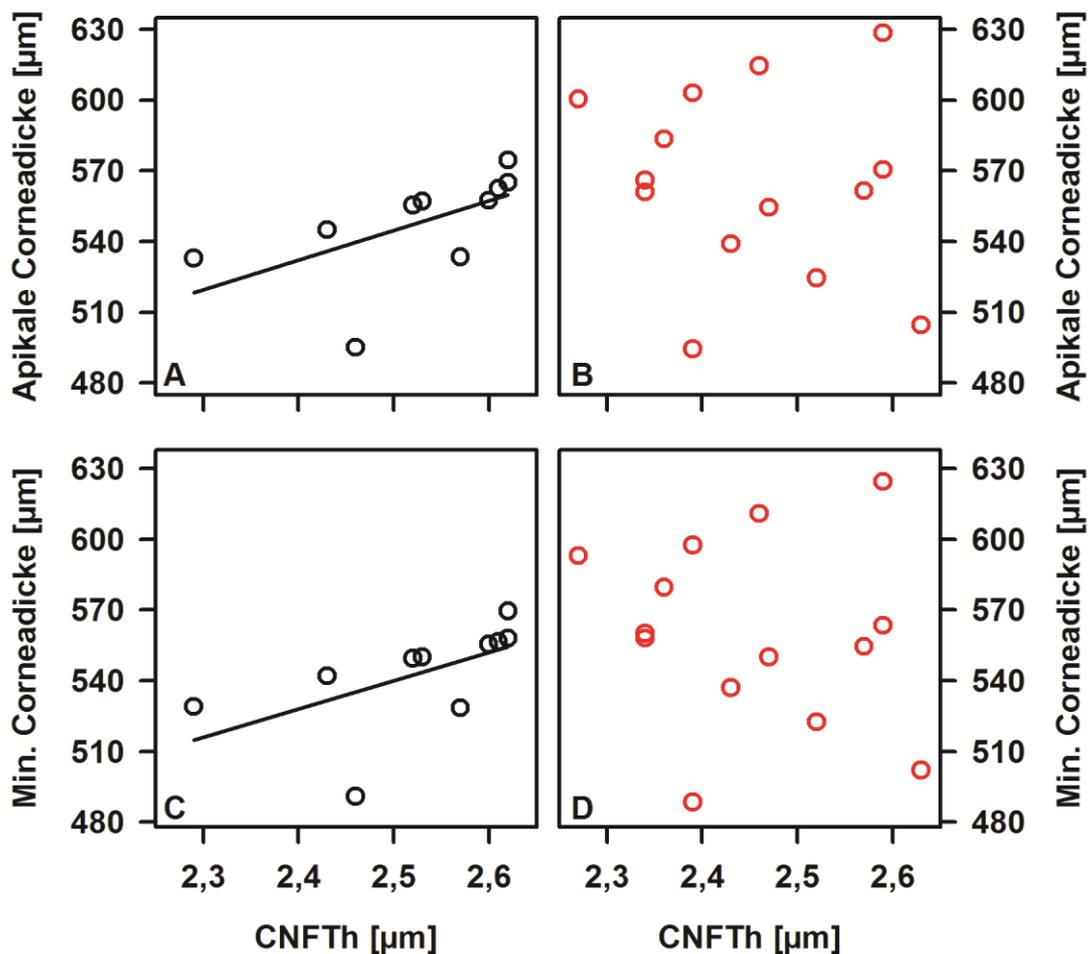


Abb. 21: Korrelationen der apikalen und minimalen Corneadicke mit der durch die CLSM erhobenen Dicke einzelner Nerven des SNP von Kontrollen (*schwarz*; **A**: $R = 0,867$ und $p = 0,001$; **C**: $R = 0,806$ und $p = 0,005$) im Vergleich zu den Daten von T1DM-Patienten (*rot*; **B** und **D**).

Weitere signifikante Assoziationen ophthalmologischer Parameter traten nur bei den Kontrollen zwischen unterschiedlichen sektorspezifischen Retinaschichtdicken und cornealen SNP-Parametern, wie der NFF, der EFL, der CNFD und der CNFB, auf (Abb. 22, 23 und 24).

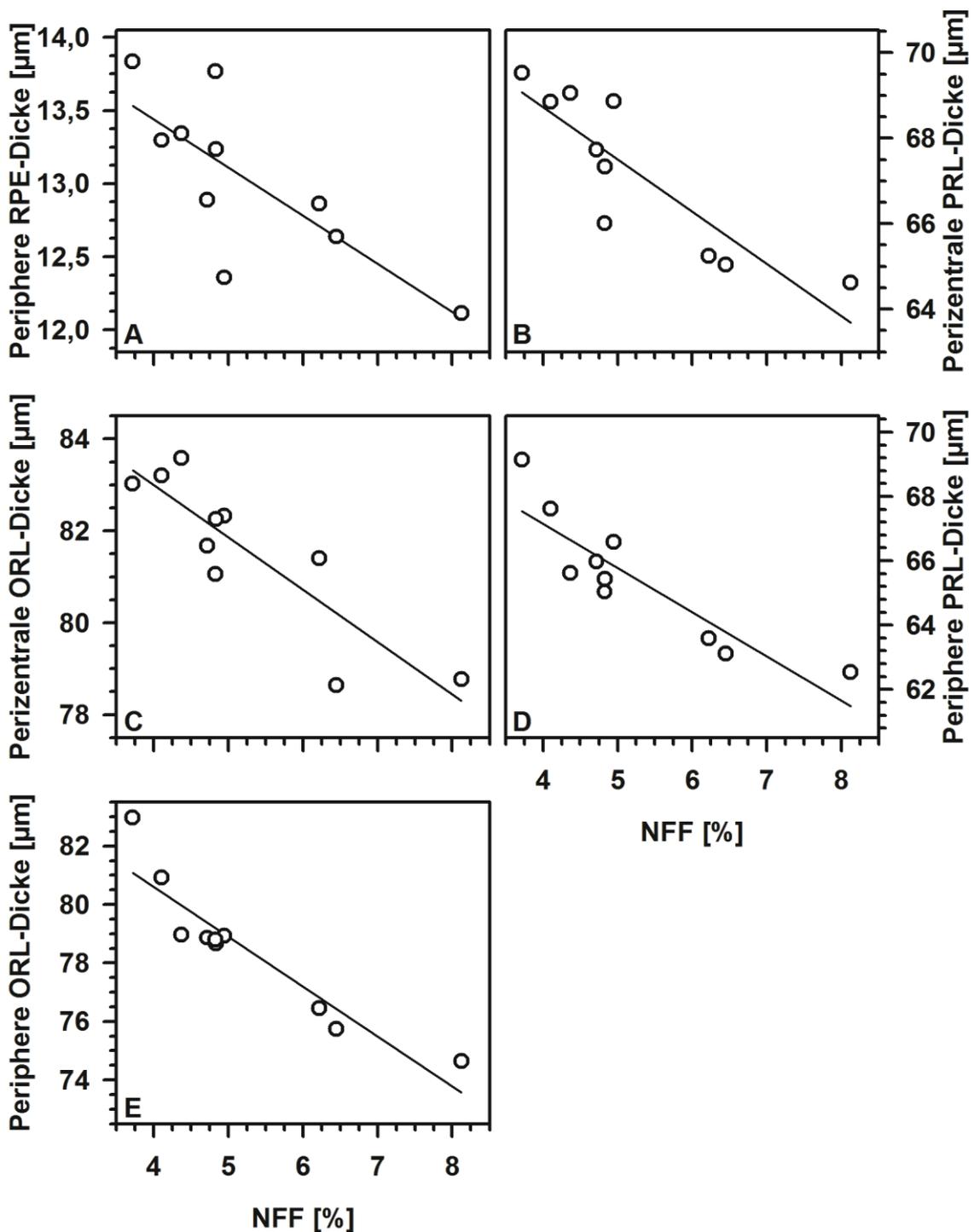


Abb. 22: Kontrollen (*schwarz*) mit einem höheren Anteil segmentierter Nerven-faserfläche zeigten dünnere Schichtdicken der peripheren RPE (**A**: $R = 0,855$; $p = 0,002$), der perizentralen ORL (**C**: $R = 0,794$; $p = 0,006$) und der peripheren ORL (**E**: $R = 0,927$; $p = 0,00$), sowie der perizentralen PRL (**B**: $R = 0,842$; $p = 0,002$) und der peripheren PRL (**D**: $R = 0,855$; $p = 0,002$).

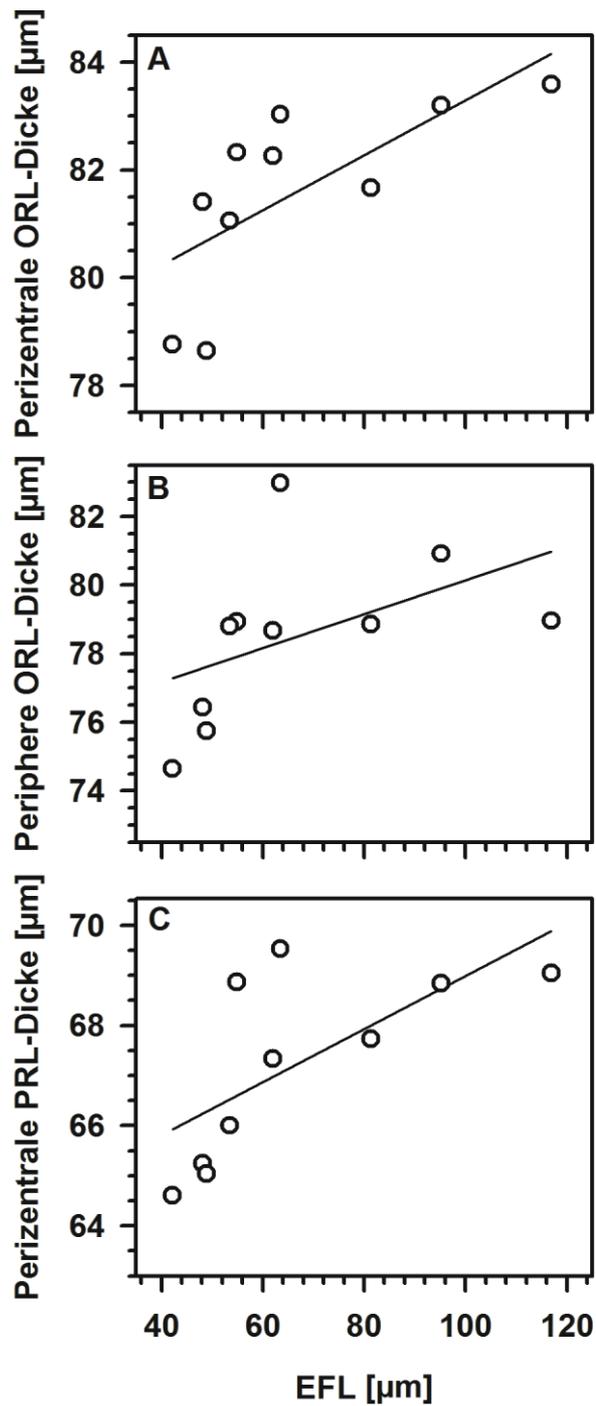


Abb. 23: Zunehmende corneale Einzelfaserlängen gehen bei Kontrollen (*schwarz*) mit dickeren retinalen Schichten der perizentralen ORL (**A**: $R = 0,855$; $p = 0,002$), der peripheren ORL (**B**: $R = 0,830$; $p = 0,003$) und der perizentralen PRL (**C**: $R = 0,818$; $p = 0,004$) einher.

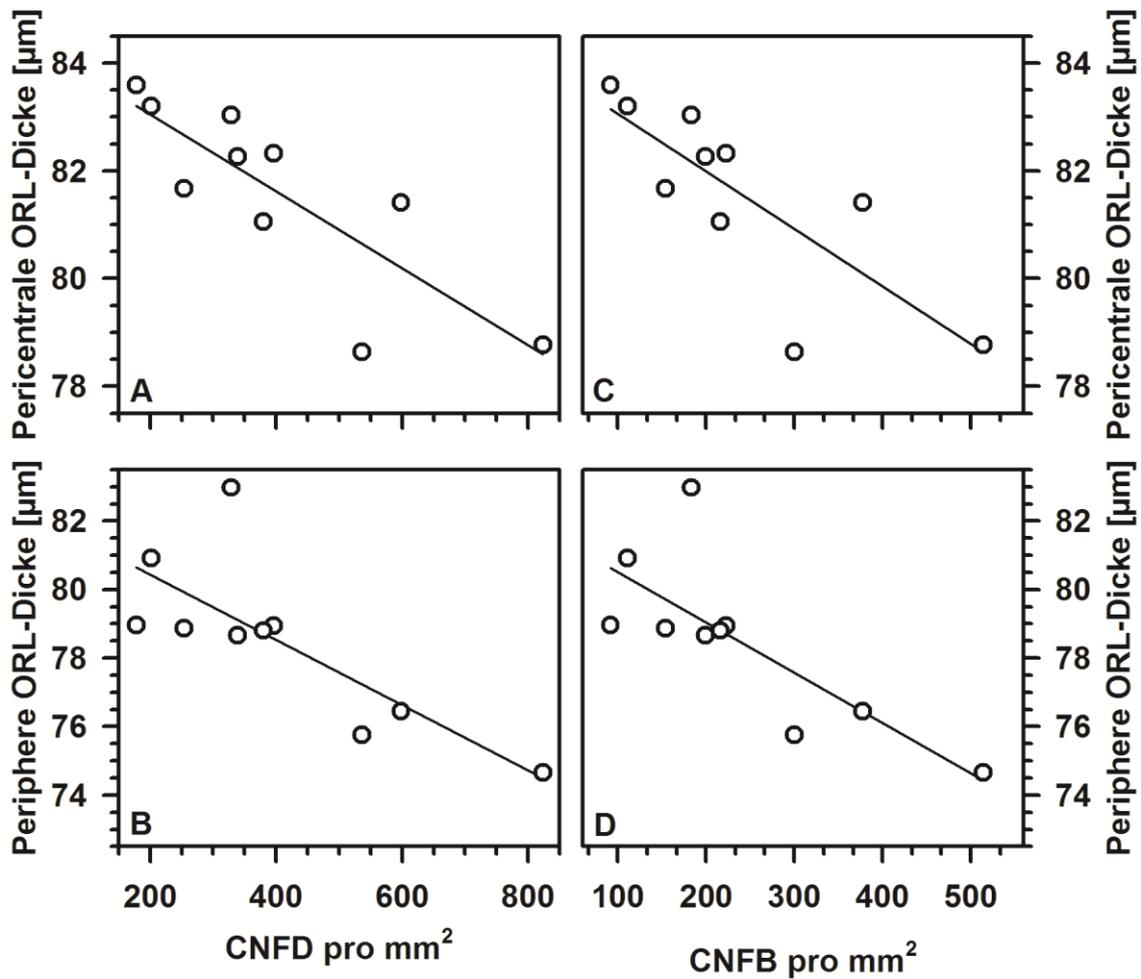


Abb. 24: Bei Kontrollen ist sowohl eine zunehmende Nervenfaserdichte, als auch eine zunehmende Nervenfaserverzweigung mit dünner werdenden Schichtdicken der perizentralen ORL (**A**: $R = 0,806$ und $p = 0,005$; **C**: $R = 0,806$ und $p = 0,005$) und der peripheren ORL (**B**: $R = 0,806$ und $p = 0,005$; **D**: $R = 0,806$; $p = 0,005$) assoziiert.

5 Diskussion

Ziel unserer Studie war es, den ophthalmologischen Status junger T1DM-Patienten zu erfassen, um diesen mit dem gesunder Kontrollen zu vergleichen und hinsichtlich diabetesinduzierter Veränderungen zu analysieren.

Signifikante Unterschiede ergaben sich bei der Autofluoreszenz der Linse und für einige Parameter des cornealen SNP. Darüber hinaus konnten bei diesen Parametern auch signifikante Assoziationen mit krankheitsspezifischen Größen und insbesondere mit der Erkrankungsdauer nachgewiesen werden. Auch die corneale Transparenz nahm mit zunehmender Erkrankungsdauer signifikant ab. Allerdings waren nur bei den Probanden der Kontrollgruppe signifikante Assoziationen zwischen Corneadicke und der CNFTh nachweisbar.

Die Veränderungen des cornealen SNP in Zusammenhang mit den gegenüber Kontrollen unveränderten Corneadicken implizieren eine beginnende Neurodegeneration mit einer damit einhergehenden Entkopplung des physiologischen Gleichgewichts. Daneben erwies sich die Messung der Linsenautofluoreszenz als eine aussagekräftige und geeignete Methode frühzeitige diabetesbedingte Veränderungen zu detektieren. In Verbindung mit der bekannten Assoziation zwischen AGEs und hyperglykämien Stoffwechsellagen erlaubt dieses Verfahren einen individuellen Rückschluss auf den glykämischen Status und kann den Patienten für die Auswirkungen seines Krankheits- und Therapieregimes sensibilisieren.

5.1 Studienergebnisse zu diabetesbedingten frühzeitigen Aberrationen ophthalmologischer Strukturen

5.1.1 Veränderungen der cornealen Transparenz und Dicke

Özyol et al führten bei erwachsenen T2DM-Patienten und Kontrollen eine corneale Densitometrie durch und beschrieben im Vergleich zu den Kontrollen signifikant höhere Werte, also eine Abnahme der cornealen Transparenz, bei den T2DM-Patienten (Özyol und Özyol 2018). Dieser Unterschied konnte bei pädiatrischen T1DM-Patienten nicht beobachtet werden (Tekin et al. 2017). Tekin et al vermuteten, dass die ungleiche Erkrankungsdauer hierfür ursächlich war. Auch in unserer Studie zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen T1DM-Patienten und Kontrollen. Allerdings konnten wir in Übereinstimmung mit

der von Tekin et al geäußerten Hypothese eine signifikante Abnahme der cornealen Transparenz mit Zunahme der Erkrankungsdauer dokumentieren.

Die Analyse der Scheimpflugaufnahmen zeigten keine signifikanten Unterschiede bezüglich der Corneadicke bei T1DM-Patienten und gesunden Kontrollen. Obwohl sich mehrere Studien mit der Auswirkung eines T1DM auf die corneale Morphologie und insbesondere die Corneadicke junger T1DM-Patienten beschäftigen, gibt es keine vergleichbaren Studien, da die Messungen mit unterschiedlichen Verfahren durchgeführt wurden. So konnte bei mikroskopischer Bestimmung dickere zentrale Corneae bei einer gleichzeitigen Abnahme der cornealen Zelldichte bei Diabetespatienten festgestellt werden (Urban et al. 2013, Anbar et al. 2016, Fernandes und Nagpal 2019).

5.1.2 Erhöhte Autofluoreszenzwerte der Linse

Bereits 1976 konnte Helve et al nicht nur gegenüber Kontrollen pathologisch erhöhte Autofluoreszenzwerte bei jungen Diabetespatienten sondern auch die Abhängigkeit der Autofluoreszenz von Alter und Erkrankungsdauer feststellen (Helve und Nieminen 1976). Tierexperimentelle Untersuchungen an diabetischen und gesunden Hamstern haben gezeigt, dass die stärkere Autofluoreszenz der Linse auf eine hyperglykämiebedingte Akkumulation von AGEs zurückzuführen ist (Abiko et al. 1999). Dabei zeigte sich eine signifikant positive Korrelation zwischen Autofluoreszenzwerten und AGE-Gehalt der Linse. Daher postulierten Abiko et al, dass die Messung der Linsenautofluoreszenz einen Langzeitparameter darstellen könnte, der trotz aktuell gut eingestelltem Stoffwechsel die kumulative systemische Belastung durch einen pathologischen Glukosemetabolismus repräsentiert.

Unsere T1DM-Patienten weisen im Vergleich zu Kontrollen signifikant erhöhte Fluoreszenzwerte auf und diese sind stärker mit der Erkrankungsdauer als mit dem aktuellen HbA_{1c} assoziiert.

Ishiko et al kamen 1998 zu ähnlichen Ergebnissen. Sie verglichen die Fluoreszenzwerte der Linsen und Corneae pädiatrischer T1DM-Patienten mit denen von gleichaltrigen gesunden Kontrollen. Sowohl die Autofluoreszenz der Linse als auch die Fluoreszenzwerte der Cornea waren bei den T1DM-Patienten signifikant erhöht und in beiden Kohorten war die Linsenautofluoreszenz signifikant altersabhängig. Die Autoren beschrieben bei T1DM-Patienten eine Korre-

lation zwischen der Linsenautofluoreszenz und der Erkrankungsdauer, konnten aber keine Assoziationen zu den HbA_{1C}-Werten feststellen (Ishiko et al. 1998). Signifikante Abhängigkeiten zwischen Linsenautofluoreszenz und HbA_{1C}-Werten konnten sowohl für T1DM- und T2DM-Patienten im Rahmen der Studie von Larsen et al als auch für T1DM-Patienten in der Studie von Kessel et al beschrieben werden (Larsen et al. 1989, Kessel et al. 2004).

Keine der vorangegangenen Studien erlauben einen Vergleich der Stärke der Assoziationen zwischen den Linsenautofluoreszenzwerten und den HbA_{1C}-Werten bzw. der Erkrankungsdauer, da sich entweder keine Abhängigkeit zeigte (Ishiko et al. 1998) oder die Varianz der Erkrankungsdauer zu gering ist (Kessel et al. 2004).

In Tabelle 9 sind das Design und die Ergebnisse ausgewählter klinischer Studien zu Autofluoreszenzmessungen der Linse bei T1DM- und T2DM-Patienten zusammengefasst.

Tab. 9: Design und Ergebnisse ausgewählter klinischer Studien zur Fluoreszenzmessungen an der Augenlinse von T1DM- und T2DM-Patienten.

| Autor / Jahr | Probanden | Ergebnisse |
|--------------------|--|--|
| Helve et al 1976 | | |
| Bleeker et al 1985 | T1DM- und T2DM-Patienten vs. gesunde Kontrollen | Diabetiker zeigten höhere Autofluoreszenzwerte als gesunde Kontrollen. |
| Mosier et al 1986 | unterschiedlichen | Linsen autofluoreszenz, sowohl von Alter als auch |
| Sparrow et al 1992 | Alters | Erkrankungsdauer abhängig. |
| Ishiko et al 1997 | | |
| Kjer et al 1987 | Erwachsene insulinabhängige T1DM- und T2DM-Patienten mit konstant erhöhtem HbA _{1c} (MW: 10,1%) vs. konstant niedrigem HbA _{1c} (MW: 6,5%) | Patienten mit hohem HbA _{1c} zeigten signifikant höhere Autofluoreszenzwerte der Linse. |
| Kessel et al 2004 | Longitudinale Studie über 14 Jahre mit T1DM-Patienten gleicher Erkrankungsdauer (ED: 6, bzw. 20 Jahre). | Signifikant höhere Autofluoreszenzwerte bei Ausgangsuntersuchung als bei Eingangsuntersuchung. Neben signifikanten Assoziationen zwischen mittleren HbA _{1c} -Werten und Linsen autofluoreszenz fiel auf, dass Patienten die Komplikationen entwickelt hatten, initial höhere Autofluoreszenzwerte besaßen. |

MW= Mittelwert; ED= Erkrankungsdauer

5.1.3 Veränderungen des cornealen subbasalen Nervenplexus

Diabetesbedingte strukturelle Veränderungen des cornealen SNP erwachsener Diabetespatienten konnten bereits in mehreren Studien festgestellt werden (Ishibashi et al. 2012, Zhivov et al. 2013, Stem et al. 2014, Dehghani et al. 2016, von Keyserlingk 2016, Schiano Lomoriello et al. 2019). Hierbei zeigte sich vor allem eine Reduktion der CNFL, der CNFD und der CNFB. Tavakoli et al untersuchten 2011 in einer longitudinalen Studie den Effekt, der Stoffwechseleinstellung auf den cornealen SNP. Nach der Eingangsuntersuchung wurde die Stoffwechseleinstellung der Diabetespatienten (Senkung des HbA_{1c}, des Blutdrucks und der Blutfette) optimiert und nach 24 Monaten eine erneute Untersuchung und Analyse des cornealen SNPs durchgeführt. Es stellte sich heraus, dass die nervale Degeneration des SNPs durch Optimierung der Stoffwechsellage teils reversibel (Anstieg der SNP-Parameter CNFD, CNFB, CNFT₀) und teils irreversibel (konstant niedrigere CNFL-Werte) waren (Tavakoli und Malik 2011). Die aktuellste Studie von Lomoriello et al untersuchte erwachsene T1DM-Patienten und gesunde Kontrollen. Auch in dieser Studie konnte die Reduktion von CNFL, CNFD und CNFB beobachtet werden. Außerdem beschrieben die Autoren signifikante Abhängigkeiten dieser SNP-Parameter von der Erkrankungsdauer, dem Alter bei Diagnosestellung und dem BMI. Eine Korrelation mit dem HbA_{1c} wurde nicht festgestellt (Schiano Lomoriello et al. 2019).

Erstmalig untersuchten Sellers et al 2013 ausschließlich pädiatrische Diabetespatienten (T1DM und T2DM). Bei einem mittleren Alter von 14,5 Jahren und mittlerer Erkrankungsdauer von 6,2 Jahren zeigte sich im Vergleich zu gleichaltrigen Kontrollen bei T1DM-Patienten keine Veränderung cornealer SNP-Parameter (Sellers et al. 2013). Im Gegensatz dazu beobachtete unsere Arbeitsgruppe 2016 in einem vergleichbaren Studiendesign bei pädiatrischen T1DM-Patienten (mittleres Alter: 14,3 Jahre; mittlere Erkrankungsdauer: 5,4 Jahre) signifikant geringere Werte für die CNFL und CNFTh sowie eine erhöhte Tortuosität der cornealen Nervenfasern. Darüber hinaus waren die Unterschiede zwischen T1DM-Patienten und gesunden Kontrollen sowohl unabhängig von der Erkrankungsdauer als auch vom HbA_{1c}-Wert (von Keyserlingk 2016).

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit decken sich zum Teil mit denen früherer Studien unserer Arbeitsgruppe und wir stellten eine signifikante Reduktion der NFF und CNFL fest. Außerdem tendierten T1DM-Patienten zu geringeren Werten der CNFD und CNFB. In Übereinstimmung mit vorangegangenen Studien

weisen diese Veränderungen auf einen frühzeitigen diabetesinduzierten neurodegenerativen Prozess hin.

5.1.4 Neurodegenerative Veränderungen der Retina

Mehrere Studien konnten bei erwachsenen und pädiatrischen Diabetespatienten unabhängig von einer DR eine Reduktion einzelner Retinaschichtdicken feststellen. Dabei waren v.a. die RNFL, die GCL und die gesamte Retinadicke betroffen (van Dijk et al. 2009, Araszkiwicz et al. 2012, El-Fayoumi et al. 2016, Chen et al. 2016, Sohn et al. 2016, Tekin et al. 2018, Götze 2018, Carbonell et al. 2019). Da die Ausdünnung der einzelnen Retinaschichten bereits vor klinisch sichtbaren vaskulären Veränderungen beobachtet werden konnte, wurden diese als Auswirkung einer diabetesbedingten frühzeitigen neuroretinalen Degeneration gewertet. Während die diabetesassoziierte Ausdünnung einzelner Retinaschichten von verschiedenen Autoren einheitlich beschrieben wurde, sind die Ergebnisse zur Assoziation zwischen retinalen und krankheitsspezifischen Parametern diskordant. Während Tekin et al signifikante negative Korrelationen der RNFL-Dicke aller Sektoren mit den HbA_{1c}-Werten und der Erkrankungsdauer feststellte, beobachteten sowohl El-Fayoumi et al als auch Götze et al keine Assoziationen zu HbA_{1c}-Werten oder der Erkrankungsdauer (El-Fayoumi et al. 2016, Götze et al. 2018, Tekin et al. 2018). Sowohl El-Fayoumi et al als auch Götze et al beschrieben beide jedoch signifikante Assoziationen zu der auf das Körpergewicht normierten basalen Insulindosis und stellten fest, dass Patienten mit einer CSII-Therapie zu dünneren Retinaschichten neigten als Patienten mit einer MDI-Therapie.

Während das Alter als physiologische Ursache im Verlauf zu einer neuroretinalen Degeneration führt, beschleunigt der T1DM als pathologische Ursache diesen Prozess (Fletcher et al. 2005, Won et al. 2016). Da in unserer Studie die Kontrollen deutlich älter waren als die T1DM-Patienten, ist anzunehmen, dass der neuroretinale Status der T1DM-Patienten "vorgealtert" ist und es dadurch zu einer Überlagerung der Effekte von Alter und T1DM kommt. Dadurch sind signifikante Unterschiede zwischen den beiden Kohorten nicht mehr deutlich erkennbar, sodass wir weder eine Ausdünnung der Retina, bzw. einzelner Retinaschichten noch signifikante Assoziationen zu krankheitsspezifischen Parametern bei T1DM-Patienten beobachten konnten.

5.2 Diabetesassoziierte frühzeitige Neurodegeneration des Auges

Neben der ausgeprägten Reduktion einzelner SNP-Parametern bei T1DM-Patienten konnten wir in unserer Studie weitere Hinweise für eine frühzeitig stattfindende Neurodegeneration feststellen. Im Gegensatz zu T1DM-Patienten zeigten sich bei gesunden Kontrollen signifikante Abhängigkeiten zwischen der Corneadicke und der CNFTh. Als Teilkomponente der Corneastruktur beeinflusst die Dicke bzw. Größe der Nervenfasern die morphologische Konfiguration der Cornea, sodass sich eine Veränderung der cornealen Nervenfaserdicke auch auf die Corneadicke auswirkt. Darüber hinaus beobachteten wir bei gesunden Kontrollen signifikante Assoziationen zwischen Kenngrößen des SNP und der Dicke einzelner Retinaschichten. Sowohl der SNP als auch die retinalen Schichten sind, trotz der unterschiedlichen Lokalisation und Morphologie, Komponenten des Nervensystems. Möglicherweise ist die bei T1DM-Patienten fehlende Assoziation zwischen morphologischen Parametern von SNP und Cornea, bzw. Retina als Hinweis auf eine diabetesbedingte Entkopplung physiologischer Abhängigkeiten zu werten. In jedem Fall sprechen unsere Beobachtungen für eine frühzeitig beginnende diabetesbedingte Neurodegeneration.

5.3 Die Erkrankungsdauer als relevanter krankheitsspezifischer Parameter diabetesbedingter ophthalmologischer Aberrationen

Im Rahmen dieser Dissertation wurde auch der Zusammenhang zwischen krankheitsspezifischen Parametern und ophthalmologischen Aberrationen untersucht. Auffallend war, dass ein Großteil der erhobenen ophthalmologischen Parameter mit der Erkrankungsdauer assoziiert waren und der aktuelle HbA_{1c} nur einen geringen Einfluss zeigte.

Diese Beobachtungen könnten auf die Existenz eines „metabolischen Gedächtnisses“ hinweisen. Das Konzept des metabolischen Gedächtnisses stützt sich auf Ergebnisse des "Diabetes Control and Complications Trial (DCCT)", der "Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications study (EDIC)" und der dazugehörigen Folgestudien (DCCT Research Group et al. 1993, EDIC Research Group 1999, DCCT/EDIC Research Group 2003, 2016, Albers et al. 2010, DCCT/EDIC Research Group et al. 2015). Der DCCT bestätigte den positiven Effekt der intensivierten Insulintherapie auf die HbA_{1c}-Werte von T1DM-Patienten und zeigte, dass anhaltend hohe HbA_{1c}-Werte das Risiko für das Auf-

treten diabetischer Langzeitkomplikationen erhöhen. Trotz aktuell ähnlicher HbA_{1c}-Werte zeigen die Nachfolgestudien, dass die initial intensiviert behandelten T1DM-Patienten (durch Schulungen und regelmäßig kontrollierte Insulintherapie) im Gegensatz zu den konventionell behandelten T1DM-Patienten ein signifikant geringeres Auftreten und Voranschreiten von diabetesassoziierten mikro- bzw. makrovaskulären Komplikationen hatten. Diese Ergebnisse implizieren zum einen, dass diabetesassoziierte Langzeitkomplikationen durch eine frühzeitige intensive Blutzuckerkontrolle verzögert bzw. verhindert werden können und zum anderen, dass HbA_{1c}-unabhängige Faktoren eine Rolle bei der Entstehung und Progression diabetischer Sekundärkomplikationen spielen. Als HbA_{1c}-unabhängiger Faktor führt das "metabolische Gedächtnis" in den betroffenen Geweben zu einer Akkumulation und "Speicherung" aller durch Hyper- und Hypoglykämie induzierten Schäden. Die mit einer hohen glykämischen Variabilität einhergehende Aktivierung von "alternativen" Stoffwechselwegen (oxidativer Stress, AGE-Produkte und genetische Modifikationen) begünstigen die Entstehung von mikrovaskulären Schäden, bzw. Komorbiditäten (Brownlee 2001, 2005, Ceriello 2012).

Auch unsere Ergebnisse sprechen für die Existenz eines "metabolischen Gedächtnisses", da die okulären Aberrationen stärker mit der Erkrankungsdauer als mit den HbA_{1c}-Werten assoziiert sind. Dabei reflektiert die Erkrankungsdauer die Gesamtheit aller individuellen glykämischen Zustände. Unsere Ergebnisse unterstreichen die enorme Bedeutung von engmaschiger Therapiekontrolle, adäquater Therapieeinstellung und Therapieadhärenz.

5.4 Grenzen der Arbeit

Alle ophthalmologischen Untersuchungen wurden nach ärztlicher Anleitung selbstständig durchgeführt und waren gut an Jugendlichen und jungen Erwachsenen anwendbar. Jedoch kam es bei den CLSM-Aufnahmen zu Qualitätsunterschieden, sodass nur ein Teil der Daten verwertet werden konnte. Ursächlich hierfür waren die im Vergleich zu den anderen diagnostischen Verfahren aufwendigere und von der Erfahrung des Untersuchers deutlich abhängigere Durchführung der Messmethode. Außerdem wurde die CLSM-Untersuchung im Vergleich zu den Methoden teilweise als unangenehm empfunden und erforderte somit eine größere Compliance der Probanden.

Aufgrund des zeitlichen Aufwandes, der teils weiteren Anfahrtswege und der eingeschränkten Compliance Jugendlicher und junger Erwachsener erwies sich die Probandenrekrutierung als überaus schwierig. Daher ist die Probandenanzahl unserer Studie mit 22 T1DM-Patienten und 24 gesunden Kontrollen relativ klein. Gesunde Kontrollen wurden im Wesentlichen unter Kommilitonen und Freunde akquiriert. Dies führte zu einem signifikanten Altersunterschied der beiden Studienkohorten. Diese beiden limitierenden Faktoren müssen bei der Betrachtung unserer Ergebnisse berücksichtigt werden. Trotz der o.g. Einschränkungen weisen unsere Ergebnisse auf deutliche diabetesbedingte Alterationen okulärer Strukturen hin, die zukünftig in longitudinalen Studien genauer untersucht und langfristig beobachtet werden sollten.

5.5 Ausblick

In früheren Studien unserer Arbeitsgruppe wurden die Effekte der erhöhten glykämischen Variabilität auf den kardiovaskulären Status, die Endothelfunktion, das Atemgasmetabolom, den subbasalen Nervenplexus der Cornea und die einzelnen Retinaschichten bei Kindern und Jugendlichen mit einem T1DM untersucht (Heimhalt-El Hamriti et al. 2013, Schreiver et al. 2013, Götze et al. 2018, Trefz et al. 2019a, 2019b). Die vorliegende Arbeit spricht dafür, dass insbesondere das Auge als Zielorgan diabetesbedingter Modifikationen bereits im frühen Krankheitsverlauf prädestiniert ist, hyperglykämiebedingte Veränderungen vergleichsweise einfach und nichtinvasiv darzustellen.

Durch ausgewählte frühzeitige ophthalmologische Untersuchungen können T1DM-bedingte Veränderungen schnell identifiziert werden und diese den Pati-

enten für die schwerwiegenden Folgen der Erkrankung sensibilisieren. Eine Integration dieser ophthalmologischen Verfahren in Vorsorgeuntersuchungen könnte nicht nur zur Erkennung diabetesbedingter Aberrationen beitragen, sondern hätte auch im Hinblick auf das Krankheitsbewusstsein und -verständnis einen wichtigen didaktischen Wert. Dafür ist einerseits Voraussetzung, dass die Untersuchungen minimal bis nichtinvasiv und schnell durchführbar sind. Weiterhin sollten die Ergebnisse leicht interpretierbar sein. Berücksichtigt man diese Anforderungen, stellt unter den verwendeten Verfahren die Autofluoreszenzmessung der Linse eine optimale Screeningmethode dar. Zum einen erfolgt die Untersuchung nichtinvasiv und schnell, zum anderen liefert sie Ergebnisse, die sowohl vergleichsweise einfach und direkt vom Untersucher interpretiert, als auch vom Patienten verstanden werden können. Gerade die Visualisierung der individuellen Werte im Vergleich zu Gleichaltrigen kann junge T1DM-Patienten auf die direkten Folgen der Erkrankung aufmerksam machen und zu einem besseren Krankheitsverständnis mit besserer Therapieadhärenz führen. Auch die durch die CLSM erfassten Veränderungen sind aussagekräftig und könnten als klinischer Parameter in die Beurteilung der Gesamtsituation der T1DM-Patienten einfließen, jedoch eignet sich dieses Verfahren aufgrund der Komplexität der Bildanalyse und -auswertung nicht als eine Screeningmethode. Zudem ist die Interpretation der Befunde für Laien und Betroffene nicht ohne weiteres nachvollziehbar.

Die Ergebnisse unserer Studie suggerieren nicht nur, dass frühzeitige ophthalmologische Untersuchungen als sekundärpräventive Maßnahmen etabliert werden sollten, sondern auch, dass zukünftige Studien longitudinal angesetzt werden sollten/müssten, um den Einfluss krankheitsspezifischer Parameter auf okuläre diabetesbedingte Fröhschäden ausführlicher zu analysieren und zu verstehen.

6 Zusammenfassung

Im Rahmen dieser klinisch experimentellen Querschnittsstudie sollte der ophthalmologische Status bei Jugendlichen und jungen Erwachsenen mit einem T1DM und bei gesunden Kontrollen erhoben und charakterisiert werden. Hierbei standen die Analyse der cornealen Transparenz und Dicke mit der Scheimpflugfotographie, die Analyse der Autofluoreszenzmessung der Linse mit einem Biomikroskop, die Analyse des cornealen SNP mit Konfokaler-Laser-Scanning-Mikroskopie und die Analyse der Retinaschichtdicken mit der Optischen Kohärenztomographie im Vordergrund. Mit diesen Verfahren sollte ermittelt werden, ob bei den T1DM-Patienten diabetesbedingte Aberrationen ophthalmologischer Strukturen auftreten und ob diese signifikante Assoziationen zu krankheitsspezifischen Parametern aufweisen.

Der ophthalmologische Status konnte von 22 T1DM-Patienten und 24 gesunden Kontrollen erhoben werden. Zum Zeitpunkt der Untersuchung hatte keiner der Teilnehmenden klinisch auffällige ophthalmologische oder neurologische Erkrankungen. T1DM-Patienten hatten signifikant höhere Linsenautofluoreszenzwerte als gesunde Kontrollen und es zeigten sich signifikante Assoziationen zu krankheitsspezifischen Parametern, v.a. zu der Erkrankungsdauer. Auch die corneale Transparenz nahm bei den T1DM-Patienten mit Zunahme der Erkrankungsdauer ab. Zudem konnten wir nach Analyse der CLSM-Daten pathologische Veränderungen mit einer Reduktion der NFF und der CNFL bei T1DM-Patienten und deren Assoziationen zu der Erkrankungsdauer feststellen. Auffällig war, dass nur die Kontrollen Korrelationen einzelner ophthalmologischer Parameter zeigten.

Aus unseren Ergebnissen geht hervor, dass es bereits früh im Krankheitsverlauf junger T1DM-Patienten zu diabetesbedingten okulären Veränderungen kommt. Dabei stehen v.a. die frühzeitige Neurodegeneration mit einer damit einhergehenden Entkopplung physiologischer Abhängigkeiten und die erhöhte Linsenautofluoreszenz im Vordergrund. Diese Parameter eignen sich hervorragend als okuläre Biomarker, die im Rahmen der Sekundärprävention als Screeningmethoden und zur Verlaufskontrolle diabetesinduzierter Veränderungen eingesetzt werden könnten.

7 Thesen

1. Am Auge lassen sich bereits bei jungen T1DM-Patienten diabetesbedingte Veränderungen feststellen und quantifizieren.
2. Diabetesbedingte Modifikationen ophthalmologischer Strukturen sind stärker mit der Erkrankungsdauer als mit anderen krankheitsspezifischen Parametern assoziiert.
3. Die corneale Transparenz junger T1DM-Patienten nimmt mit zunehmender Erkrankungsdauer ab.
4. Junge T1DM-Patienten zeigen gegenüber gesunden Kontrollen pathologische Veränderungen des cornealen SNP, die im Sinne einer frühzeitigen diabetesbedingten Neurodegeneration auftreten.
5. Die CLSM ist aufgrund der Komplexität der Bildanalyse und -auswertung, trotz der aussagekräftigen Ergebnisse, als Screeningmethode T1DM-bedingter Fröhschäden nur bedingt geeignet.
6. Junge T1DM-Patienten weisen gegenüber gesunden Kontrollen erhöhte Autofluoreszenzwerte der Linse auf.
7. Aufgrund der einfachen und schnellen Durchführbarkeit, sowie der leichten Interpretation und Verständlichkeit der Ergebnisse, eignet sich die Linsenautofluoreszenz als Biomarker für die Sekundärprävention und zur Verlaufskontrolle diabetesbedingter Stoffwechsellaugen.

8 Literaturverzeichnis

© Heidelberg Engineering GmbH Academy. SPECTRALIS® Spurensuche im OCT.

Abiko T, Abiko A, Ishiko S, Takeda M, Horiuchi S, Yoshida A. 1999. Relationship between autofluorescence and advanced glycation end products in diabetic lenses. *Experimental Eye Research*, 68(3):361–366.

Albers JW, Herman WH, Pop-Busui R, Feldman EL, Martin CL, Cleary PA, Waberski BH, Lachin JM. 2010. Effect of Prior Intensive Insulin Treatment During the Diabetes Control and Complications Trial (DCCT) on Peripheral Neuropathy in Type 1 Diabetes During the Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications (EDIC) Study. *Diabetes Care*, 33(5):1090–1096.

Anbar M, Ammar H, Mahmoud RA. 2016. Corneal Endothelial Morphology in Children with Type 1 Diabetes. *Journal of Diabetes Research*, 2016:7319047.

Araszkiewicz A, Zozulińska-Ziółkiewicz D, Meller M, Bernardczyk-Meller J, Piłaciński S, Rogowicz-Frontczak A, Naskręt D, Wierusz-Wysocka B. 2012. Neurodegeneration of the retina in type 1 diabetic patients. *Polskie Archiwum Medycyny Wewnętrznej*, 122(10):464–470.

AWMF-Leitlinie. 2015. Nationale Versorgungsleitlinie Prävention und Therapie von Netzhautkomplikationen bei Diabetes - Langfassung. 2. 2.

Barber AJ, Lieth E, Khin SA, Antonetti DA, Buchanan AG, Gardner TW. 1998. Neural apoptosis in the retina during experimental and human diabetes. Early onset and effect of insulin. *Journal of Clinical Investigation*, 102(4):783–791.

Barrett EJ, Liu Z, Khamaisi M, King GL, Klein R, Klein BEK, Hughes TM, Craft S, Freedman BI, Bowden DW, et al. 2017. Diabetic Microvascular Disease: An Endocrine Society Scientific Statement. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 102(12):4343–4410.

Bendas A, Rothe U, Kiess W, Kapellen TM, Stange T, Manuwald U, Salzsieder E, Holl RW, Schoffer O, Stahl-Pehe A, et al. 2015. Trends in Incidence Rates during 1999-2008 and Prevalence in 2008 of Childhood Type 1 Diabetes Mellitus in GERMANY – Model-Based National Estimates. *PLoS ONE*, 10(7).

- Bleeker JC, Best JA van, Vrij L, Velde EA van der, Oosterhuis JA. 1986. Autofluorescence of the lens in diabetic and healthy subjects by fluorophotometry. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 27(5):791–794.
- Bron AJ, Sparrow J, Brown NA, Harding JJ, Blakytyn R. 1993. The lens in diabetes. *Eye*, 7 (Pt 2):260–275.
- Brownlee M. 2001. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature*, 414(6865):813–820.
- Brownlee M. 2005. The Pathobiology of Diabetic Complications: A Unifying Mechanism. *Diabetes*, 54(6):1615–1625.
- Burd J, Lum S, Cahn F, Ignatz K. 2012. Simultaneous noninvasive clinical measurement of lens autofluorescence and rayleigh scattering using a fluorescence biomicroscope. *Journal of Diabetes Science and Technology*, 6(6):1251–1259.
- Busted N, Olsen T, Schmitz O. 1981. Clinical observations on the corneal thickness and the corneal endothelium in diabetes mellitus. *The British Journal of Ophthalmology*, 65(10):687–690.
- Cadario F, Prodam F, Bellone S, Trada M, Binotti M, Trada M, Allochis G, Baldelli R, Esposito S, Bona G, et al. 2009. Transition process of patients with type 1 diabetes (T1DM) from paediatric to the adult health care service: a hospital-based approach. *Clinical Endocrinology*, 71(3):346–350.
- Cahn F, Burd J, Ignatz K, Mishra S. 2014. Measurement of Lens Autofluorescence Can Distinguish Subjects With Diabetes From Those Without. *Journal of Diabetes Science and Technology*, 8(1):43–49.
- Carbonell M, Alonso N, Castelblanco E, Real J, Ramírez-Morros A, Simó R, Hernández C, Jurjo C, Traveset A, Valldeperas X, et al. 2019. Assessment of Inner Retinal Layers and Choroidal Thickness in Type 1 Diabetes Mellitus: A Cross-Sectional Study. *Journal of Clinical Medicine*, 8(9).
- Ceriello A. 2012. The emerging challenge in diabetes: the „metabolic memory“. *Vascular Pharmacology*, 57(5–6):133–138.
- Chen Y, Li J, Yan Y, Shen X. 2016. Diabetic macular morphology changes may occur in the early stage of diabetes. *BMC ophthalmology*, 16:12.

Cheung ATW, Price AR, Duong PL, Ramanujam S, Gut J, Larkin EC, Chen PCY, Wilson DM. 2002. Microvascular Abnormalities in Pediatric Diabetic Patients. *Microvascular Research*, 63(3):252–258.

Cruzat A, Qazi Y, Hamrah P. 2017. In Vivo Confocal Microscopy of Corneal Nerves in Health and Disease. *The ocular surface*, 15(1):15–47.

Danne T, Kordonouri O, Enders I, Hövener G. 1998. Monitoring for retinopathy in children and adolescents with type 1 diabetes. *Acta Paediatrica. Supplement*, 425:35–41.

DCCT Research Group. 1993. The Effect of Intensive Treatment of Diabetes on the Development and Progression of Long-Term Complications in Insulin-Dependent Diabetes Mellitus. *New England Journal of Medicine*, 329(14):977–986.

DCCT Research Group, Nathan DM, Genuth S, Lachin J, Cleary P, Crofford O, Davis M, Rand L, Siebert C. 1993. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *The New England Journal of Medicine*, 329(14):977–986.

DCCT/EDIC Research Group. 2003. Sustained effect of intensive treatment of type 1 diabetes mellitus on development and progression of diabetic nephropathy: the Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications (EDIC) study. *JAMA*, 290(16):2159–2167.

DCCT/EDIC Research Group. 2016. Intensive Diabetes Treatment and Cardiovascular Outcomes in Type 1 Diabetes: The DCCT/EDIC Study 30-Year Follow-up. *Diabetes Care*, 39(5):686–693.

DCCT/EDIC Research Group, Lachin JM, White NH, Hainsworth DP, Sun W, Cleary PA, Nathan DM. 2015. Effect of intensive diabetes therapy on the progression of diabetic retinopathy in patients with type 1 diabetes: 18 years of follow-up in the DCCT/EDIC. *Diabetes*, 64(2):631–642.

De Clerck EEB, Schouten JSAG, Berendschot TTJM, Kessels AGH, Nuijts RMMA, Beckers HJM, Schram MT, Stehouwer CDA, Webers CAB. 2015. New ophthalmologic imaging techniques for detection and monitoring of neurodegenerative changes in diabetes: a systematic review. *The Lancet Diabetes & Endocrinology*, 3(8):653–663.

Dehghani C, Pritchard N, Edwards K, Russell AW, Malik RA, Efron N. 2016. Abnormal Anterior Corneal Morphology in Diabetes Observed Using In Vivo Laser-scanning Confocal Microscopy. *The Ocular Surface*, 14(4):507–514.

van Dijk HW, Kok PHB, Garvin M, Sonka M, DeVries JH, Michels RPJ, van Veltoven MEJ, Schlingemann RO, Verbraak FD, Abramoff MD. 2009. Selective Loss of Inner Retinal Layer Thickness in Type 1 Diabetic Patients with Minimal Diabetic Retinopathy. *Investigative ophthalmology & visual science*, 50(7):3404–3409.

Ding SLS, Kumar S, Mok PL. 2017. Cellular Reparative Mechanisms of Mesenchymal Stem Cells for Retinal Diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(8).

EDIC Research Group. 1999. Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications (EDIC). Design, implementation, and preliminary results of a long-term follow-up of the Diabetes Control and Complications Trial cohort. *Diabetes Care*, 22(1):99–111.

El-Fayoumi D, Eldine NMB, Esmael AF, Ghalwash D, Soliman HM. 2016. Retinal Nerve Fiber Layer and Ganglion Cell Complex Thicknesses Are Reduced in Children With Type 1 Diabetes With No Evidence of Vascular Retinopathy. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 57(13):5355–5360.

Fernandes SI, Nagpal S. 2019. Corneal thickness and endothelial cell density in children with type 1 diabetes mellitus. *Oman Journal of Ophthalmology*, 12(3):186–190.

Fischer DC, Stachs O. 2018. Diabetische Retinopathie - Neurodegenerative Veränderungen der Retina. *Diabetes-Forum*, 30(12):14–18.

Fletcher EL, Phipps JA, Wilkinson-Berka JL. 2005. Dysfunction of retinal neurons and glia during diabetes. *Clinical and Experimental Optometry*, 88(3):132–145.

Freedom Meditech. 2014. CLEARPATH DS-120® Fluoreszenz-Biomikroskop Benutzerhandbuch.

Gardner TW, Abcouwer SF, Barber AJ, Jackson GR. 2011. An Integrated Approach to Diabetic Retinopathy Research. *Archives of ophthalmology*, 129(2):230–235.

Garlick RL, Mazer JS, Chylack LT, Tung WH, Bunn HF. 1984. Nonenzymatic glycation of human lens crystallin. Effect of aging and diabetes mellitus. *Journal of Clinical Investigation*, 74(5):1742–1749.

Gartner S, Henkind P. 1978. Neovascularization of the iris (rubeosis iridis). *Survey of Ophthalmology*, 22(5):291–312.

Götze A. 2018. Die optische Kohärenztomographie zur Diagnostik früher neurodegenerativer Veränderungen der Retina bei pädiatrischen Patienten mit einem Diabetes mellitus Typ 1 oder einer chronischen Nierenerkrankung. Universität Rostock.

Götze A, von Keyserlingk S, Peschel S, Jacoby U, Schreiber C, Köhler B, Allgeier S, Winter K, Röhlig M, Jünemann A, et al. 2018. The corneal subbasal nerve plexus and thickness of the retinal layers in pediatric type 1 diabetes and matched controls. *Scientific Reports*, 8.

Grehn F. 2012. *Augenheilkunde*. 29. Auflage. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag.

Haak T, Gözl S, Fritsche A, Fuchtenbusch M, Siegmund T, Schnellbacher E, Klein H, Uebel T, Droßel D. 2018. Therapie des Typ-1-Diabetes: Kurzfassung der S3-Leitlinie der AWMF. *Diabetologie und Stoffwechsel*, 13(S 02):120–130.

Harding JJ, Dilley KJ. 1976. Structural proteins of the mammalian lens: A review with emphasis on changes in development, aging and cataract. *Experimental Eye Research*, 22(1):1–73.

Heimhalt-El Hamriti M, Schreiver C, Noerenberg A, Scheffler J, Jacoby U, Haffner D, Fischer D-C. 2013. Impaired skin microcirculation in paediatric patients with type 1 diabetes mellitus. *Cardiovascular Diabetology*, 12:115.

Heinrich PC, Müller M, Graeve L. 2014. *Löffler/Petrides Biochemie und Pathobiochemie*. 9. Auflage. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag.

Helve J, Nieminen H. 1976. Autofluorescence of the human diabetic lens in vivo. *American Journal of Ophthalmology*, 81(4):493–494.

Herold G. 2016. *Innere Medizin 2017*. Köln: Herold-Verlag.

Hien P, Böhm B, Hrsg. 2007. *Insulintherapie. Diabetes-Handbuch: Eine Anleitung für Praxis und Klinik*. 139–189, Berlin Heidelberg: Springer-Verlag.

Hürter P, Danne T. 2005. *Diabetes bei Kindern und Jugendlichen: Grundlagen - Klinik - Therapie*. 6. Auflage. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag.

Ishibashi F, Okino M, Ishibashi M, Kawasaki A, Endo N, Kosaka A, Uetake H. 2012. Corneal nerve fiber pathology in Japanese type 1 diabetic patients and its correlation with antecedent glycemic control and blood pressure. *Journal of Diabetes Investigation*, 3(2):191–198.

Ishiko S, Yoshida A, Mori F, Abiko T, Kitaya N, Konno S, Kato Y. 1998. Corneal and lens autofluorescence in young insulin-dependent diabetic patients. *Ophthalmologica. Journal International D'ophtalmologie. International Journal of Ophthalmology. Zeitschrift Fur Augenheilkunde*, 212(5):301–305.

Jeitler K, Horvath K, Berghold A, Gratzner TW, Neeser K, Pieber TR, Siebenhofer A. 2008. Continuous subcutaneous insulin infusion versus multiple daily insulin injections in patients with diabetes mellitus: systematic review and meta-analysis. *Diabetologia*, 51(6):941–951.

Kallinikou D, Soldatou A, Tsentidis C, Louraki M, Kanaka-Gantenbein C, Kanavakis E, Karavanaki K. 2019. Diabetic neuropathy in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus: Diagnosis, pathogenesis, and associated genetic markers. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews*, e3178.

Kessel L, Sander B, Dalgaard P, Larsen M. 2004. Lens fluorescence and metabolic control in type 1 diabetic patients: a 14 year follow up study. *The British Journal of Ophthalmology*, 88(9):1169–1172.

von Keyserlingk S. 2016. Eine klinisch experimentelle Querschnittstudie zur Charakterisierung des subbasalen Nervenplexus der Kornea: Untersuchung von gesunden Kindern und Jugendlichen sowie von pädiatrischen Patienten mit einem Typ 1 Diabetes Mellitus oder einer chronischen Niereninsuffizienz. Universität Rostock.

Klein BEK, Klein R, Moss SE. 1985. Prevalence of Cataracts in a Population-based Study of Persons with Diabetes Mellitus. *Ophthalmology*, 92(9):1191–1196.

Köhler B, Allgeier S, Eberle F, Guthoff R, Maier S, Stachs O, Zhivov A, Ziegler D, Bretthauer G. 2011. Bildrekonstruktion des subbasalen Nervenplexus der Kornea mit erweitertem Bildfeld aus Fokusserien eines konfokalen Laser-Scanning-Mikroskops. *Klinische Monatsblätter für Augenheilkunde*, 228(12):1060–1066.

Kolb H, Fernandez E, Nelson R. 2012. Simple Anatomy of the Retina. *Webvision: The Organization of the Retina and Visual System*.

Kromeyer-Hauschild K, Wabitsch M, Kunze D, Geller F, Geiß HC, Hesse V, von Hippel A, Jaeger U, Johnsen D, Korte W, et al. 2001. Perzentile für den Body-mass-Index für das Kindes- und Jugendalter unter Heranziehung verschiedener deutscher Stichproben. *Monatsschrift Kinderheilkunde*, 149(8):807–818.

Larsen M, Kjer B, Bendtson I, Dalgaard P, Lund-Andersen H. 1989. Lens fluorescence in relation to metabolic control of insulin-dependent diabetes mellitus. *Archives of Ophthalmology*, 107(1):59–62.

Lee S-S, Han H-S, Kim H. 2010. A 5-yr follow-up nerve conduction study for the detection of subclinical diabetic neuropathy in children with newly diagnosed insulin-dependent diabetes mellitus. *Pediatric Diabetes*, 11(8):521–528.

Lutty GA. 2013. Effects of Diabetes on the Eye. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 54(14):81–87.

- Malik RA, Kallinikos P, Abbott CA, van Schie CHM, Morgan P, Efron N, Boulton AJM. 2003. Corneal confocal microscopy: a non-invasive surrogate of nerve fibre damage and repair in diabetic patients. *Diabetologia*, 46(5):683–688.
- McNamara NA, Brand RJ, Polse KA, Bourne WM. 1998. Corneal function during normal and high serum glucose levels in diabetes. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 39(1):3–17.
- Müller LJ, Vrensen GF, Pels L, Cardozo BN, Willekens B. 1997. Architecture of human corneal nerves. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 38(5):985–994.
- Müller LJ, Marfurt CF, Kruse F, Tervo TMT. 2003. Corneal nerves: structure, contents and function. *Experimental Eye Research*, 76(5):521–542.
- Müller M, Eppinger M. 2016. Pädiatrie: Für Studium und Praxis - 2017/18. 3. Auflage. Medizinische Verlags- und Informationsdienste.
- National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Children and Adolescents. 2004. The Fourth Report on the Diagnosis, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure in Children and Adolescents. *PEDIATRICS*, 114(2):555–576.
- Negi A, Vernon SA. 2003. An overview of the eye in diabetes. *Journal of the Royal Society of Medicine*, 96(6):266–272.
- Neu A, Bürger-Büsing J, Danne T, Dost A, Holder M, Holl R, Holterhus P-M, Kapellen T, Karges B, Kordonouri O, et al. 2018. Diagnostik, Therapie und Verlaufskontrolle des Diabetes mellitus im Kindes- und Jugendalter. *Diabetologie und Stoffwechsel*, 13(S 02):131–143.
- Occhipinti JR, Mosier MA, Burstein NL. 1986. Autofluorescence and Light Transmission in the Aging Crystalline Lens. *Ophthalmologica*, 192(4):203–209.
- OCULUS Optikgeräte GmbH. 2018. Benutzerhandbuch Pentacam - Mess- und Auswertesysteme für den Vorderabschnitt des Auges.
- Özyol P, Özyol E. 2018. Assessment of Corneal Backward Light Scattering in Diabetic Patients. *Eye & Contact Lens*, 44 Suppl 1:92–96.

Rehany U, Ishii Y, Lahav M, Rumelt S. 2000. Ultrastructural changes in corneas of diabetic patients: an electron-microscopy study. *Cornea*, 19(4):534–538.

Rohrbach JM, Feudner EM, Szurman P. 2008. Teil 2: Pathognomonische Linsentrübungen als Folge von Systemerkrankungen und Verletzungen des Auges. 13.

Schiano Lomoriello D, Abicca I, Parravano M, Giannini D, Russo B, Frontoni S, Picconi F. 2019. Early Alterations of Corneal Subbasal Plexus in Uncomplicated Type 1 Diabetes Patients. *Journal of Ophthalmology*, 2019:9818217.

Schiebler TH, Hrsg. 2005. Anatomie: Histologie, Entwicklungsgeschichte, makroskopische und mikroskopische Anatomie, Topographie. 9. Auflage. Berlin: Springer-Verlag.

Schreiver C, Jacoby U, Watzer B, Thomas A, Haffner D, Fischer D-C. 2013. Glycaemic variability in paediatric patients with type 1 diabetes on continuous subcutaneous insulin infusion (CSII) or multiple daily injections (MDI): a cross-sectional cohort study. *Clinical Endocrinology*, 79(5):641–647.

Schulze A, Lamparter J, Hoffmann EM. 2009. Neue Möglichkeiten der hochauflösenden optischen Kohärenztomographie in der Glaukomdiagnostik. *Der Ophthalmologe*, 106(8):702–708.

Schünke M, Schulte E, Schumacher U. 2012. Prometheus: Kopf, Hals und Neuroanatomie; Lernatlas Anatomie. 3. Auflage. Stuttgart: Thieme.

Sellers E a. C, Clark I, Tavakoli M, Dean HJ, McGavock J, Malik RA. 2013. The acceptability and feasibility of corneal confocal microscopy to detect early diabetic neuropathy in children: a pilot study. *Diabetic Medicine: A Journal of the British Diabetic Association*, 30(5):630–631.

Shih KC, Lam KS-L, Tong L. 2017. A systematic review on the impact of diabetes mellitus on the ocular surface. *Nutrition & Diabetes*, 7(3):e251.

Sohn EH, van Dijk HW, Jiao C, Kok PHB, Jeong W, Demirkaya N, Garmager A, Wit F, Kucukevciloglu M, van Velthoven MEJ, et al. 2016. Retinal neurodegeneration may precede microvascular changes characteristic of diabetic retinopathy in diabetes mellitus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 113(19):E2655-2664.

Sparrow JM, Bron AJ, Brown NA, Neil HA. 1992. Autofluorescence of the crystalline lens in early and late onset diabetes. *The British Journal of Ophthalmology*, 76(1):25–31.

Stem MS, Hussain M, Lentz SI, Raval N, Gardner TW, Pop-Busui R, Shtein RM. 2014. Differential reduction in corneal nerve fiber length in patients with type 1 or type 2 diabetes mellitus. *Journal of Diabetes and Its Complications*, 28(5):658–661.

Tavakoli M, Malik RA. 2011. Corneal Confocal Microscopy: A Novel Non-invasive Technique to Quantify Small Fibre Pathology in Peripheral Neuropathies. *Journal of Visualized Experiments*, (47).

Tekin K, Inanc M, Kurnaz E, Bayramoglu E, Aydemir E, Koc M, Aycan Z. 2017. Objective Evaluation of Corneal and Lens Clarity in Children With Type 1 Diabetes Mellitus. *American Journal of Ophthalmology*, 179:190–197.

Tekin K, Inanc M, Kurnaz E, Bayramoglu E, Aydemir E, Koc M, Kiziltoprak H, Aycan Z. 2018. Quantitative evaluation of early retinal changes in children with type 1 diabetes mellitus without retinopathy. *Clinical and Experimental Optometry*, 101(5):680–685.

Thorpe SR, Baynes JW. 2003. Maillard reaction products in tissue proteins: New products and new perspectives. *Amino Acids*, 25(3–4):275–281.

Trefz P, Obermeier J, Lehbrink R, Schubert JK, Miekisch W, Fischer D-C. 2019a. Exhaled volatile substances in children suffering from type 1 diabetes mellitus: results from a cross-sectional study. *Scientific Reports*, 9(1):15707.

Trefz P, Schmidt SC, Sukul P, Schubert JK, Miekisch W, Fischer D-C. 2019b. Non-Invasive Assessment of Metabolic Adaptation in Paediatric Patients Suffering from Type 1 Diabetes Mellitus. *Journal of Clinical Medicine*, 8(11).

Trepel M. 2017. *Neuroanatomie: Struktur und Funktion*. 7. Auflage. München: Urban & Fischer Verlag/Elsevier GmbH.

Urban B, Raczyńska D, Bakunowicz-Łazarczyk A, Raczyńska K, Krętowska M. 2013. Evaluation of Corneal Endothelium in Children and Adolescents with Type 1 Diabetes Mellitus. *Mediators of Inflammation*, 2013:1–6.

Wegener A, Laser-Junga H. 2009. Photography of the anterior eye segment according to Scheimpflug's principle: options and limitations – a review. *Clinical & Experimental Ophthalmology*, 37(1):144–154.

Welsch U, Kummer W, Deller T. 2018. *Histologie - Das Lehrbuch: Zytologie, Histologie und mikroskopische Anatomie*. 5. Auflage. München: Urban & Fischer Verlag/Elsevier GmbH.

Winter K, Scheibe P, Guthoff RF, Allgeier S, Stachs O. 2017. Morphometrische Charakterisierung des subbasalen Nervenplexus: Detektion und Analyse von Nervenfasernetzwerken. *Der Ophthalmologe*, 114(7):608–616.

Won JY, Kim SE, Park Y-H. 2016. Effect of age and sex on retinal layer thickness and volume in normal eyes. *Medicine*, 95(46):e5441.

Zhivov A, Winter K, Hovakimyan M, Peschel S, Harder V, Schober H-C, Kundt G, Baltrusch S, Guthoff RF, Stachs O. 2013. Imaging and Quantification of Subbasal Nerve Plexus in Healthy Volunteers and Diabetic Patients with or without Retinopathy. *PLoS ONE*, 8(1).

9 Anhang

Tab. 10: Übersicht der OCT-Ergebnisse von Kontrollen und T1DM-Patienten.

| | Kontrollen (8m/16f) | T1DM (9m/13f) |
|-------------------------------|--------------------------|--------------------------|
| ALL [μm] | | |
| zentral | 283,46 (248,42 - 318,72) | 279,16 (238,49 - 332,98) |
| perizentral | 346,19 (309,29 - 357,74) | 345,71 (323,38 - 371,11) |
| peripher | 300,37 (272,59 - 322,64) | 298,66 (286,54 - 329,84) |
| RNFL [μm] | | |
| zentral | 13,50 (8,36 - 16,04) | 13,81 (7,36 - 16,17) |
| perizentral | 22,88 (18,05 - 27,21) | 22,56 (20,29 - 28,9) |
| peripher | 36,75 (30,79 - 52,56) | 38,43 (32,50 - 52,06) |
| GCL [μm] | | |
| zentral | 18,51 (12,42 - 28,92) | 19,02 (10,07 - 34,33) |
| perizentral | 52,97 (46,34 - 57,05) | 52,72 (47,61 - 59,30) |
| peripher | 34,92 (29,95 - 38,96) | 35,38 (29,48 - 41,44) |
| IPL [μm] | | |
| zentral | 23,35 (16,31 - 31,15) | 23,47 (17,54 - 34,03) |
| perizentral | 42,22 (38,51 - 46,39) | 42,40 (37,19 - 46,62) |
| peripher | 29,06 (23,83 - 33,55) | 28,58 (24,50 - 33,41) |
| INL [μm] | | |
| zentral | 21,37 (10,00 - 26,76) | 21,14 (11,17 - 27,59) |
| perizentral | 40,18 (35,61 - 44,17) | 39,37 (35,71 - 46,99) |
| peripher | 33,50 (27,93 - 37,07) | 32,92 (30,21 - 37,91) |
| OPL [μm] | | |
| zentral | 25,58 (16,31 - 39,63) | 29,01 (20,52 - 37,88) |
| perizentral | 33,43 (28,87 - 39,41) | 32,18 (28,77 - 41,65) |
| peripher | 26,85 (23,75 - 30,51) | 26,02 (24,15 - 29,51) |
| ONL [μm] | | |
| zentral | 92,55 (66,31 - 109,19) | 86,03 (59,96 - 103,56) |
| perizentral | 72,61 (53,16 - 80,72) | 67,52 (53,61 - 83,82) |
| peripher | 61,21 (44,15 - 71,80) | 59,07 (48,51 - 72,07) |
| RPE [μm] | | |
| zentral | 16,47 (13,56 - 22,24) | 17,60 (14,26 - 20,35) |
| perizentral | 13,94 (12,52 - 17,22) | 14,27 (11,97 - 18,66) |
| peripher | 12,95 (11,74 - 14,80) | 13,32 (11,77 - 16,41) |

| | Kontrollen (8m/16f) | T1DM (9m/13f) |
|---------------------------------------|----------------------------|--------------------------|
| IRL [μm] | | |
| zentral | 197,71 (152,89 - 228,57) | 189,03 (150,77 - 246,81) |
| perizentral | 264,38 (233,68 - 275,55) | 262,13 (243,75 - 289,65) |
| peripher | 222,11 (197,72 - 241,23) | 221,80 (207,31 - 249,44) |
| ORL [μm] | | |
| zentral | 87,92 (82,28 - 95,86) | 89,46 (84,31 - 98,24) |
| perizentral | 81,54 (75,61 - 84,52) | 81,62 (78,00 - 86,34) |
| peripher | 78,73 (74,65 - 82,97) | 79,47 (75,50 - 83,29) |
| PRL [μm] | | |
| zentral | 71,63 (66,78 - 79,22) | 72,34 (68,93 - 79,66) |
| perizentral | 66,38 (62,25 - 70,82) | 67,61 (63,58 - 70,03) |
| peripher | 65,41 (61,86 - 69,14) | 66,19 (62,28 - 69,19) |

10 Danksagungen

Meinen Doktoreltern, Frau Prof. Dr. rer. nat. Dagmar-Christiane Fischer und Herrn Prof. Dr. rer. nat. Oliver Stachs, danke ich für die Vergabe meines Dissertationsthemas, die stetige Unterstützung und die zahlreichen aufmunternden und guten Ratschläge während des gesamten Promotionsvorhabens. Sie standen mir immerzu mit Rat und Tat zur Seite und ohne sie wäre die Verwirklichung dieser Dissertation nicht möglich gewesen.

Bedanken möchte ich mich bei allen Teilnehmern unserer Studie, die die Verwirklichung dieser Dissertation erst möglich gemacht haben. Außerdem möchte ich mich bei allen Mitarbeitern der Universitäts-Augenklinik der Universitätsmedizin Rostock für die kollegiale Zusammenarbeit und Unterstützung bedanken.

Herrn J. Iwanczuk danke ich für die enge Zusammenarbeit und die Auswertung der Scheimpflugaufnahmen.

Dr. Bernd Köhler und seiner Arbeitsgruppe und Dr. Karsten Winter danke ich für die fachliche Expertise und deren Hilfe bei der quantitativen Bildanalyse der CLSM Aufnahmen.

Bei Anja Rahn möchte ich mich für ihre unablässliche Hilfsbereitschaft, die unzähligen Worte der Ermutigung und die herzlichen und bereichernden Gespräche bedanken.

Ich möchte mich zudem bei meiner Familie und Freunden bedanken, die mich immer unterstützt und in meinem Vorhaben ermutigt und bestärkt haben.

Zu guter Letzt gilt mein besonderer Dank meinen Eltern, die nicht nur mein Promotionsvorhaben, sondern meinen gesamten bisherigen Werdegang stets unterstützt und ermöglicht haben. Mit dem richtigen Maß an "Wurzeln und Flügeln" gaben sie mir jederzeit Rückhalt, Vertrauen und Freiheit, sodass ich persönlich wachsen und meine Ziele erreichen konnte.

11 Curriculum vitae

Persönliche Daten

Name, Vorname: Dost, Janina
Geburtsdatum/ -ort: 22. Oktober 1991 in Hamburg
Adresse: Sredzkistraße 38, 10435 Berlin

Studium und Schule

10/2014 – 05/2019 Studium der Humanmedizin, klinischer Abschnitt
Universität Rostock
10/2012 – 10/2014 Studium der Humanmedizin, vorklinischer Abschnitt
Universität des Saarlandes
08/2009 – 06/2011 Allgemeine Hochschulreife
Ökumenisches Gymnasium zu Bremen
07/2008 – 07/2009 AS-Levels
Richmond College, Twickenham, Surrey, England

Berufserfahrungen und Praktisches Jahr

02/2020 – heute Assistenzärztin in der Abteilung für Pädiatrie
St. Joseph Krankenhaus Berlin Tempelhof GmbH
01/2019 – 04/2019 PJ-Tertial in der Geriatrie
Krankenhaus Bethel Berlin gGmbH
09/2018 – 12/2018 PJ-Tertial in der Klinik für Kinder- und Jugendmedi-
zin
St. Joseph Krankenhaus Berlin Tempelhof GmbH
07/2018 – 09/2018 PJ-Tertial in der Unfallchirurgie
Krankenhaus Bozen, Südtiroler Sanitätsbetrieb
05/2018 – 07/2018 PJ-Tertial in der Allgemein- und Visceralchirurgie
Krankenhaus Bethel Berlin gGmbH

Wissenschaftliche Arbeiten

05/2016 – 02/2021 Anfertigung dieser Promotion zur Analyse diabetes-
induzierter Veränderungen des Auges bei Jugendli-
chen und jungen Erwachsenen mit einem Diabetes
mellitus Typ 1

12 Eidesstattliche Erklärung

Hiermit erkläre ich eidesstattlich, die vorliegende Arbeit selbstständig ohne fremde Hilfe, nur unter Nutzung der angegebenen Quellen und Hilfsmittel angefertigt und weder diese noch eine andere Arbeit zuvor an einer Hochschule als Promotionsschrift eingereicht zu haben.

Berlin, den 15.02.2021

Janina Dost