

Lebensjahr nachgewiesen werden (Ederer et al., 1981). Da auch die Inzidenz dieser Stoffwechselerkrankung insbesondere in der westlichen Welt im Rahmen des metabolischen Syndroms weiter steigt, ist der Mechanismus des Einflusses des Diabetes mellitus auf die Kataraktentstehung und damit auch auf das Linsenepithel von besonderer Bedeutung für die Entwicklung neuer Therapiekonzepte.

## **2 Literaturüberblick**

### **2.1 Anatomie und Physiologie der Linse und des Linsenepithels**

Die Linse ist in eine Kapsel aus Kollagenfasern eingehüllt, welche auch andere Matrixproteine und Proteoglykane enthält. Ihre Dicke beträgt 10-20µm. Zwischen der vorderen Kapsel und der hauptsächlich Zellmasse der Linsenfasern befindet sich eine einschichtige Lage von flachen bis isoprismatischen Epithelzellen. Die Linsenfasern lagern vergleichbar Zwiebelschalenschichten. Die Fasern wölben sich über dem Linsenäquator und treffen die gegenüberliegenden Linsenfasern in den Linsennähten auf der Rückseite der Linse. Die innersten Fasern bilden den Kern der Linse. Die dort gelegenen Linsenfasern besitzen keine Zellorganellen und weisen nur eine geringfügige metabolische Aktivität auf. Die weiter außen gelegenen Fasern bilden die Rinde. Dabei sind die oberflächlichsten Fasern der Linse kernhaltig und weisen ebenso wie die Linsenepithelzellen den normalen Gehalt an Zellorganellen auf (Schiebler et al., 1991; Bron et al., 1993).

Die Zellen des Linsenepithels variieren in ihrer Dichte und Morphologie in Abhängigkeit von der Lokalisation. Die Zellen der zentralen Region sind polygonal und weisen runde sowie elliptische, platte Kerne auf. In der prääquatorialen Zone stellen sich die Zellen kleiner und morphologisch eher zylindrisch dar. Die Zellkerne sind kugelförmig. Am Linsenäquator sind die Zellen pyramidenförmig. In der prääquatorialen Zone sowie am Linsenäquator liegen die Zellen am dichtesten. Hier finden die meisten Mitosen statt. Beim gesunden Linsenepithel findet sich eine Abnahme der Zellgröße von der zentralen zur peripheren Region, d. h. in Richtung Linsenäquator. Das bedeutet, daß die Zelldichte in Richtung Äquator steigt (Karim et al., 1987). In der vorderen zentralen Region sind die Linsenepithelzellen unregelmäßig

angeordnet. In einem variablen Abstand vor dem Äquator erfolgt die Ausrichtung in meridionale Reihen (Bellows, 1981).

Die Hauptenergieversorgung der Linse beruht auf der Verstoffwechslung von Glucose, welche die Linse durch einen als „erleichterten Transport“ bezeichneten Mechanismus erreicht (Giles et al., 1959). Eine andere Quelle der Energieversorgung sind Aminosäuren (Trayhurn et al., 1973). Der Stoffwechsel der Linsenrinde ist zum größten Teil anaerob. 70% der Energieversorgung der Linse beruhen auf anaerober Glykolyse. Der Metabolismus des Linsenepithels dagegen ist teilweise aerob (Bron et al., 1993). Die Linsenepithelzellen produzieren annähernd 50% ihres ATP-Gehaltes in oxidativen Prozessen. Insgesamt enthält das Linsenepithel nur ungefähr 1% des ATP der gesamten Linse. Winkler et al. fanden durch ATP-Messungen unter verschiedenen Bedingungen, daß dieses ATP nicht zur Energieversorgung der übrigen Linse zur Verfügung steht (Winkler et al., 1991). Im Linsenepithel konnte die höchste metabolische Aktivität der Linse nachgewiesen werden (Karim et al., 1987).

Neue Linsenfasern entstehen durch Zellteilung des Linsenepithels in der germinativen Zone in der prääquatorialen Region der Linse (Goder et al., 1985; Schiebler et al., 1991; Bron et al., 1993). Die Linsenepithelzellen bleiben während ihres gesamten Lebens proliferationsfähig. Daher sind sie als der Motor für das Linsenwachstum zu bezeichnen (Konofsky et al., 1987).

Die Linsenkapsel und das darunter liegende Linsenepithel stellen eine selektiv permeable Barriere zwischen Linsenfasern und umgebendem Kammerwasser dar (Duncan, 1973). Die Wasser-, Elektrolyt- und Substratumgebung der Linse wird vor allem durch Ionenpumpen wie die  $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$  und die  $\text{Ca}^{2+}\text{-ATPase}$  aufrechterhalten, welche hauptsächlich in den Linsenepithelzellen und den oberflächlichen Rindenfaserzellen nachzuweisen sind (Gorthy et al., 1980; Iwata, 1985; Winkler et al. 1991). Spezielle Ionenkanäle, die ebenfalls in das die Linse umgebende Milieu regulierend eingreifen sowie zusätzlich den pH-Wert der Zellen auf konstantem Niveau halten, sind auch in den zuvor genannten Zellen lokalisiert (Williams et al., 1992).

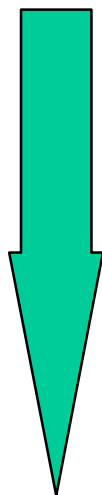
## 2.2 Die Kataraktogenese

Die Katarakt ist definiert als optische Linseninhomogenität. Diese Inhomogenitäten sind zum einen durch Trübungen, die die gesamte Linse durchsetzen, bedingt und zum

anderen durch lokalisierte Brechungsunregelmäßigkeiten wie mit wäßriger Flüssigkeit gefüllte Vakuolen oder Spalten (Müller-Breitenkamp et al., 1992). Die morphologische Unterteilung der alterskorrelierten Katarakt kann in 3 Typen erfolgen: die subkapsuläre, die nukleäre und die kortikale Katarakt. Dazu kommen die häufig auftretenden Mischtypen dieser morphologischen Kataraktformen (Müller-Breitenkamp et al., 1992; Kanski, 1996). Zur Kataraktentstehung kommt es bei bereits vorliegenden unterschwelligen Linsenschäden und dem Zusammentreffen mit anderen, später hinzutretenden Schäden durch Addition ihrer Effekte (Hockwin et al., 1969). Dieser Prozeß entspricht dem Inhalt des Begriffs „multifaktorielle Kataraktogenese“. Die Linsentransparenz wird außerdem durch die gegenseitige Wechselwirkung verschiedener Linsennoxen über die Mechanismen der Ko- und Synkataraktogenese beeinflusst. Verstärkt eine scheinbar nicht linsenschädigende Substanz die Wirkung einer direkten, überschwelligen Katarakttoxine und führt zu einer verstärkten Trübungsentwicklung, so spricht man von Kokataraktogenese. Als Synkataraktogenese bezeichnet man, wenn 2 unterschwellige oder scheinbar nicht linsenschädigende Substanzen erst bei ihrem Zusammentreffen eine Linsentrübung hervorrufen (Hockwin et al., 1975). Abbildung 1 stellt die verschiedenen Einflußfaktoren bei der multifaktoriellen Kataraktogenese dar (Müller-Breitenkamp et al., 1992).

## Linse

A  
l  
t  
e  
r  
n



- Ernährungsstörungen
- Aminosäurenmangel
- Vitaminmangel
- Kammerwasserzusammensetzung
- endokrine Störungen
- chemische Einflüsse
- physikalische Einflüsse
- Änderungen des Enzymmusters
- Anhäufung toxischer Produkte

## Linse mit Trübungen

Abb. 1: Einflußfaktoren bei der multifaktoriellen Kataraktogenese (nach Müller-Breitenkamp et al., 1992)

### 2.3 Das Linsenepithel und seine Rolle bei der Kataraktogenese

Das Linsenepithel spielt eine wesentliche Rolle bei der Pathogenese der Katarakt (Haß et al., 1995).

Wenn die physiologischen Verhältnisse der Linse gestört werden, z.B. durch oxidativen Streß, kommt es zur Gefährdung des Linsenepithels und zu möglichen pathologischen Veränderungen (Bloemendal, 1992).

#### 2.3.1 Morphologische Veränderungen des Linsenepithels in Verbindung mit der Kataraktogenese

Das Linsenepithel getrüübter Linsen zeigt eine Vielzahl abnormaler Zellen und Zellformen (von Sallmann, 1957; Karim et al., 1987; Sargon et al., 1997). Histologische Studien im Tierexperiment zeigten, daß die Verdrängung von Zellen und die verstärkte Proliferation von Zellen der germinativen Zone für Monate den ersten Zeichen der Linsentrübung vorangehen. Es konnten im Falle einer nachgewiesenen Schädigung der Zellkerne der germinativen Zone nach Bestrahlung bei allen untersuchten Tieren im weiteren Verlauf vermehrt pathologisch veränderte Linsenfaser beobachtet werden (von Sallman, 1957). Von Sallmann nannte Alteration der Zellformation, Zellen mit Zeichen der Kernfragmentierung, Proliferation und Degeneration von Kernbestandteilen sowie Zellhydrops und andere destruktive Veränderungen als mögliche Formen der Zellschädigung von Linsenepithelien (von Sallmann, 1957). Andere Autoren beschrieben Zellnekrosen, Kernpyknosen, Verbreiterung der Interzellularräume und das Auftreten von intrazytoplasmatischen Vakuolen (Philipson, 1973; Karim et al., 1987; Los et al., 1989; Asano et al., 1995; Haß et al., 1995; Ehrich, 1996). Elektronenmikroskopisch konnten deutlich vergrößerte Interzellularräume mit schaumartigen Ablagerungen beobachtet werden. Zwischen den Zellen wurden riesige Vakuolen, welche einen Durchmesser von 20-40µm erreichten, nachgewiesen. Diese drängen die angrenzenden Zellen in Richtung Peripherie. Die Vakuolisierung ist mit einer ausgeprägten Entwicklung des lysosomalen Systems verbunden und für die zu beobachtenden zytolytischen Phänomene verantwortlich (Francois et al., 1978). Bei der Begutachtung des Zellverbandes wurden Auflockerungen bei noch vorhandenem Zellkontakt beobachtet

(Haß et al., 1995). Derartig veränderte Areale wechseln sich mit normal strukturiertem Linsenepithel ab. Ihre Anzahl und Ausdehnung korreliert mit dem Entwicklungsgrad der Katarakt (Francois et al., 1978; Straatsma et al., 1991; Haß et al., 1995). Einige geschädigte Zellen hatten sternförmige Ausläufer und ähnelten in ihrer Morphologie Fibroblasten (Haß et al., 1995). Während das Zytoplasma der Linsenepithelien gesunder Linsen homogen, fein granuliert ist, enthält das Zytoplasma getrübler Linsen große, unregelmäßig geformte Einschlüsse hoher optischer Dichte. Viele Zellen enthalten kleine Partikel vom lysosomalen Typ. In vielen Zellen ist der Kern zerstört, die zelluläre Membran rupturiert, und daraus resultierend sind zelluläre Strukturen desintegriert (Francois et al., 1978). Außerdem wurden intrazytoplasmatische Myelinähnliche Strukturen beschrieben (Philipson, 1973). Bei licht-mikroskopischen Untersuchungen vorderer Linsenkapseln von Kataraktpatienten wurde nicht ausschließlich regelmäßig angeordnetes kubisches Epithel beobachtet, sondern mehrfach ein herdförmig mehrschichtig umgewandeltes Epithel, wobei bis zu 5 Zellagen nachgewiesen werden konnten. Die Zellkerne zeigten in diesen Bereichen eine deutliche Pleomorphie, verstärkte Größenvarianz, Hyperchromasie sowie Inhomogenität bei der Anfärbbarkeit. Außerdem waren die Zellgrenzen teilweise nicht mehr deutlich. Bleckmann et al. schlußfolgerten, daß im Bereich des Linsenepithels sowohl metaplastisch-proliferative als auch degenerative Veränderungen eine entscheidende Rolle bei der Ausbildung des grauen Stars spielen könnten (Bleckmann et al., 1989). Die Epithelveränderungen stellten sich bei bestimmten Formen der Katarakt wie z. B. der *Cataracta complicata* und der Strahlenkatarakt längere Zeit vor anderen Linsenveränderungen ein und zogen z.T. keine weiteren Veränderungen der Linse nach sich (Goder, 1985).

Die beschriebenen Linsenepithelveränderungen wurden vor allem bei Linsen mit subkapsulären und kortikalen Trübungen beschrieben. So enthielten alle Linsenepithelien von Linsen mit den vorher genannten Trübungen irreguläre und vergrößerte Zellen (Karim et al., 1987). Aber auch bei der *Cataracta nuclearis* wurden morphologische Veränderungen des Linsenepithels bekannt. Dagegen konnten Wu et al. nur bei einem kleinen Anteil ihrer im Raster- und Transmissionselektronenmikroskop untersuchten Linsenepithelien alterskorreliert getrübler Linsen degenerative Veränderungen des Linsenepithels nachweisen (Wu et al., 1990).

Die Schädigung des Linsenepithels durch UV-Strahlen scheint auch die Ursache der UV-Katarakt zu sein. UV-Strahlen zeigten mutagene und zytotoxische Wirkungen auf das Linsenepithel, durch die es zu einer Inaktivierung wichtiger Stoffwechsellzyme sowie metabolischer Prozesse kommt (Hightower, 1995). Epidemiologische Untersuchungen zeigten, daß in Ländern mit einer höheren UV-Strahlung auch die Kataraktinzidenz höher ist (Zigman et al., 1979; Bloemendal, 1984; Dolin, 1994; Harding, 1995; Javitt et al., 1995).

Bei ungefähr 50% der DNA-analysierten Linsenepithelien kataraktöser Linsen konnten signifikant mehr Einzelstrangbrüche der DNA als bei den gesunden Linsen nachgewiesen werden. Dagegen wurde keine Beziehung zwischen der Anzahl der DNA-Brüche und dem Lebensalter der Patienten gefunden. Schlußfolgernd wurde festgestellt, daß bei einem Teil der Patienten mit einer Katarakt ein Zusammenhang zwischen der DNA-Schädigung des Linsenepithels und der Entwicklung der Linsenfasertrübung besteht (Kleimann et al., 1993).

Auch in Zellkulturen von Linsenepithelien getrübler Linsen konnten zunehmende Inhomogenität und Polymorphie, Ausbildung degenerativer Vakuolen, Auftreten filamentöser Strukturen sowie steigende Zelldurchmesser nachgewiesen werden (Bermbach et al., 1991).

### 2.3.2 Funktionelle Veränderungen des Linsenepithels in Verbindung mit der Kataraktogenese

Osmotische Schwellung der Linsenfaser ist ein häufiges Merkmal verschiedener Katarakttypen (Jensen et al., 1980; Nagata et al., 1986). Es wurde vermutet, daß es die Funktion des Linsenepithels ist, Wasser aus dem Extrazellularraum des Linsen-körpers herauszupumpen, um dadurch die optische Homogenität des Gewebes aufrechtzuerhalten. Tight junctions (Zonulae occludentes) zwischen den Linsenepithelzellen ermöglichen die Barrierefunktion des Linsenepithels für Flüssigkeiten. Die epithelständigen Ionenkanäle gewährleisten den Flüssigkeitsfluß in die Vorderkammer. Jeder Faktor, der diese Transportprozesse oder die Morphologie des Linsenepithels stört, könnte zu einer Aufhebung der Ionengradienten und einer Akkumulation von Wasser im Linsengewebe führen (Karim et al., 1987). Durch eine Dysfunktion der Ionenkanäle der Epithelzellen kommt es zu einer osmotischen Fehlbalance,

die wiederum zu einem Einstrom von Wasser in das Linsengewebe führt. Es folgen Schwellung und Schädigung der Rindenfasern (Asano et al., 1995). Diese Schwellung wird als Ursache für die klinisch zu beobachtende Trübung betrachtet und leitet die Degeneration der Linsenfasern ein (Sakuragawa et al., 1975). Es bestehen eventuell kausale Zusammenhänge zwischen der epithelialen Dysfunktion und der Entstehung einer subkapsulären und kortikalen Katarakt (Karim et al., 1987; Uga et al., 1988).

Zwischen der Schädigung des Linsenepithels und der Kataraktentwicklung wird ein „Teufelskreis“ vermutet: Mit der Etablierung von Linsenschädigungen beginnt das Linsenepithel fortschreitend, seine Masse zu verlieren. Das führt zu einer verringerten Zelldichte. Gleichzeitig bedingt die verminderte Linsenepithelzellpopulation die weitere Kataraktentwicklung (Tseng et al., 1994). Es wird angenommen, daß bei der kortikalen Katarakt eine Schwelle für die Anzahl von Epithelzelluntergängen vorhanden ist, nach deren Überschreitung eine Linsentrübung folgt (Worgul et al., 1989).

Bei Linsen mit alterskorrelierter Katarakt mit ausschließlicher oder zusätzlicher hinterer subkapsulärer Rindentrübung konnten signifikant dünnere Linsenkapseln als bei reiner Cataracta nuclearis und Cataracta corticalis nachgewiesen werden. Dieses Wachstumsverhalten könnte mit Störungen im vorderen Linsenepithel in Zusammenhang stehen, das seine Stoffwechselaktivitäten zuungunsten der Produktion von Kapselmaterial verändert hat (Hartmann et al., 1990).

Bei der senilen subkapsulären Katarakt wurde sowohl eine Abnahme der Aktivität der  $\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$ -ATPase als auch eine Verringerung des Gesamtgehaltes an ATP der Linse beschrieben (Friedburg, 1972; Ohrloff et al., 1983; Pau, 1989; Baghieri et al., 1992). Dagegen war der ATP-Gehalt des Linsenepithels beim supranukleären Rindenstar und beim primären Kernstar unverändert hoch (Deussen et al., 1989; Pau, 1989). Die höchsten Anteile von ADP und ATP befinden sich in der vorderen Rinde. Dort und im Linsenepithel ist auch die Aktivität der ATPase am höchsten, welche streng von der Verfügbarkeit des ATP abhängig ist (Deussen et al., 1989; Baghieri et al., 1992). Eine Verminderung des ATP kann zu einer Dysregulation des Elektrolythaushaltes der Linse sowie zu einer Erschöpfung der Gluthationreserve als potentem Antioxydant führen. Im weiteren Verlauf kommt es zur Veränderung des pH-Wertes und zum Verlust der ATPase-Aktivität durch Oxydationsvorgänge (Ohrloff et al., 1984; Deussen et al., 1989). In diesem Zusammenhang konnte ein intrazellulärer Anstieg von  $\text{Na}^+$ - und  $\text{Cl}^-$ -Ionen und ein Abfall der  $\text{K}^+$ -Ionen im Linsenepithel nachgewiesen

werden (Pau, 1989; Koyama-Ito, 1990). Da die  $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$  mit den Zellmembranen verknüpft ist und als verantwortlich für die Aufrechterhaltung der Balance zwischen zellulären Ionen und Wasser gehalten wird, ist es möglich, daß kritische Veränderungen während des Prozesses der Kataraktogenese mit diesem Schlüsselenzym verbunden sind. Quantitative ATP-Messungen ergaben, daß der ATP-Gehalt der vorderen Linsenrinde einschließlich des Linsenepithels und der hinteren Linse nicht mit zunehmendem Lebensalter abnimmt (Pau, 1989). Andere Autoren zeigten eine statistisch signifikante Abnahme der epithelialen Zellaktivität mit steigendem Lebensalter (Straatsma et al., 1991). In vielen getrüben Linsen konnte eine erhöhte  $\text{Na}^+$ -Konzentration nachgewiesen werden. Der physiologische kleine Konzentrationsgradient von Natrium-Ionen in der Linse wird als notwendig für die Klarheit der Linse angesehen (Garner, 1994). Die ATPase-Aktivität wurde durch die Messung des ionisierten Phosphors, welcher durch das Enzym ATPase freigesetzt wird, bestimmt. Es konnte gezeigt werden, daß die ATPase-Aktivität bei Ratten, die mit einer Galaktose-Diät gefüttert wurden, geringer als bei normal ernährten Tieren war. Dies könnte durch eine Destruktion oder Inaktivierung des Enzyms verursacht sein, die wahrscheinlich durch verschiedene gleichzeitig ablaufende Prozesse während der Kataraktogenese bedingt ist (Fournier et al., 1971). Auch die Calcium-ATPase zeigte in Membranen getrüber Linsen eine um 50% geringere Aktivität als in Membranen klarer Linsen (Paterson et al., 1997).

In den vergangenen Jahren rückte die Auslösung der Apoptose durch verschiedene exogene sowie endogene Faktoren vermehrt in das Blickfeld des Interesses. Zellapoptose ist der genetisch programmierte, nicht zufällige Zelltod. Durch die Bestimmung der Deoxynucleotidyl-Transferase und DNA-Fragmentations-Assays wurden apoptotische Linsenepithelzellen nachgewiesen. Linsenepithelien von Kataraktpatienten wiesen deutlich häufiger apoptotische Zellen auf als Linsenepithelien gesunder Patienten. In Linsenepithelkulturen von Ratten konnte gezeigt werden, daß Wasserstoffperoxid, ein Radikal, die Epithelzellapoptose auslöst und damit die Entwicklung der Linsentrübung einleitet. Diese Auslösung der Apoptose durch verschiedene Ursachen wie z. B. oxidativen Streß, aber auch das physiologische Altern soll grundsätzlich für die Entwicklung der Linsentrübung verantwortlich sein und mit ihr in strengem zeitlichen Zusammenhang stehen (Li et al., 1995). Es wurde berichtet, daß der Linsenepithelzelltod das lebenslange Wachstum der menschlichen



Linse unterbricht. Das erklärt die Dünne getrüübter Linsen und die niedrige Zelldichte (Karim et al., 1987; Konofsky et al., 1987; Vasavada et al., 1991; Li et al., 1995). Zum zweiten soll die Ablösung von Teilen des Linseneithels von den darunter liegenden Fasern die Störung der homöostatischen Kontrolle der Linseneithelzellen für darunter liegende Linsenfasern verursachen. Es resultiert ein Transparenzverlust der Linse (Spector et al., 1991; Li et al., 1995).

#### 2.4 Diabetes mellitus als Risikofaktor für die Entstehung einer Katarakt

Diabetes mellitus ist die Oberbezeichnung für eine vielfältige Gruppe von Störungen des Kohlenhydratstoffwechsels, die zur Hyperglykämie im Nüchternzustand und postprandial führen. Weltweit sind circa 60 Millionen Menschen an Diabetes mellitus erkrankt. Davon leben 40 Millionen in den Industrieländern. In der westlichen Welt leiden etwa 4% der Bevölkerung an einer der verschiedenen Diabetesformen und weitere 3% befinden sich in den Vorstadien der Erkrankung. 85-90% aller Diabetiker in den stark industrialisierten Ländern leiden dabei an einem primär Nicht-Insulin-abhängigen Diabetes mellitus (WHO, 1993; Gorden, 1997; Zimmet et al., 1997).

In einer 1985 von der WHO festgelegten Klassifikation der Diabetestypen unterscheidet man den Insulin-abhängigen (IDDM, entspricht Typ I- Diabetes mellitus) und den Nicht-Insulin-abhängigen (NIDDM, entspricht Typ II- Diabetes mellitus) Diabetes mellitus.

Der Insulin-abhängige Diabetes mellitus ist durch den absoluten Mangel an endogenem Insulin gekennzeichnet. Diese Diabetesform manifestiert sich zumeist im Kindesalter und im frühen Erwachsenenalter bis 30 Jahre. Die Patienten entwickeln ohne Insulintherapie eine klinisch relevante Ketoazidose und sind nicht lebensfähig.

Der Nicht-Insulin-abhängige Diabetes mellitus ist durch 2 Störungsmuster gekennzeichnet: zum ersten eine gestörte Insulinsekretion der Langerhansschen Inseln des Pancreas und zum anderen eine herabgesetzte Insulinwirkung (Insulinresistenz) durch eine gestörte Glukoseverwertung in der Zelle. Für diese Form des Diabetes mellitus liegt ein Stufenschema verschiedener Therapiemöglichkeiten vor. Der Manifestationsgipfel fällt auf die Altersgruppe zwischen 51 und 55 Jahren (WHO Study Group, 1985; Eggstein et al., 1987; Schaaf et al., 1991).

#### 2.4.1 Zusammenhänge zwischen dem Auftreten eines Diabetes mellitus und der Prävalenz einer Katarakt

Der Diabetes mellitus ist auch aufgrund seiner steigenden Inzidenz in unserer Wohlstandsgesellschaft eine ernst zu nehmende Ursache für eine Sehverschlechterung der Patienten. Er wurde übereinstimmend als signifikanter Risikofaktor für die Entwicklung der alterskorrelierten Katarakt bestimmt (Hiller et al., 1976; Ederer et al., 1981; Leske et al., 1991; Belpoliti et al., 1993). Das Ausmaß der Schädigung des Sehvermögens beim im Lebensalter unter 30 Jahren auftretenden Diabetes mellitus hängt vom Lebensalter des Diabetikers bei der Untersuchung, der Dauer der Erkrankung, der Anwesenheit und dem Grad einer proliferativen Retinopathie und der Anwesenheit einer Katarakt ab. Beim im Erwachsenenalter aufgetretenen Diabetes mellitus zeigt sich zusätzlich eine Abhängigkeit von der Beteiligung eines Makulaödems (Klein et al., 1984).

Die Kataraktentstehung stellt die zweithäufigste Ursache für eine schwere Visus-herabsetzung beim im Erwachsenenalter aufgetretenen Diabetes mellitus dar. Dabei ist der Diabetes mellitus der bedeutendste Risikofaktor für die Entwicklung einer Katarakt in den westlichen Ländern (Harding et al., 1993). So wurde berichtet, daß der Diabetes das Kataraktrisiko in verschiedenen Populationen bis auf das 12fache erhöhte (Caird, 1973; Ederer et al., 1981; Bernth-Petersen et al., 1983; Clayton et al., 1984; Schwab et al., 1985; van Heyningen et al., 1986; Chen et al. 1988; Harding et al., 1989). Bei altersdiabetischen Patienten konnte eine 3-4mal höhere Katarakt-prävalenz bis zum 65. Lebensjahr nachgewiesen werden. Nach dem 65. Lebensjahr kann dieser Unterschied nicht mehr gezeigt werden (Ederer et al., 1981).

Für Frauen stellt der Diabetes mellitus einen 2-3mal höheren Risikofaktor für eine Kataraktentwicklung dar als für Männer (Harding et al., 1993).

Endokrinologisch bedingte Katarakte treten fast immer beidseits auf (Bellows, 1981).

Weitere Beweise, daß der Diabetes mellitus eine Kataraktursache darstellt, konnten in zahlreichen *in vitro*-Studien, die hohe Glukosekonzentrationen bei der Inkubation von Linsen und Linsenproteinen nutzten, gewonnen werden (Harding, 1991).

Längere Diabetesdauer, höheres Lebensalter bei der Diagnostizierung des Diabetes mellitus, fortgeschrittener Grad einer begleitenden Retinopathie, Einnahme von Diuretika und höhere Meßwerte glykosilierten Hämoglobins waren beim im

Lebensalter unter 30 Jahren aufgetretenen Diabetes mellitus signifikant mit einer höheren Kataraktprävalenz verbunden. Beim später aufgetretenen Diabetes mellitus korrelierten höheres Lebensalter bei der Diagnosefindung, fortschreitender Grad der diabetischen Retinopathie, Diuretikaeinnahme, geringer intraokularer Druck, Rauchen und geringer diastolischer Druck signifikant mit einem erhöhten Erkrankungsrisiko für eine Katarakt (Klein et al., 1985). Bei den vor dem 60. Lebensjahr aufgetretenen Katarakten konnte ein Zusammenhang zur Diabetesdauer und zur Höhe des glykolytierten Hämoglobins (Hb a<sub>1c</sub>) gesichert werden (Hiller et al., 1983; Klein et al., 1984).

#### 2.4.2 Typische Linsenveränderungen bei Diabetes mellitus

Bei Patienten mit Diabetes mellitus treten mehrere differierende Veränderungen der Linse gehäuft auf.

Es kommt zu einer Zunahme der Linsendicke. Es können refraktive Veränderungen nachgewiesen werden, wobei hier zwischen vorübergehenden und dauerhaften Änderungen der Brechkraft unterschieden werden muß. Weiterhin sind die Zunahme der Lichtstreuung, eine Akkumulation von Chromophoren sowie eine Zunahme der Autofluoreszenz beschrieben worden. Eine wesentliche Linsenveränderung bei Diabetes mellitus stellt die Kataraktentwicklung dar. Außerdem sind Kapselveränderungen zu nennen (Bron et al., 1993). Die Kataraktentstehung bei Patienten mit Diabetes mellitus ist assoziiert mit Schwellung und Vakuolenbildung der Linse und später auch mit einer erhöhten Membranpermeabilität. Damit gehen zum einen ein Verlust von Myoinositol und Kalium und zum anderen ein Einstrom von Natrium in die Linse einher (Bron et al., 1993). Es wurde eine Verringerung der Aktivität der Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase beschrieben (Fournier et al., 1971). Die Verluste an Aminosäuren, Myoinositol, Cholin und Taurin führen zu einem Anstieg der Membranpermeabilität und möglicherweise zu einer Abnahme der Transportkapazität des Linsenepithels.

Die juvenile diabetische Katarakt ist heute mit dem routinemäßigen Einsatz einer effektiven Insulintherapie selten geworden. Gemäß Definition spricht man von juveniler diabetischer Katarakt bei Insulin-abhängigem Diabetes, der vor dem Lebensalter von 30 Jahren auftritt (Neilson et al., 1984). Bei Kindern konnten diese Veränderungen relativ selten beobachtet werden. Die dabei typische „Schneeflockenkatarakt“ tritt nur über einen begrenzten Zeitraum vor allem in den

beiden ersten Lebensdekaden auf. Dem gegenüber steht die ausgedehnte Phase mit refraktiven Linsenveränderungen, die sich vom Jugendalter bis in die achte Lebensdekade erstrecken kann. Charakteristisch ist, daß die „Schneeflockenkatarakt“ zeitgleich mit wichtigen physiologischen Formveränderungen der Linse, die in einer geringfügigen sagittalen und einer bedeutenden äquatorialen Ausdehnung bestehen, einhergeht. Typische Formen der diabetischen juvenilen Katarakt sind subkapsuläre und in der Rinde gelegene schneeflockenartige und polychromatische Trübungen sowie Vakuolen verschiedener Ausprägung (Bron et al., 1993). Sie können einerseits innerhalb von Wochen bis Monaten bis zu einer maturen Katarakt führen, auf der anderen Seite wurde ein Rückgang der Trübungen unter suffizienter Behandlung innerhalb von Wochen und z. T. sogar innerhalb von 24 Stunden beschrieben (Alt, 1906; Jackson, 1955; Caird et al., 1969; Brown et al., 1973).

Auch bei den erwachsenen Diabetikern zeigt sich eine deutlich erhöhte Inzidenz einer Katarakt im Vergleich zur stoffwechselgesunden Bevölkerung, wobei Frauen häufiger betroffen sind als Männer (Ederer et al., 1981; Bron et al., 1993). Die Framingham- und die HANES- Studie zeigten ein herausragendes Risiko für die Entstehung einer Katarakt bei Diabetikern im Lebensalter von 50-64 Jahren, welches mit weiter zunehmendem Lebensalter wieder zurückgeht. Diese Beobachtung wurde auf die höhere Mortalität der Diabetiker mit Katarakt zurückgeführt (Harding et al., 1989; Harding et al., 1993). Die Wahrscheinlichkeit des Auftretens einer Diabetes mellitus-assoziierten Katarakt erhöht sich mit der Dauer des Bestehens des Diabetes (Kreines et al., 1979). Die Morphologie ähnelt der der alterskorrelierten Katarakt ohne das Bestehen eines Diabetes mellitus, obwohl besonders die Anzahl einiger Subtypen ansteigt (Bron et al., 1993). Da der Nicht-Insulin-abhängige Diabetes mellitus am häufigsten bei Patienten, die älter als 41 Jahre alt sind, festgestellt wird, ist es schwierig, präsenile oder senile Linsenveränderungen von einer diabetisch induzierten Katarakt zu unterscheiden. Die typische alterskorrelierte Katarakt ist morphologisch und histologisch nicht von Linsenveränderungen bei Patienten mit Nicht-Insulin-abhängigem Diabetes mellitus zu unterscheiden (Bellows, 1981).

Während bei der reinen alterskorrelierten Katarakt der Kernstar, Rindenspeichen und die subkapsuläre Katarakt die Hauptformen darstellen, konnten bei den Katarakten der erwachsenen Diabetiker insbesondere eine erhöhte Inzidenz der hinteren subkapsulären Katarakt, des Rindenstars sowie von Mischformen dieser beiden gefunden

werden (Leske et al., 1991; Struck, 1997). Dagegen wurde keine Assoziation mit der Cataracta nuclearis festgestellt. Das ist vereinbar mit der Beobachtung, daß die *in-vitro* induzierte diabetische Katarakt mit einer Linsenschwellung einhergeht, ein Phänomen, daß man bei der Cataracta nuclearis nicht beobachtet (Belpoliti, 1993).

Auch die typischen Veränderungen des Linsenepithels wie die Vakuolenbildung, die Erweiterungen der Interzellularräume sowie die Inhomogenität der Zellschicht konnten wie bei alterskorrelierten Katarakten auch bei den Katarakten in Zusammenhang mit einem Diabetes mellitus nachgewiesen werden (Al-Ghoul et al., 1993). Typische Veränderungen der Linsenepithelzellen beim Nicht-Insulin-abhängigen Diabetes mellitus bestehen in der Abrundung und Schwellung der Zellen. Rauhes und glattes endoplasmatisches Retikulum werden intrazellulär angereichert. Diese Veränderungen weisen auf eine gesteigerte metabolische Aktivität hin. Die Anwesenheit intrazellulärer Membrankomplexe deutet auf phagozytische Aktivität (Jacob et al., 1971).

Es konnte kein Zusammenhang zwischen einem bestimmten Katarakttyp und dem gemessenen Sorbitol- oder Myoinositolgehalt der Linsenepithelien festgestellt werden (Belpoliti et al., 1993). Als mögliche Ursache für die erhöhte Kernstreuung und Bruneszenz diabetischer Linsen wurden vermehrte Glykosilierungsreaktionen in Betracht gezogen sowie die Bildung und Ablagerung von Glykosilierungsprodukten (Pande et al., 1979; Ansari et al., 1980; Kasai et al., 1983; Garlick et al., 1984; Liang et al., 1986; Oimomi et al., 1988). So übertrifft die nichtenzymatische Glykosilierung der Linsenepithelbasalmembran bei Diabetikern die der Nichtdiabetiker um mehr als das Zweifache (Shin et al., 1994).

#### 2.4.3 Mechanismen der Kataraktentwicklung bei Diabetes mellitus

Das derzeitig am meisten beachtete Modell für die Entstehung einer Katarakt in Zusammenhang mit Diabetes mellitus baut auf der Aktivierung des Polyol- (Sorbitol-) Stoffwechselweges auf (Robison WG et al., 1990; Bron et al., 1993). Dabei wurde eine Akkumulation von Polyolen in den Linsenepithelzellen, die von einem Zellödem begleitet wird, beschrieben (Robison WG et al., 1990). Die Reduktion von Hexosen (z.B. Glukose und Galactose) und Pentosen (z.B. Xylose) zu ihren jeweiligen Zuckeralkoholen durch das Enzym Aldosereduktase, das im Linsenepithel und in geringerer Konzentration auch in den oberflächlichen Linsenfäsern nachgewiesen

werden konnte, wird als ausschlaggebend für die Induktion einer Veränderung der osmotischen Regulation der Linse angesehen. Diese bedingen eine erhöhte Membranpermeabilität, welche zum Verlust von Kalium, freien Aminosäuren und Myoinositol sowie zur Akkumulation von Natrium- und Chloridionen führt. Es folgen die Schwellung der Linse, Vakuolenbildung, Verlust der strukturellen Integrität der Membranen, Brüche von Linsenfasern sowie letztlich die irreversible Linsentrübung (Kinoshita et al., 1962; van Heyningen, 1962; van Heyningen, 1969; Collins et al., 1977; Jedziniak et al., 1981; Agaki et al., 1983; Kinoshita, 1990; Robison WG et al., 1990). Da alle diese Veränderungen durch die orale Medikation mit verschiedenen Aldosereduktase-Inhibitoren bei Ratten verhindert werden können, ist es denkbar, daß die Aldosereduktase-Aktivität ausschlaggebend für die Entstehung der diabetischen Katarakt ist. Die Aldosereduktase ist hauptsächlich im Linsenepithel konzentriert. Ihre Verteilung verhält sich in der Linse wie folgt: Linsenepithel:Linsenrinde:Linsenkern = 21:1:1,1 (Hayman et al., 1966). Eine Studie mit genetisch manipulierten Mäusen, die das Enzym Aldosereduktase stärker in ihren Linsenepithelien synthetisierten, wies eine höhere Empfindlichkeit dieser Mäuse für die Entwicklung einer diabetischen Katarakt nach (Lee et al., 1995).

Zur Sicherung der Vermutung, welche Bedeutung das Linsenepithel bei der Entwicklung der diabetischen Katarakt hat, führten Robison et al. folgenden *in vivo*-Versuch durch: Männliche Sprague-Dawley-Ratten wurden in 3 Gruppen aufgeteilt, die Galactose-freie Diät, Galactose-Diät und zum Dritten Galactose-Diät in Verbindung mit einem potenten Aldosereduktase-Inhibitor erhielten. In der Gruppe der ausschließlich mit Galactose gefütterten Tiere konnten schon nach 36 Stunden signifikante Veränderungen des zentralen vorderen Linsenepithels nachgewiesen werden. Es kam zu einem deutlichen Höhenanstieg des Linsenepithels, und die Zellkerne neigten zur Abrundung entgegen ihrer sonst etwas länglichen Form. Außerdem traten Vakuolen auf. Es zeigte sich eine Verdünnung des Zellinhaltes und ein Verlust der gewunden verlaufenden Zellgrenzen verglichen mit den Kontrollgruppen mit der Galactose-freien Diät sowie der Gruppe mit der zusätzlichen Gabe des Aldosereduktase-Inhibitors. Diese Streckung der vormals gewundenen Zellgrenzen und die damit verbundene ausgeprägte morphologische Verdrehung der Zellen beeinflußt zweifellos deren verschiedene regulatorische Mechanismen und somit die Funktion des Linsenepithels. Nach 48 Stunden zeigte sich in dieser Gruppe

die Ausbildung von interzellulären Vakuolen und Zysten im Areal der oberflächlichen Linsenfaser. Die gewonnenen Daten belegen, daß die ersten pathologischen Veränderungen das Linsenepithel betreffen. Da die Gabe des Aldosereduktase-Inhibitors diese Veränderungen vollständig verhindert, ist eine ursächliche Beteiligung des Linsenepithels an der Kataraktogenese bei Diabetes mellitus denkbar. Im Vergleich zu Rattenlinsen kann es aufgrund der geringeren Aktivität der Aldose-reduktase in menschlichen Linsenepithelien hier nicht zu einer solch bedeutenden Akkumulation von Polyolen bei Diabetikern kommen. Die Mengen des gefundenen Sorbitols erscheinen nicht ausreichend, um einen osmotischen Effekt auszuüben. Wenn Sorbitol in erster Linie auf das Linsenepithel begrenzt ist, ist eine regionale Schwellung mit resultierenden Funktionsstörungen allerdings auch bei der menschlichen Linse möglich (Robison et. al., 1990).

Ein anderes Modell, das die Entstehung einer Katarakt bei Diabetes mellitus erklären soll, baut auf Oxydationsreaktionen auf, denen die Linse bei dieser Stoffwechselerkrankung wie auch alle anderen Körpergewebe ständig ausgesetzt ist. Dabei konnte bisher nur eine indirekt schädigende Wirkung dieser Reaktionen nachgewiesen werden, die vor allem darin besteht, daß die Linse bei gleichzeitiger diabetischer Stoffwechsellage eine erhöhte Vulnerabilität gegenüber dem oxidativen Streß zeigt (Bron et al., 1993). Es kommt zu einer Umwandlung von Thiolen der Linsenepithelzellmembranen in ihre reaktive Form durch die  $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$  (Rossier et al., 1987). Diese aktivierten Thiole wiederum bedingen eine erhöhte Permeabilität der Membranen, die zu einer osmotischen Dysregulation der Linse führen können und so Ausgangspunkt für Linsenschwellung, Faserbruch und Trübung sind (Duncan et al., 1991).

Bei der juvenilen diabetischen Katarakt wurde ein erhöhter Gehalt an Sorbitol verglichen mit den geringfügigen Sorbitolkonzentrationen bei Patienten ohne diese Stoffwechselerkrankung in den Linsenepithelzellen festgestellt (Pirie et al., 1964; Varma et al., 1979). Die gefundenen Konzentrationen sind aber trotz des relativen Anstieges so gering, daß sie gegenüber der Linsenmasse nicht zu osmotischen Schädigungen führen sollen (Chylack et al., 1978; Varma et al., 1979). Wenn die Sorbitolakkumulation im Linsenepithel die Ursache für die Entstehung der juvenilen diabetischen Katarakt sein sollte, dann sind eine Dysregulation der Zellmembran-

permeabilität und der Membranpumpen als kausale Mechanismen wahrscheinlicher als osmotische Vorgänge (Bron et al., 1993).

Auch in Hinblick auf eine Verzögerung oder sogar ein Stoppen der Kataraktentwicklung ist die optimale Einstellung des Blutzuckerspiegels von nachgewiesener Bedeutung. Allerdings kann beim Nicht-Insulin-abhängigen Diabetes mellitus nur selten eine Rückbildung der Linsentrübungen nach sorgfältiger Therapie erzielt werden (Bellows, 1981).

### **3 Zielstellung**

Aus den in der Einleitung beschriebenen Erfahrungen und Problemen bei den Untersuchungen zur Kataraktogenese und insbesondere zur Rolle des Linsenepithels bei der Kataraktogenese der alterskorrelierten Katarakt sowie zur Rolle des Einflusses des NIDDM auf diese Prozesse wurden folgende Ziele für die vorliegende prospektive Studie abgeleitet.

Ziel der Studie war, den Einfluß des Lebensalters und des Geschlechts der Patienten sowie eines vorhandenen NIDDM auf morphologische und funktionelle Parameter des Linsenepithels zu untersuchen.

⇒ Es sollten mögliche Zusammenhänge zwischen den mit Hilfe der Spaltlampenmikroskopie festgestellten verschiedenen Trübungsformen der Linsen und dem Einfluß des NIDDM untersucht werden.

⇒ Die Morphologie aller Linsenepithelien sollte am Rasterelektronenmikroskop begutachtet und dabei alle aufgetretenen Veränderungen der einzelnen Zellen sowie des Zellverbandes dokumentiert werden. Auf dieser Grundlage sollte allen Linsenepithelien ein definierter Score von I bis III für den Schädigungsgrad zugeordnet werden. Die gewonnenen Ergebnisse sollten zum Lebensalter und Geschlecht der Patienten sowie zur zusätzlichen Existenz eines NIDDM in Bezug gesetzt werden.