

# Änderung der retinalen Sauerstoffsättigung bei Gesunden und in frühen Stadien der diabetischen Retinopathie nach Atmung von 100 % Sauerstoff

## Change of Retinal Oxygen Saturation in Healthy Subjects and in Early Stages of Diabetic Retinopathy during Breathing of 100% Oxygen

### Autoren

D. Schweitzer<sup>1</sup>, A. Lasch<sup>1</sup>, S. van der Vorst<sup>1</sup>, K. Wildner<sup>1</sup>, M. Hammer<sup>1</sup>, U. Voigt<sup>1</sup>, M. Jütte<sup>2</sup>, U. A. Müller<sup>3</sup>

### Institute

<sup>1</sup> Experimentelle Ophthalmologie, Augenklinik der FSU Jena

<sup>2</sup> Augenarztpraxis M. Jütte, Jena

<sup>3</sup> Klinik für Innere Medizin III der FSU Jena

### Schlüsselwörter

- Sauerstoffsättigung
- diabetische Retinopathie
- Sauerstoffatmung
- Imaging-Spektrometrie
- Mikrozirkulation
- Altersabhängigkeit
- Blutzucker
- HbA1c
- Diabetes
- Auge

### Key words

- oxygen saturation
- diabetic retinopathy
- oxygen respiration
- imaging spectrometry
- microcirculation
- age-dependence
- blood glucose
- HbA1c
- diabetes
- eye

**eingereicht** 7.8.2006

**akzeptiert** 10.4.2007

### Bibliografie

**DOI** 10.1055/s-2007-963156  
Klin Monatsbl Augenheilkd  
2007; 224: 402–410 © Georg  
Thieme Verlag KG Stuttgart ·  
New York · ISSN 0023-2165

### Korrespondenzadresse

**HDoz. Dr.-Ing. habil.**

**Dietrich Schweitzer**

Experimentelle Ophthalmologie,  
Augenklinik der Friedrich-  
Schiller-Universität Jena  
Bachstr. 18  
07743 Jena  
Dietrich.Schweitzer@  
Med.Uni-Jena.de

### Zusammenfassung



**Hintergrund:** Störungen der Mikrozirkulation sind eine Ursache für das Entstehen diabetischer Veränderungen in der Netzhaut. Während umfangreiche Studien der strömungsphysikalischen Parameter bekannt sind, ist es nicht klar, wie sich das Alter, die Diabetesdauer, der Blutzucker, das glykosilierte Hämoglobin oder der systemische Blutdruck auf die Sauerstoffsättigung in Anfangsstadien der diabetischen Retinopathie auswirken.

**Material und Methoden:** Die arterielle und die venöse Sauerstoffsättigung (aOS, vOS) wurde bei 28 Augengesunden (NP) ( $30,3 \pm 13,1$  Jahre), bei 31 Typ-I-Diabetikern (T I) ( $42,2 \pm 12,9$  Jahre) und bei 25 Typ-II-Diabetikern (T II) ( $58,9 \pm 6,9$  Jahre) mit milder, höchstens mäßiger nichtproliferativer diabetischer Retinopathie vor Atmung von 100% Sauerstoff, während 6 Minuten Sauerstoffatmung und 10 Minuten nach Wiederatmen von Luft mit dem Jenaer Ophthalmospektrometer gemessen.

**Ergebnisse:** Bereits vor Sauerstoffatmung stieg die venöse OS bei Diabetikern mit zunehmendem Alter. Während Sauerstoffatmung erhöhte sich die vOS für alle Gruppen um mehr als 20%. Die arteriovenöse Differenz der OS nach Wiederatmen von Luft fiel bei Diabetikern mit dem Alter, während für Augengesunde keine Altersabhängigkeit nachgewiesen werden konnte. Bei Typ-II-Diabetikern stieg die vOS vor Provokation mit zunehmendem HbA1c an. Mit zunehmendem systolischen oder diastolischen Blutdruck stieg die venöse Sauerstoffsättigung bei Diabetikern an.

**Schlussfolgerungen:** Augengesunde und Diabetiker in frühen Stadien der diabetischen Retinopathie zeigen vergleichbare Änderungen der Sauerstoffsättigung bei Atmung von reinem Sauerstoff. Messungen der venösen Sauerstoffsättigung sind aussagekräftiger als arterielle.

### Abstract



**Background:** Disturbances in the microcirculation are a source of retinal diabetic alterations. Comprehensive studies of blood flow parameters have been performed, but it is not known how ageing, duration of diabetes, blood sugar, glycosylated haemoglobin and elevated systemic blood pressure act in the early stages of diabetic retinopathy.

**Material and Methods:** The arterial and venous oxygen saturation (aOS, vOS) were measured with a Jena Ophthalmospectrometer in 28 healthy subjects (NP) ( $30.3 \pm 13.1$  years), 31 Type I diabetics (T I) ( $42.2 \pm 12.9$  years), and in 25 Type II diabetics (T II) ( $58.9 \pm 6.9$  years), suffering from mild or moderate non-proliferative diabetic retinopathy, before, during breathing of 100% oxygen for 6 minutes, and after respiration of air during 10 minutes.

**Results:** Before oxygen breathing, the venous oxygen saturation in diabetics increased with age. During breathing of 100% oxygen, the vOS increased considerably by 20% in all groups. The arterio-venous difference of oxygen saturation was decreased with age in diabetics, but there was no dependence on age in normals. In Type II diabetics, the vOS before oxygen breathing was increased with HbA1c. There was also a positive correlation between vOS and blood pressure before oxygen breathing.

**Conclusion:** Healthy subjects and diabetics in the early stages of diabetic retinopathy exhibit comparable changes of oxygen saturation during breathing of 100% oxygen. Measurements of venous OS are most evident. First differences were detectable between diabetics and normals in the normalisation after oxygen respiration.

Erste Unterschiede zwischen Diabetikern und Augengesunden sind in der Regel beim Erreichen des Normalzustandes nach Sauerstoffprovokation nachweisbar.

## Einführung

Untersuchungen zur Pathologie der retinalen Mikrozirkulation sind seit Langem Gegenstand internationaler Forschungen [7, 12, 14, 17, 18]. In grundlegenden Arbeiten wurde gezeigt, dass der Blutvolumendurchfluss bei Patienten mit diabetischer Retinopathie gegenüber Gesunden erhöht ist [8–10, 13, 15, 16]. Bei diesen Untersuchungen wurde der Blutvolumendurchfluss  $Q$  in  $\text{mm}^3/\text{s}$  aus Messungen der Blutgeschwindigkeit in  $\text{mm}/\text{s}$  und des Gefäßdurchmessers, aus denen der Gefäßquerschnitt in  $\text{mm}^2$  bestimmt wird, berechnet. Messungen der strömungsphysikalischen Parameter des Blutes gestatten einen Einblick in Regelungsmechanismen des Gefäßsystems. Um Aussagen über Angebot und Verbrauch an Sauerstoff zu gewinnen, ist es erforderlich, die Sauerstoffsättigung in retinalen Arteriolen und Venolen zu bestimmen.

Gleichzeitige Messungen des Blutvolumendurchflusses und der Sauerstoffsättigung erfordern die Verfügbarkeit von Anordnungen, mit denen beide Größen erfasst werden können. Bisher liegen in der Literatur noch keine derartigen kombinierten Untersuchungsergebnisse vor.

Neben diesen statischen Untersuchungen der Mikrozirkulation und der Versorgungsverhältnisse geben Provokationen des Metabolismus Auskunft über das Regelverhalten der Mikrozirkulation und des Stoffaustauschs. Prinzipiell möglich ist eine Erhöhung des Angebots an Sauerstoff durch Atmung von 100% Sauerstoff oder eine Vergrößerung des Sauerstoffverbrauchs z.B. durch Gabe von Glukose. In dieser Studie wurde die Änderung der Sauerstoffsättigung in retinalen Gefäßen von Gesunden und von Diabetikern mit milder nichtproliferativer diabetischer Retinopathie nach Atmung von 100% Sauerstoff miteinander verglichen.

## Material und Methoden

### Bestimmung der Sauerstoffsättigung

Die Methodik zur Bestimmung der Sauerstoffsättigung, einschließlich der Ergebnisse an Augengesunden, ist in [20, 21] beschrieben und wird hier nur kurz erläutert.

Bei der Messung der Sauerstoffsättigung mit dem Jenaer Ophthalmospektrometer wird ein schlitzförmiges Feld ( $1,5 \text{ mm} \times 40 \mu\text{m}$ ) am Fundus mit weißem Licht beleuchtet. Dieses Feld wird so positioniert, dass möglichst gleichzeitig eine Arteriole und eine Venole überdeckt sind. Das beleuchtete Feld wird konfokal auf den Eintrittspalt eines Imaging-Spektrografen abgebildet. Am Ausgang des Spektrografen befindet sich eine intensivierete CCD-Kamera (charge coupled device), die ein orts- und spektral aufgelöstes Imaging-Spektrum aufzeichnet. Ein derartiges Imaging-Spektrum besteht aus den Reflexionsspektren aller Orte längs des beleuchteten Spaltes mit einer Ortsauflösung von  $7,8 \mu\text{m}$ . Die Spektren werden mit einer Auflösung von 2 nm detektiert. Zur Kompensation der spektralen Eigenschaften von Lichtquelle und Detektorsystem werden die Reflexionsmessungen vom Augenhintergrund auf einen Weißstandard normiert.

Durch Anpassen einer Modellfunktion im absorptionsdominierten Spektralbereich zwischen 520 und 586 nm an ein normiertes Reflexionsspektrum kann die Sauerstoffsättigung in Arteriolen und Venolen, aber auch im Kapillarbereich bestimmt werden. Dazu sind mittels nichtlinearer Ausgleichsrechnung die Werte von  $S$ ,  $n$ ,  $c \cdot d$  und  $OS$  in der Modellfunktion nach Gleichung (1) so zu bestimmen, dass die Fehlerquadratsumme zwischen gemessenem Spektrum und Modellfunktion ein Minimum erreicht:

$$E = S + n \cdot \log \frac{1}{\lambda} + c \cdot d \cdot [\epsilon_{Hb}(\lambda) + OS \cdot (\epsilon_{HbO2}(\lambda) - \epsilon_{Hb}(\lambda))] \quad (1)$$

In dieser Gleichung bedeuten:

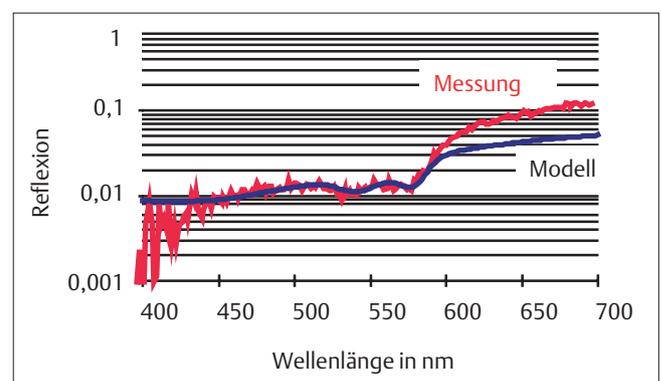
- $E$  – Extinktion, negativer Logarithmus der Reflexion
- $OS$  – Sauerstoffsättigung
- $\epsilon_{Hb(\lambda)}$  – spektraler Extinktionskoeffizient von reduziertem Hämoglobin
- $\epsilon_{HbO2(\lambda)}$  – spektraler Extinktionskoeffizient von oxygeniertem Hämoglobin
- $S$  – Logarithmus der Lichtschwächung infolge Streuung
- $n$  – Exponent der Wellenlängenabhängigkeit der Streuung
- $c \cdot d$  – Konzentrations-Schichtdicken-Produkt

• **Abb. 1** zeigt die Anpassung eines Spektrums durch die Modellfunktion.

Durch die Auswertung der Reflexion an 38 Wellenlängen kann die Sauerstoffsättigung auch von verrauschten Spektren bestimmt werden.

Ein Teil der Messungen, die bei mäßiger nichtproliferativer diabetischer Retinopathie erfolgten, wurde mit einem vereinfachten Verfahren ausgeführt, bei dem die Reflexionswerte von nur 4 Wellenlängen zur Berechnung der Sauerstoffsättigung herangezogen wurden [11].

Aus dem Produkt von Blutvolumendurchfluss und arterieller Sauerstoffsättigung erhält man entsprechend Gleichung (2) das Angebot an Sauerstoff in  $\text{ng}/\text{s}$ , das dem zu versorgenden Gewebeareal zur Verfügung gestellt wird [20]:



**Abb. 1** Anpassung der Modellfunktion nach Gleichung (1) an ein gemessenes Spektrum im absorptionsdominierten Bereich zwischen 520 und 586 nm.

$$\text{Angebot} = Q \cdot aOS \cdot c \cdot \eta \quad (2)$$

mit:

Angebot in ng/s

$Q$  – Volumendurchfluss in  $\text{mm}^3/\text{s}$

$aOS$  – arterielle Sauerstoffsättigung in %

$c$  – Hämoglobinkonzentration im Blut in g/l (Mol/l)

$\eta$  – Transportwirkungsgrad (1 Mol Hämoglobin transportiert 4 Mol Sauerstoff)

Wird in dieser Beziehung die arterielle Sauerstoffsättigung durch die arteriovenöse Differenz der Sauerstoffsättigung ( $a-vDOS$ ) ersetzt, so lässt sich nach Gleichung (3) der Sauerstoffverbrauch in dem versorgten Gewebeareal berechnen:

$$\text{Verbrauch} = Q \cdot a-vDOS \cdot c \cdot \eta \quad (3)$$

Unter der Annahme, dass sich Blut bei einer Sauerstoffsättigung von 95% in einer Arteriole mit einem Durchmesser von 100  $\mu\text{m}$  mit einer Geschwindigkeit von 1,2 mm/s bewegt, wird das entsprechende Gewebe mit 2,5 ng Sauerstoff pro Sekunde versorgt. Beträgt die Sauerstoffsättigung in der zugehörigen Vene noch 60%, so wird mit der arteriovenösen Differenz der Sauerstoffsättigung von 35% ein Sauerstoffverbrauch von 0,8 ng/s berechnet.

### Charakterisierung der Probanden

Die Studie wurde durch die Ethikkommission der FSU Jena unter der Bearbeitungsnummer 0384–11/99 vom 19.9.2000 genehmigt.

Die retinale Sauerstoffsättigung wurde bei den in **Tab. 1** angegebenen Personen gemessen.

**Tab. 1** Probandenübersicht

	Gesunde	Typ-I-Diabetiker	Typ-II-Diabetiker
mittleres Alter in Jahren (Altersspanne)	30,3 (19–62)	42,2 (18–71)	58,9 (32–71)
Blutzucker in mmol/l		9,74 (2–25)	9,32 (4–18)
HbA1c in %		7,82 (6–11)	8,58 (5–13)
Anzahl	28	31	25

Einschlusskriterien für Gesunde waren:

- ▶ keine internistischen Erkrankungen wie Hypertonie, Diabetes oder Vaskulitiden,
- ▶ keine Veränderungen am Augenhintergrund,
- ▶ kein Katarakt und Glaukom,
- ▶ keine vorausgegangene Augenoperation oder Photokoagulation,
- ▶ genügend erweiterbare Pupille (> 6 mm).

Patienten mit Typ-I- und Typ-II-Diabetes wurden in die Studie eingeschlossen, wenn eine durch klinische Untersuchung gesicherte milde oder mäßige nichtproliferative diabetische Retinopathie vorlag. Neben einer genügend erweiterbaren Pupille waren eine gute Beurteilbarkeit der Gefäßverhältnisse und eine gute Compliance während der Messungen erforderlich. Keine Messungen wurden an Diabetikern mit anderen Stadien der diabetischen Retinopathie vorgenommen oder wenn weitere Sys-

temerkrankungen bestanden, Augenoperationen vorgenommen worden waren, Fundusveränderungen durch Gefäßverschlüsse bestanden oder ein intraokularer Druck > 21 mmHg im Nonkontaktverfahren gemessen wurde.

### Ablauf der Messungen

Vor Beginn der Messungen am Auge wurden der systemische Blutdruck, der Blutzucker und die Konzentration von glykosyliertem Hämoglobin (HbA1c) bei Diabetikern bestimmt. Um einen möglichen Einfluss des Rauchens zu erfassen, wurden alle Probanden nach ihren Rauchgewohnheiten befragt.

Zur Messung der Sauerstoffsättigung wurde die Pupille nur eines Auges des Probanden mit Tropicamid (Mydriaticum Stulln, PharmaStulln GmbH, Nabburg) geweitet.

In einer Baselinemessung wurden je 6 Messungen am gleichen Ort einer retinalen Arteriole und an einer dem gleichen Quadranten zugeordneten Venole vorgenommen. Der Messort befand sich im Abstand von 0,5 bis 1 PD vom Papillenrand. Es wurde angestrebt, die Sauerstoffsättigung in parallel verlaufenden Arteriolen und Venolen gleichzeitig zu messen. Sofern es möglich war, wurde die Sauerstoffsättigung in je einem Paar aus Arteriole mit zugehöriger Venole in jedem Fundusquadranten bestimmt. Zur Auswertung wurden die Mittelwerte der arteriellen und der venösen Sauerstoffsättigung aus maximal 36 Einzelmessungen pro Auge herangezogen.

Im Anschluss an die Baselinemessungen erfolgte die Atmung von 100% Sauerstoff für 6 Minuten. Nach dieser Zeit wurden ebenfalls 6 Wiederholungsmessungen an den gleichen Gefäßen unter Beibehalten der Sauerstoffatmung vorgenommen. Nach Ende dieser Messungen atmeten die Probanden wieder Luft und nach 10 Minuten wurden wieder je 6 Messungen an den ausgewählten Gefäßen vorgenommen.

### Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung erfolgte mittels des Programmsystems SPSS [5], wobei zunächst die Untersuchung auf Normalverteilung der Messwerte mittels des Kolmogorow-Smirnow-Tests vorgenommen wurde. Da diese vorlag, wurde für Vergleiche innerhalb der gleichen Gruppe der t-Test für gepaarte Stichproben, für Vergleiche zwischen den Probandengruppen der t-Test für ungepaarte Stichproben verwendet. Gleichheit der Varianzen wurde mittels des Levene-Tests geprüft.

Als Maß für die Korrelation der Sauerstoffsättigungswerte mit Einflussgrößen wie Alter, Diabetesdauer, Blutdruck, Blutzucker, HbA1c wurde das Bestimmtheitsmaß  $R_{sq}$  herangezogen. Dabei ist das Bestimmtheitsmaß das Quadrat des Korrelationskoeffizienten. Es gibt an, welcher Anteil an der Gesamtstreuung der Messwerte durch die betrachtete lineare Regression beschrieben wird.

### Ergebnisse

#### Mittlere Sauerstoffsättigungen vor, während und nach Atmung von 100% Sauerstoff

Die arteriellen und venösen Sauerstoffsättigungen sowie die arteriovenösen Differenzen der Sauerstoffsättigung zu den Messzeitpunkten vor, während und nach Sauerstoffatmung sind in den **Tab. 2–4** dargestellt.

Obwohl das arterielle Blut bereits vor Sauerstoffprovokation weitestgehend gesättigt ist, führt die Atmung von reinem Sauerstoff für Gesunde sowie für Typ-I- und Typ-II-Diabetiker zu

**Tab. 2** Änderung der arteriellen Sauerstoffsättigung infolge 100% Sauerstoffatmung (Mittelwert ± Standardabweichung in %)

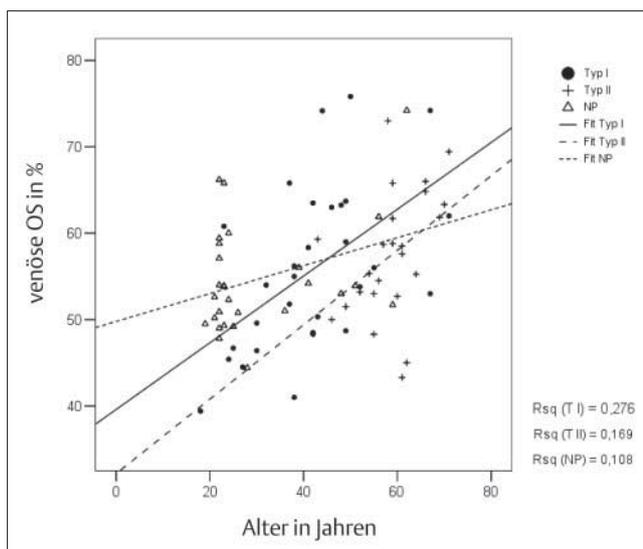
	vor O <sub>2</sub> -Atmung	während O <sub>2</sub> -Atmung	nach O <sub>2</sub> -Atmung
Gesunde	95,2 ± 4,5	98,8 ± 4,3	95,8 ± 3,9
Typ-I-Diabetiker	95,8 ± 4,9	99,6 ± 3,8	94,6 ± 3,5
Typ-II-Diabetiker	93,3 ± 6	97,1 ± 6	94,4 ± 5,6

**Tab. 3** Änderung der venösen Sauerstoffsättigung infolge 100% Sauerstoffatmung (Mittelwert ± Standardabweichung in %)

	vor O <sub>2</sub> -Atmung	während O <sub>2</sub> -Atmung	nach O <sub>2</sub> -Atmung
Gesunde	54,7 ± 8	77,8 ± 7,9	55,1 ± 8,1
Typ-I-Diabetiker	55,7 ± 9,5	76,8 ± 8,9	56,1 ± 9,9
Typ-II-Diabetiker	57,5 ± 6,5	78,5 ± 5,8	59 ± 6,8

**Tab. 4** Änderung der arteriovenösen Differenz der Sauerstoffsättigung infolge 100% Sauerstoffatmung (Mittelwert ± Standardabweichung in %)

	vor O <sub>2</sub> -Atmung	während O <sub>2</sub> -Atmung	nach O <sub>2</sub> -Atmung
Gesunde	40 ± 5,7	21,8 ± 5,2	40,4 ± 6,5
Typ-I-Diabetiker	39,8 ± 10,9	23,7 ± 8,4	38,3 ± 9,9
Typ-II-Diabetiker	35,8 ± 9,9	18,8 ± 9	35,2 ± 10,1



**Abb. 2** Abhängigkeit der venösen Sauerstoffsättigung vor Sauerstoffatmung vom Probandenalter.

einem signifikanten Anstieg um mindestens 3,6% ( $p < 0,018$ ). Die während Sauerstoffatmung gemessene arterielle Sauerstoffsättigung sinkt nach Wiederatmen von Luft für Gesunde und für Typ-I-Diabetiker hochsignifikant gesichert ( $p < 0,0001$ ) wieder ab. Für Typ-II-Diabetiker ist 10 Minuten nach Luftatmung der Abfall der arteriellen Sauerstoffsättigung noch nicht statistisch gesichert ( $p = 0,07$ ). Zwischen den Probandengruppen besteht kein statistisch gesicherter Unterschied in der arteriellen Sauerstoffsättigung zu den Zeitpunkten vor, während und nach Sauerstoffatmung.

Im Gegensatz zur leichten Erhöhung der arteriellen Sauerstoffsättigung steigt die mittlere venöse Sauerstoffsättigung für alle Probandengruppen während Sauerstoffatmung um mehr als 20% an. Sowohl dieser Anstieg als auch der Abfall nach Wiederatmen von Luft sind hochsignifikant ( $p < 0,0001$ ). Innerhalb aller Gruppen besteht kein statistisch gesicherter Unterschied der venösen Sauerstoffsättigung zwischen den Messungen vor und nach Sauerstoffatmung.

Gegenüber dem Vergleichswert der Gesunden ist die venöse Sauerstoffsättigung 10 Minuten nach Wiederatmung von Luft bei Typ-II-Diabetikern grenzwertig ( $p = 0,043$ ) erhöht. Weitere Unterschiede zwischen den Probandengruppen sind für die venösen Sauerstoffsättigungen nicht nachweisbar.

Die arteriovenöse Differenz der Sauerstoffsättigung verringert sich während Sauerstoffatmung hochsignifikant ( $p < 0,0001$ ) für alle Gruppen um mehr als 16%. Der Anstieg der arteriovenösen Differenz der Sauerstoffsättigung nach Wiederatmung von Luft ist ebenfalls für alle Gruppen signifikant. Zwischen Typ-I- und Typ-II-Diabetikern ist die arteriovenöse Differenz der Sauerstoffsättigung während Sauerstoffatmung grenzwertig ( $p = 0,034$ ) unterschiedlich. Zwischen Gesunden und Typ-II-Diabetikern konnte ein grenzwertiger Unterschied ( $p = 0,043$ ) in der arteriovenösen Differenz der Sauerstoffsättigung nach Wiederatmen von Luft nachgewiesen werden.

Wurden die Sauerstoffsättigungen in einzelnen retinalen Quadranten betrachtet, so bestand zwischen Gesunden (53,8%) und Typ-I-Diabetikern (48,4%) ein grenzwertiger Unterschied ( $p = 0,04$ ) in der venösen Sauerstoffsättigung des temporal oberen Quadranten vor Sauerstoffprovokation.

Zwischen Gesunden (52,3%) und Typ-II-Diabetikern (59,9%) bestand eine gesicherte Differenz ( $p = 0,015$ ) in der venösen Sauerstoffsättigung des nasal oberen Quadranten nach Wiederatmung von Luft. Zwischen Typ-I- (52,2%) und Typ-II-Diabetikern (59,5%) konnten grenzwertige Unterschiede ( $p = 0,046$ ) in der venösen Sauerstoffsättigung vor Sauerstoffprovokation im nasal oberen Quadranten sowie in der venösen Sauerstoffsättigung (Typ I = 70,1%, Typ II = 75,4%) ( $p = 0,049$ ) und der arteriovenösen Differenz der Sauerstoffsättigung (Typ I = 28,6%, Typ II = 23,5%) ( $p = 0,042$ ) im temporal unteren Quadranten während Sauerstoffatmung nachgewiesen werden.

### Abhängigkeit der retinalen Sauerstoffsättigung von Einflussfaktoren

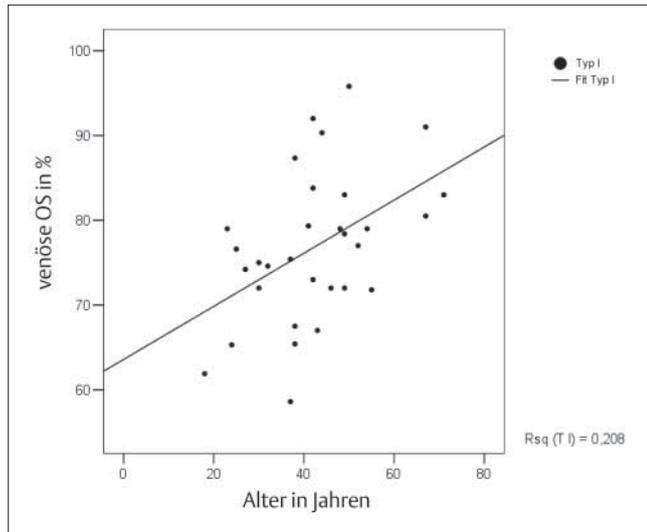
#### Altersabhängigkeit der Sauerstoffsättigung

Da sich das mittlere Alter zwischen Gesunden, Typ-I- sowie Typ-II-Diabetikern deutlich unterschied, mussten die Ergebnisse aus den Gruppenvergleichen zurückhaltend bewertet werden. Zur detaillierteren Betrachtung von Veränderungen in der retinalen Mikrozirkulation zwischen Gesunden und Diabetikern wurde deshalb untersucht, in welchem Maße das Probandenalter zu berücksichtigen ist.

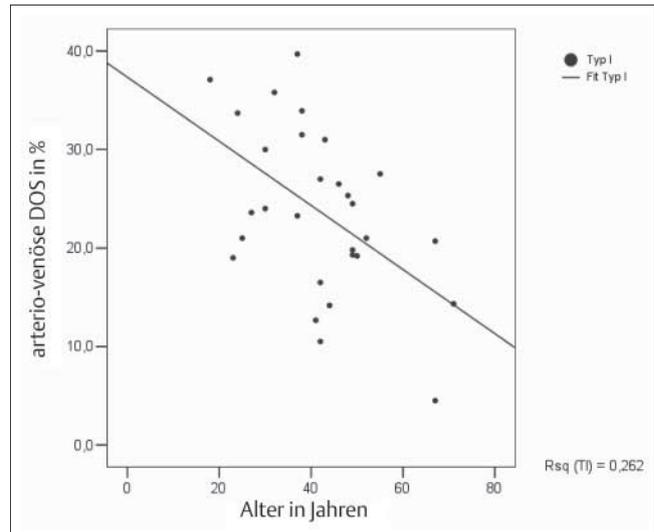
Dabei ergab sich weder für Gesunde noch für Diabetiker eine Altersabhängigkeit der arteriellen Sauerstoffsättigung.

Im Gegensatz dazu stieg die venöse Sauerstoffsättigung vor Sauerstoffprovokation trotz der kleinen Werte für das Bestimmtheitsmaß  $R_sq$  für Typ-I-Diabetiker gesichert ( $p = 0,003$ ) und für Typ-II-Diabetiker grenzwertig ( $p = 0,046$ ) mit dem Alter an. Bei Gesunden war der leichte altersabhängige Anstieg nicht gesichert (Abb. 2).

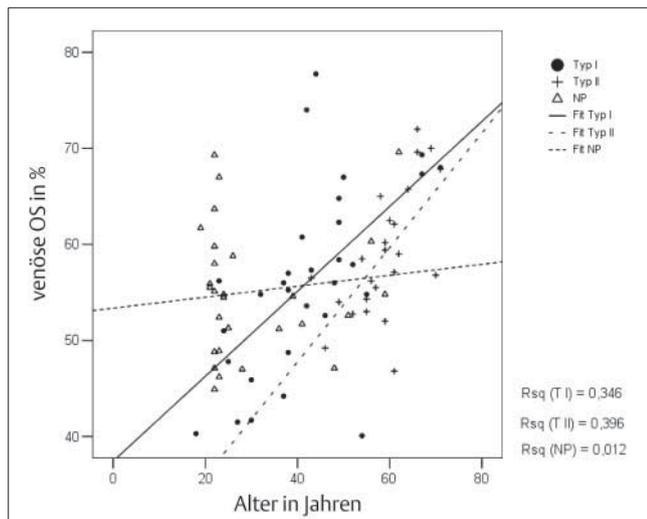
Während Sauerstoffatmung stieg die venöse Sauerstoffsättigung nur für Typ-I-Diabetiker mit dem Alter an ( $p = 0,01$ ) (Abb. 3).



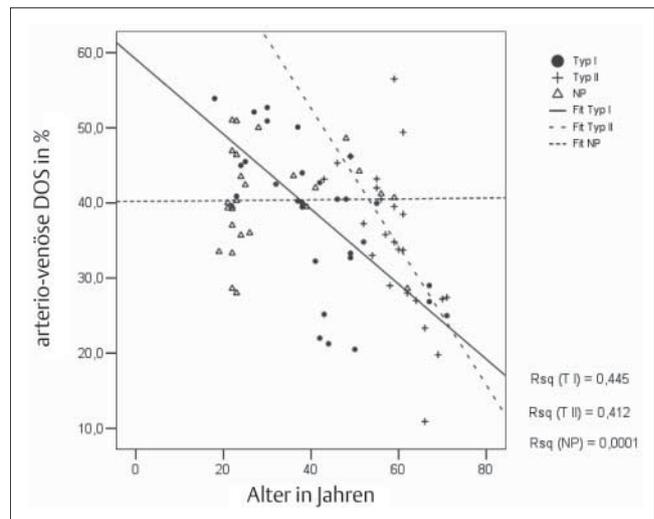
**Abb. 3** Abhängigkeit der venösen Sauerstoffsättigung vom Alter der Typ-I-Diabetiker während Atmung von reinem Sauerstoff.



**Abb. 5** Abhängigkeit der arteriovenösen Differenz der Sauerstoffsättigung zum Zeitpunkt während Sauerstoffatmung vom Alter der Typ-I-Diabetiker.



**Abb. 4** Abhängigkeit der venösen Sauerstoffsättigung vom Probandenalter zum Zeitpunkt 10 Minuten nach Wiederatmen von Luft.



**Abb. 6** Abhängigkeit der arteriovenösen Differenz der Sauerstoffsättigung 10 Minuten nach Wiederatmen von Luft vom Probandenalter.

Ein deutlich unterschiedliches Verhalten zwischen Diabetikern und Gesunden konnte nach Wiederatmung von Luft nachgewiesen werden (● **Abb. 4**). Danach blieb die venöse Sauerstoffsättigung bei Typ-I-Diabetikern ( $p=0,001$ ) und bei Typ-II-Diabetikern ( $p=0,001$ ) mit zunehmendem Alter deutlich erhöht. Für Gesunde konnte keine Altersabhängigkeit der venösen Sauerstoffsättigung nach Wiederatmen von Luft nachgewiesen werden.

Entsprechend Gleichung (4) und (5) zeigten die arteriovenösen Differenzen der Sauerstoffsättigung (a-v DOS) vor Sauerstoffprovokation

für Typ-I-Diabetiker:

$$\text{a-v DOS in \%} = -0,343 \text{ in \%}/\text{Jahr} \times \text{Alter in Jahren} + 54,2\% \quad (p=0,024) \quad (4)$$

und für Typ-II-Diabetiker:

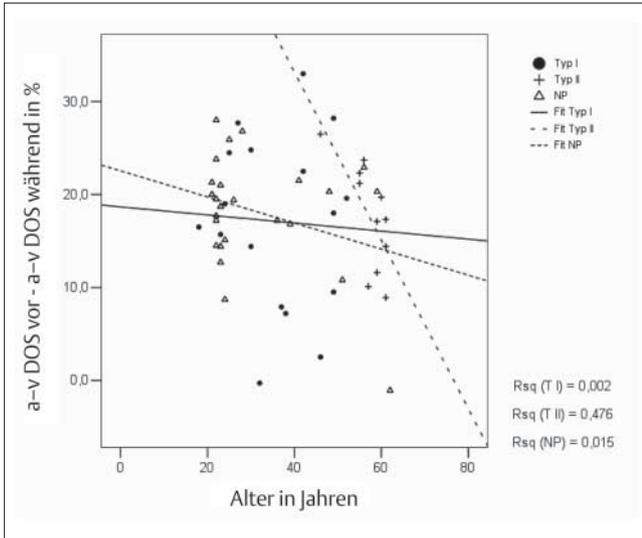
$$\text{a-v DOS in \%} = -0,615 \text{ in \%}/\text{Jahr} \times \text{Alter in Jahren} + 72,2\% \quad (p=0,037) \quad (5)$$

tendenziell eine altersabhängige Verringerung.

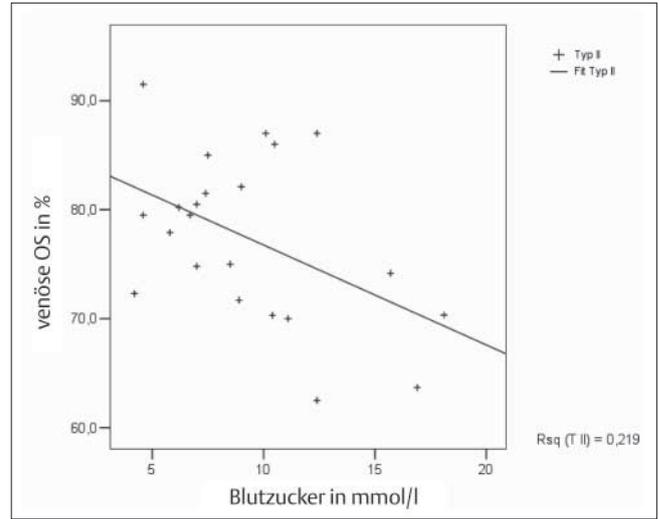
Während Sauerstoffatmung war nur für Typ-I-Diabetiker eine altersabhängige Verringerung der arteriovenösen Differenz der Sauerstoffsättigung nachweisbar ( $p=0,005$ ) (● **Abb. 5**).

10 Minuten nach Wiederatmen von Luft zeigten sich zwischen Gesunden und Diabetikern deutliche Unterschiede in der Altersabhängigkeit der arteriovenösen Differenz der Sauerstoffsättigung. Während für Gesunde keine Altersabhängigkeit nachweisbar war, blieb die geringe arteriovenöse Differenz der Sauerstoffsättigung, die sich während Sauerstoffatmung eingestellt hatte, mit zunehmendem Alter der Diabetiker (Irrtumswahrscheinlichkeit für den altersabhängigen Anstieg  $p=0,0001$  für Typ I und  $p=0,001$  für Typ II) auch bei Wiederatmung von Luft erhalten (● **Abb. 6**).

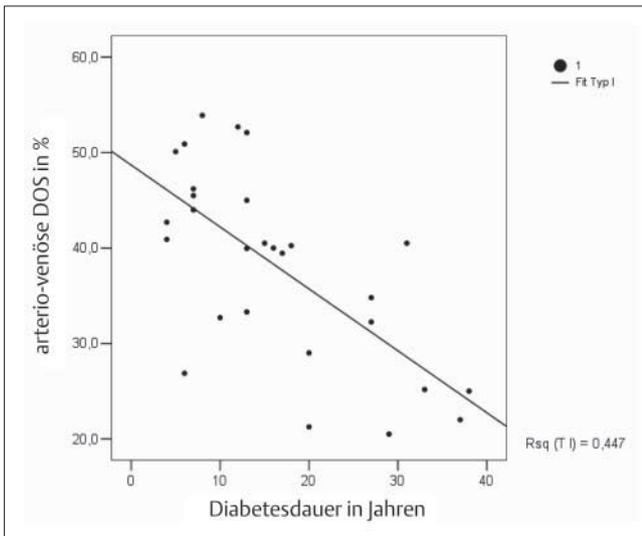
Interessant ist weiterhin, dass die Differenz der arteriovenösen Sauerstoffdifferenzen, die vor und während Sauerstoffatmung gemessen wurden, nur für Typ-II-Diabetiker einen altersabhängigen Abfall zeigte ( $p=0,019$ ) (● **Abb. 7**).



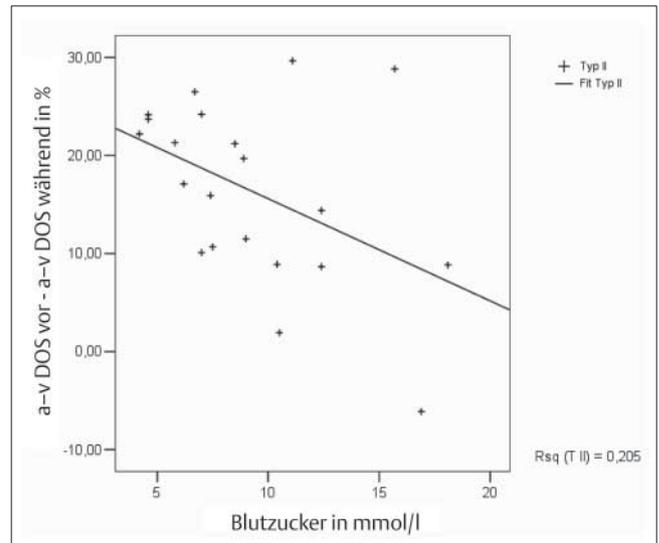
**Abb. 7** Abhängigkeit der Differenz der arteriovenösen Sauerstoffsättigungsdifferenzen zu den Zeitpunkten vor und während Atmung von reinem Sauerstoff.



**Abb. 9** Abhängigkeit der venösen Sauerstoffsättigung vom Blutzucker während Atmung von reinem Sauerstoff bei Typ-II-Diabetikern.



**Abb. 8** Abhängigkeit der arteriovenösen Differenz der Sauerstoffsättigung 10 Minuten nach Wiederatmen von Luft von der Diabetesdauer bei Typ-I-Diabetikern.



**Abb. 10** Einfluss des Blutzuckers auf den Unterschied der arteriovenösen Differenz der Sauerstoffsättigung zu den Zeitpunkten vor minus während Atmung von reinem Sauerstoff für Typ-II-Diabetiker.

### Abhängigkeit der Sauerstoffsättigung von der Diabetesdauer

Abhängigkeiten der Sauerstoffsättigung von der Diabetesdauer ließen sich nur für den Zeitpunkt nach Wiederatmen von Luft nachweisen. So sank nur für Typ-I-Diabetiker die arterielle Sauerstoffsättigung mit der Dauer des Diabetes ( $p = 0,017$ ), während die venöse Sauerstoffsättigung anstieg ( $p = 0,016$ ). Dementsprechend sank die arteriovenöse Differenz der Sauerstoffsättigung mit der Diabetesdauer ( $p = 0,0001$ ) (● **Abb. 8**).

Da die arteriovenöse Differenz der Sauerstoffsättigung ein Maß für den Verbrauch an Sauerstoff im Gewebe ist, folgt, dass mit zunehmender Krankheitsdauer zumindest bei Typ-I-Diabetikern weniger Sauerstoff in das Gewebe gelangt. Prinzipiell möglich ist allerdings auch ein verringerter Stoffwechsel, der weniger Sauerstoff benötigt.

### Abhängigkeit der Sauerstoffsättigung vom Blutzucker

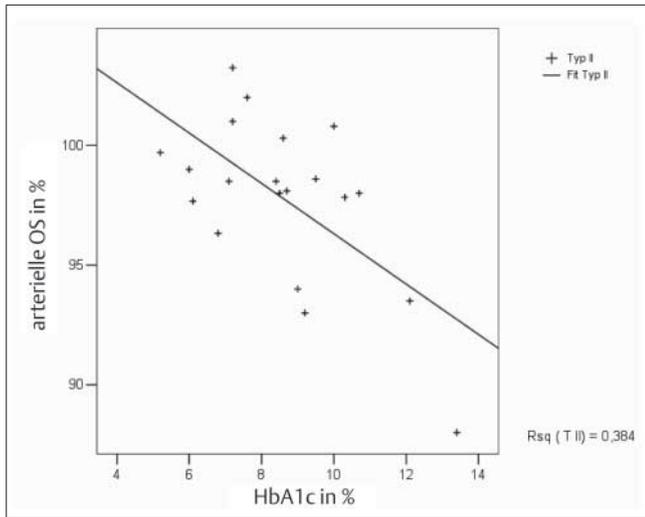
Für Typ-II-Diabetiker ließ sich ein Abfall der venösen Sauerstoffsättigung während der Sauerstoffatmung mit zunehmender Konzentration von Glukose im Blut nachweisen ( $p = 0,028$ ) (● **Abb. 9**).

Die Differenz der arteriovenösen Sauerstoffsättigungen vor und während Sauerstoffatmung fiel bei Typ-II-Diabetikern mit erhöhtem Blutzucker ab ( $p = 0,039$ ) (● **Abb. 10**).

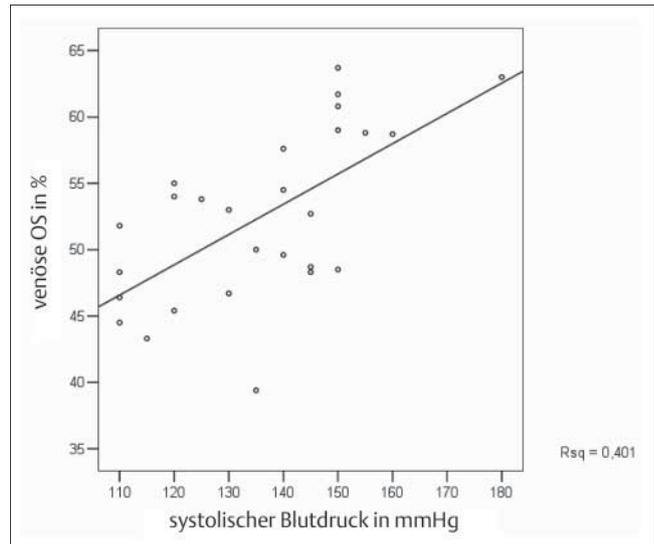
### Abhängigkeit der Sauerstoffsättigung von HbA1c

Die arterielle Sauerstoffsättigung fiel nur für Typ-II-Diabetiker während der Sauerstoffatmung mit zunehmendem HbA1c ab ( $p = 0,004$ ) (● **Abb. 11**).

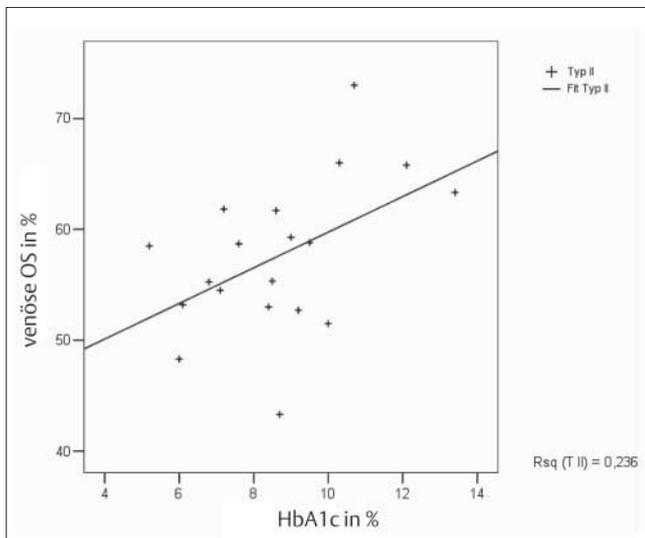
Ebenfalls nur für Typ-II-Diabetiker stieg die venöse Sauerstoffsättigung vor Sauerstoffprovokation mit dem HbA1c an ( $p = 0,035$ ) (● **Abb. 12**).



**Abb. 11** Abhängigkeit der arteriellen Sauerstoffsättigung vom HbA1c-Wert während Atmung von reinem Sauerstoff für Typ-II-Diabetiker.



**Abb. 13** Abhängigkeit der venösen Sauerstoffsättigung von Sauerstoffatmung vom Blutdruck bei Diabetikern.



**Abb. 12** Abhängigkeit der venösen Sauerstoffsättigung vor Beginn der Sauerstoffprovokation vom HbA1c-Wert für Typ-II-Diabetiker.

Für Typ-I-Diabetiker zeigte die venöse Sauerstoffsättigung mit steigendem HbA1c-Wert eher eine abfallende Tendenz, die jedoch nicht statistisch gesichert war.

### Abhängigkeit der Sauerstoffsättigung vom Blutdruck

Die venöse Sauerstoffsättigung zeigte bei Diabetikern eine signifikante Abhängigkeit vom zunehmenden Blutdruck. Dabei war der Anstieg vor Sauerstoffatmung mit  $2,3\%/10$  mmHg für den systolischen Blutdruck (▶ **Abb. 13**) etwa gleich dem Anstieg von  $2,7\%/10$  mmHg für den diastolischen Blutdruck.

Während Sauerstoffatmung war für die venöse Sauerstoffsättigung nur für den systolischen Blutdruck ein signifikanter Anstieg mit  $1,5\%/10$  mmHg nachweisbar.

Nach 10 Minuten Wiederatmen von Luft stieg die venöse Sauerstoffsättigung etwa wieder um die gleichen Beträge wie vor Sauerstoffprovokation mit erhöhtem Blutdruck an ( $2,1\%/10$  mmHg systolisch,  $2,4\%/10$  mmHg diastolisch).

### Einfluss des Rauchens

Bei Augengesunden war die venöse Sauerstoffsättigung bereits vor Sauerstoffatmung für Raucher ( $n = 5$ ) mit  $vOS = 49,1 \pm 2,8\%$  signifikant kleiner ( $p = 0,03$ ) als bei Nichtrauchern ( $n = 18$ ) ( $vOS = 56,6 \pm 6,6\%$ ). In gleicher Weise war die arteriovenöse Differenz der Sauerstoffsättigung bei Rauchern mit  $a-v$  DOS =  $46,4 \pm 3\%$  hochsignifikant ( $p = 0,003$ ) größer als bei Nichtrauchern ( $38,2 \pm 5,1\%$ ).

Bei Diabetikern war die venöse Sauerstoffsättigung zu allen Messzeitpunkten für Raucher ( $n = 17$ ) zwar ebenfalls kleiner als für Nichtraucher ( $n = 35$ ). Statistisch gesicherte Unterschiede wurden jedoch nur zum Zeitpunkt nach Wiederatmen von Luft für Raucher mit  $vOS = 53,5 \pm 6,8\%$  und Nichtraucher mit  $59,3 \pm 9,1\%$  ( $p = 0,03$ ) bestimmt. Der Unterschied in den Differenzen der arteriovenösen Sauerstoffsättigung war zwischen an Diabetes erkrankten Rauchern ( $a-v$  DOS =  $46,4 \pm 3\%$ ) und nichtrauchenden Diabetikern ( $34 \pm 10\%$ ) nach Wiederatmen von Luft hochsignifikant ( $p < 0,003$ ).

### Schlussfolgerungen

▼ Für die Beurteilung pathologischer Veränderungen der retinalen Mikrozirkulation in frühen Stadien der diabetischen Retinopathie sind das Angebot an Sauerstoff und dessen Verbrauch im versorgten Gewebebezirk zu untersuchen. Dazu sind Messungen von Blutvolumendurchfluss und Sauerstoffsättigung notwendig. In der vorliegenden Studie wurde nach Kenntnis der Autoren erstmalig die Änderung der Sauerstoffsättigung in retinalen Arteriolen und Venolen nach Atmung von 100% Sauerstoff zwischen Gesunden und Diabetikern mit milder und mit mäßiger nichtproliferativer diabetischer Retinopathie untersucht. Die Messung der Sauerstoffsättigung erfolgte mittels Imaging-Spektrometrie, bei der das Reflexionsspektrum des untersuchten Ortes zwischen 520 nm und 586 nm mit einer Modellfunktion angepasst wurde.

Für die Vergleiche wurden die arterielle, die venöse Sauerstoffsättigung sowie die arteriovenöse Differenz der Sauerstoffsättigung einer Arteriole und einer Venole des gleichen Quadranten herangezogen. Wurde die Sauerstoffsättigung in Gefäßpaaren

mehrerer Quadranten bestimmt, so wurde ein arterieller und ein venöser Mittelwert pro Auge für die Vergleiche verwendet. Die mittleren Werte der Sauerstoffsättigung in retinalen Gefäßen zeigten vor Sauerstoffprovokation keine Unterschiede zwischen Gesunden einerseits und Typ-I- sowie Typ-II-Diabetikern andererseits. Ebenso gleich war der Anstieg der venösen Sauerstoffsättigung um ca. 20% während Atmung von 100% Sauerstoff nach 6 Minuten.

Die Sauerstoffsättigungen vor Atmung von reinem Sauerstoff und 10 Minuten nach Wiederatmung von Luft zeigten innerhalb der Probandengruppen keine gesicherten Unterschiede. Die Gleichheit insbesondere der venösen Sauerstoffsättigung zu allen Messzeitpunkten ist so zu interpretieren, dass die Regelung der Mikrozirkulation bei milder und mäßiger diabetischer Retinopathie ausreichend funktionsfähig ist. Nach Grunwald [9] bewirkt die Atmung von 100% Sauerstoff während 5 Minuten eine Reduktion des Blutvolumendurchflusses um 61% bei Gesunden, um 53% bei Diabetikern ohne Retinopathie und um 38% bei Background Retinopathie. Durch die Reduktion des Blutvolumendurchflusses des stärker mit Sauerstoff beladenen Blutes bleibt die dem Gewebe angebotene Sauerstoffmenge nahezu konstant. Auch Blum [4] konnte zeigen, dass die Konstriktion retinaler Arteriolen als Ausdruck einer Mikrozirkulationsregelung während 5-minütiger Atmung von reinem Sauerstoff bei Patienten mit nichtproliferativer diabetischer Retinopathie in gleichem Maße erfolgt wie bei Gesunden.

Überraschenderweise ergaben sich jedoch Unterschiede in der venösen Sauerstoffsättigung zwischen Gesunden und Typ-II-Diabetikern während der Normalisierung der Mikrozirkulation nach Wiederatmung von Luft.

Eine Betrachtung der Sauerstoffsättigung in einzelnen Quadranten des Fundus zeigte, dass eine Unterscheidung zwischen Gesunden und Typ-I- sowie Typ-II-Diabetikern erreicht werden kann, wenn nur die Werte der temporal und nasal oberen Quadranten verglichen werden. Die kleinste venöse Sauerstoffsättigung wurde bei Diabetikern zu den Zeitpunkten vor, während und nach Sauerstoffatmung immer im temporal oberen Quadranten gefunden. Zu den entsprechenden Sättigungen des nasal oberen Quadranten bestand immer ein gesicherter Unterschied. Dies deutet auf beginnende diabetische Störungen zuerst in dem temporal oberen Quadranten hin.

Erste Veränderungen der diabetischen Retinopathie sind oft temporal und in der Umgebung der Makula zu finden. Das trifft im Besonderen für den Typ-II-Diabetes zu. Da für die Patienten keine Fotodokumentation des Fundus erfolgte, kann nicht gesagt werden, ob die gefundenen Unterschiede zwischen den Quadranten mit dem klinischen Bild übereinstimmen.

Die Aufzweigung der Arteriolen der Netzhaut erfolgt nach dem Eintritt der Arteria centralis retinae mit den Sehnerven. Die Arteriolen in den vier Quadranten haben also einen ähnlichen Verlauf. Der größte Energiebedarf und damit die größte Sauerstoffausschöpfung sind im temporal oberen Quadranten zu erwarten, da die Versorgung der Makula über diese Netzhautarteriolen erfolgt.

Berkowitz et al. [2] benutzten als Modell für die diabetische Retinopathie Ratten, die mit N-Galaktose gefüttert wurden. Mittels Magnet-Resonanz-Imaging (MRI) untersuchten sie die Fundus-Oxygenierung nach Atmung von Carbogen, was eine hyperoxische Provokation darstellt. Dabei fanden sie panretinal eine reduzierte Sauerstoffantwort, bereits zu einem Zeitpunkt, bevor

retinale Gefäßschäden sichtbar waren. Gleichzeitig stellten sie fest, dass die geringste Sauerstoffantwort in der oberen Hemisphäre auftrat.

Wurde die induzierbare Stickstoffmonoxid-Synthase (iNOS) inhibiert, war die Sauerstoffantwort nach Carbogen-Atmung nicht reduziert [3].

Patel et al. [16] haben den Blutvolumendurchfluss bei Gesunden und Diabetikern vor und nach Atmung von 60% Sauerstoff gemessen. Zusätzlich untersuchten die Autoren den Einfluss von systemischem Blutdruck und von erhöhtem Blutzucker. Es wurde die relative Verringerung des retinalen Blutflusses, bezogen auf den Ausgangswert, als Maß für die Gefäßreaktion ausgewertet. Bei normotensiven Freiwilligen war der Blutvolumendurchfluss während Sauerstoffatmung um ca. 41% reduziert, jedoch bei Hypertonikern nur um ca. 30%. Hypertensive Diabetiker mit provozierten Blutzuckererhöhung (15,8 bis 26 mmol/l) zeigten eine Änderung des Blutvolumendurchflusses um nur ca. 17%. Bei reguliertem Blutzucker und systemischem Blutdruck war die Gefäßreaktion mit ca. 30% bei Diabetikern wie bei den freiwilligen Hypertonikern.

Während eine Betrachtung der mittleren Werte der Sauerstoffsättigung kaum eine nachweisbare Unterscheidung zwischen Gesunden und Diabetikern ermöglichte, ergaben sich deutliche Unterschiede zwischen den Probandengruppen, wenn die Altersabhängigkeit der Sauerstoffsättigung herangezogen wurde. Bereits vor Sauerstoffprovokation stieg die venöse Sauerstoffsättigung für Typ-I-Diabetiker und noch stärker für Typ-II-Diabetiker mit dem Alter an. Ein noch deutlicherer Unterschied zwischen Diabetikern und Gesunden ergab sich für die venöse Sauerstoffsättigung nach Wiederatmung von Luft. Diese stieg mit zunehmendem Alter für beide Diabetestypen an, während sie bei Gesunden keinen Alterseinfluss zeigte. Die mit dem Alter erhöhten venösen Sauerstoffsättigungen vor Provokation der Mikrozirkulation und während der Normalisierungsphase deuten darauf hin, dass der Sauerstoff in den Lungenkapillaren zwar noch ausreichend aufgenommen wird, dass aber bei Diabetikern die Diffusion des gelösten Sauerstoffs aus den retinalen Kapillaren in das Gewebe behindert ist.

Abhängigkeiten der Sauerstoffsättigung von der Diabetesdauer konnten nur für Typ-I-Diabetiker nachgewiesen werden. So führt eine mit der Diabetesdauer verringerte arterielle Sauerstoffsättigung und eine erhöhte venöse Sauerstoffsättigung zu einer reduzierten arteriovenösen Differenz der Sauerstoffsättigung, was einer verringerten Sauerstoffabgabe ins Gewebe entspricht. Die erhöhte venöse Sauerstoffsättigung bedeutet keinesfalls ein Überangebot an Sauerstoff. Vielmehr ist die Diffusion des Sauerstoffs durch die Kapillarmembranen gestört und im Gewebe ist eine Hypoxie anzunehmen. Der Abfall der arteriellen Sauerstoffsättigung mit zunehmender Diabetesdauer deutet darauf hin, dass bei Typ-I-Diabetikern auch die Sauerstoffaufnahme in den Lungen behindert ist. Von Tiedeman [19] wurde gezeigt, dass die venöse retinale Sauerstoffsättigung nach Glukosegabe umso stärker sinkt, je länger der Diabetes besteht.

Die bei Typ-II-Diabetikern mit steigendem Blutzucker fallende venöse Sauerstoffsättigung während Sauerstoffatmung kann so interpretiert werden, dass durch die Sauerstoffprovokation der Stoffwechsel angeregt wird und damit ein verstärkter Glukoseumsatz erfolgt, der einen erhöhten Sauerstoffverbrauch bewirkt.

Die mit erhöhter Konzentration des HbA1c ansteigende venöse Sauerstoffsättigung kann durch die erhöhte Affinität dieses Hämoglobins zu Sauerstoff erklärt werden.

moglobins für Sauerstoff bedingt sein [6], wodurch eine Linksverschiebung der Sauerstoff-Dissoziationskurve bewirkt wird. Als Folge davon steht weniger gelöster Sauerstoff dem Transport in das Gewebe zur Verfügung. Weiterhin weist die mit steigendem HbA1c abfallende arterielle Sauerstoffsättigung darauf hin, dass nicht nur die Abgabe von Sauerstoff dieses Hämoglobins, sondern auch die Sauerstoffaufnahme behindert ist.

Die in den Abbildungen angegebenen Bestimmtheitsmaße ( $R_{sq}$ ) erklären die Streuung der Messwerte in einer linearen Regression nur zu einem geringen Teil. Neben der individuellen Streuung der Sauerstoffsättigungen ist zu beachten, dass die Berechnung der Sauerstoffsättigung bei Patienten mit mäßiger nichtproliferativer diabetischer Retinopathie teilweise mit einem vereinfachten Verfahren [11] erfolgte, bei dem die Reflexionswerte bei nur 4 Wellenlängen verwendet wurden. Im Gegensatz zur Approximation eines Spektrums, bei dem eine Mittelung der Reflexionswerte bei einer großen Anzahl von Wellenlängen erfolgt, gehen bei dem vereinfachten Verfahren die Messfehler vorzeichenbehaftet in die Berechnung ein. Bei den reflektierten geringen Strahlungsleistungen ist das Photonenrauschen die wesentliche Fehlerquelle. Dieses ist proportional zur Wurzel aus der gemessenen Intensität. Damit ist eine Verringerung des Signalrauschens durch einen Anstieg der gemessenen Intensität möglich. Einer Erhöhung der Bestrahlungsstärke des Beleuchtungslichtes sind durch die maximal zulässige Exposition [1] Grenzen gesetzt. Wird das reflektierte Licht von einem ausgedehnten Fundusbereich, beispielsweise längs eines Gefäßes oder im Kapillargebiet gemessen, so steigt die gemessene Intensität und das Signalrauschen wird geringer. Damit erhöht sich die Genauigkeit für die Messungen der Sauerstoffsättigung, allerdings zu Ungunsten der örtlichen Auflösung.

Die Ergebnisse der Studie zeigen, dass die Sauerstoffsättigung von einer Vielzahl von Einflussgrößen wie Alter, Blutzucker, HbA1c und Blutdruck abhängt, die bei der Interpretation von Messungen der retinalen Mikrozirkulation beachtet werden müssen.

Für die Entstehung von Störungen der Mikrozirkulation, die zu einer Gewebshypoxie bei Diabetes führen, kann der folgende Mechanismus angenommen werden: Der bei Diabetes erhöhte Blutzucker bewirkt eine endotheliale Dysfunktion, als deren Folge Stickstoffmonoxid (NO) verringert freigesetzt wird. Resultierend daraus ist die Regulation der Gefäßdurchmesser entsprechend Angebot und Anforderung an Sauerstoff reduziert. Zusätzlich treten Gefäßwandveränderungen, insbesondere Kapillarwandverdickungen, bis hin zu arteriosklerotischen Prozessen auf, die eine Diffusion des gelösten Sauerstoffs aus den Gefäßen in das Gewebe behindern. Ein Auseinanderdrängen von Perizyten führt zu einem Funktionsverlust der Gefäßmembranen und die Gefäßwände sacken aus (Mikroaneurysmen) und werden undicht, wodurch Ödeme entstehen, die zu einer

Gewebeverdickung führen. Diese erhöht weiterhin den Widerstand für die Diffusion des Sauerstoffs zu den Mitochondrien.

## Literatur

- 1 American national standard for the safe use of Laser ANSI Z 136.2–2000. Orlando, Suite 128, 13 501 Ingenuite Drive, FL 32 826: Laser Institute of America, 2000
- 2 Berkowitz BA, Kowluru RA, Frank RN et al. Subnormal retinal oxygenation response precedes diabetic-like retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999; 40 (9): 2100–2105
- 3 Berkowitz BA, Roberts R, Luan H et al. Drug intervention can correct subnormal retinal oxygenation response in experimental diabetic retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005; 46 (8): 2954–2060
- 4 Blum M, Vollrath D, Bartke T et al. Vasokonstriktion retinaler Arteriolen während Sauerstoffatmung bei diabetischer Retinopathie. *Ophthalmologie* 2003; 100 (4): 306–309
- 5 Brosius G, Brosius F. SPSS Base System and professional Statistics. Bonn: International Thompson Publisher, 1995; 1. Aufl
- 6 Brunn HE, Briehl RW. The interaction of 2, 3 diphosphoglycerate with various human hemoglobins. *J Clin Invest* 1970; 49: 1088
- 7 Cunha-Vaz JG, Lima JJP. Studies on retinal blood flow, I. *Arch Ophthalmol* 1978; 96: 893–897
- 8 Cunha-Vaz JG, Fonseca JR, de Abren JRF. Studies on retinal blood flow II Diabetic retinopathy. *Arch Ophthalmol* 1978; 96: 809–811
- 9 Grunwald JE, Riva CE, Brucker AJ et al. Altered retinal vascular response to 100% oxygen breathing in diabetes mellitus. *Ophthalmology* 1984; 91 (12): 1447–1452
- 10 Grunwald JE, DuPont J, Riva CE. Retinal haemodynamics in patients with early diabetes mellitus. *Br J Ophthalmol* 1996; 80 (4): 327–331
- 11 Hammer M, Thamm E, Schweitzer D. A simple algorithm for in vivo ocular fundus oximetry compensating for non-haemoglobin absorption and scattering. *Phys Med Biol* 2002; 47: N233–N238
- 12 Hill DW, Griffiths JD, Young S. Retinal blood flow measured by fluorescence angiography. *Trans Ophthalm Soc UK* 1973; 53: 325–328
- 13 Kohner EM. The problems of retinal blood flow in diabetes. *Diabetes* 1976; 25 (Suppl 2): 839–842
- 14 Oswald B, Vilsner W, Oswald H et al. Messung strömungsphysikalischer Größen der Netzhautdurchblutung bei Normalpersonen. *Graefes Arch Klin Exp Ophthalmol* 1983; 220: 39–41
- 15 Oswald B, Vilsner W, Oswald H et al. Messung strömungsphysikalischer Größen der Netzhautzirkulation bei Diabetikern, Typ 1 und 2. *Graefes Arch Klin Exp Ophthalmol* 1983; 220: 42–46
- 16 Patel V, Rassam SMB, Chen HC et al. Oxygen reactivity in diabetes mellitus: effect of hypertension and hyperglycemia. *Clinical Science* 1994; 86: 689–695
- 17 Riva CE, Loebel M. Autoregulation of blood flow in the capillaries of the human macula. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1977; 16: 568
- 18 Riva CE, Grunwald JE, Petrig BL. Reactivity of the human retinal circulation on darkness: a laser doppler velocimeter study. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1983; 24: 737–740
- 19 Tiedeman JS, Kirk SE, Srinivas S et al. Retinal oxygen consumption during hyperglycemia in patients with diabetes without retinopathy. *Ophthalmology* 1998; 105 (1): 31–36
- 20 Schweitzer D, Leistritz L, Hammer M et al. Calibration-free measurement of the oxygen saturation in retinal vessels of men. *Progress in Biomedical optics, Proceedings of „Ophthalmic Technologies V“* San Jose, California, 1995; SPIE Vol. 2393: 210–218
- 21 Schweitzer D, Hammer M, Kraft J et al. In vivo measurement of the oxygen saturation of retinal vessels in healthy volunteers. *IEEE Transaction on Biomedical Engineering* 1999; 46 (12): 1454–1465