

Aus dem Zentrum für Augenheilkunde
der Universität zu Köln
Klinik und Poliklinik für Allgemeine Augenheilkunde
Direktor: Universitätsprofessor Dr. med. Claus Cursiefen

**Quantitative Analyse des subbasalen
Nervenplexus der Kornea mittels kornealer
konfokaler Mikroskopie bei Patienten mit
Chemotherapie-induzierter Polyneuropathie**

Inaugural-Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät
der Universität zu Köln

vorgelegt von
Nazik Baghdasaryan
aus Eriwan, Armenien

promoviert am 16. März 2026

Dekan: Universitätsprofessor Dr. med. Gereon R. Fink

1. Gutachter: Universitätsprofessor Dr. med. L. M. Heindl
2. Gutachterin: Privatdozentin Dr. med. F. Bucher

Erklärung

Ich erkläre hiermit, dass ich die vorliegende Dissertationsschrift ohne unzulässige Hilfe Dritter und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe; die aus fremden Quellen direkt oder indirekt übernommenen Gedanken sind als solche kenntlich gemacht.

Bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskriptes habe ich Unterstützungsleistungen von folgenden Personen erhalten:

Univ.-Prof. Dr. Dr. med. Ludwig M. Heindl
PD Dr. med. F. Bucher
Dr. med. J. Philipps
PD Dr. med H.-J. Hettlich
Prof. Dr. med. J. Borggreffe
Herr V. Navasardyan
Dr. med. M. Katz
Prof. Dr. med. M. Gießhammer
Prof. Dr. med. P. D. Schellinger
Dr. med L. Hesse
Dr. med W. Fan
PD Dr. rer. biol. hum. W. Adler
Dr. rer. nat. Dipl.-Biol. P. Schiller

Weitere Personen waren an der Erstellung der vorliegenden Arbeit nicht beteiligt. Insbesondere habe ich nicht die Hilfe einer Promotionsberaterin/eines Promotionsberaters in Anspruch genommen. Dritte haben von mir weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertationsschrift stehen.

Die Dissertationsschrift wurde von mir bisher weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde vorgelegt.

Die Rekrutierung aller Patienten erfolgte durch eine enge Zusammenarbeit zwischen der Augenambulanz, der Neurologie Ambulanz und der Onkologie Ambulanz des Johannes Wesling Klinikums in Minden. Die Koordination dieser Prozesse habe ich in Abstimmung mit Dr. med. M. Katz übernommen.

Die in dieser Arbeit zugrunde liegenden augenärztlichen Untersuchungen und Kontrolle wurden von mir sowie Dr. med. L. Hesse in der Augenambulanz des Johannes Wesling Klinikums in Minden durchgeführt.

Die Auswertung der erhobenen augenärztlichen Befunde für diese Arbeit erfolgte ausschließlich durch mich.

Für die Analyse der erfassten Bilder der Konfokalmikroskopie habe ich das spezifische kostenfreie semiautomatische Programm "ImageJ" (Version 1.54b, Rasband, W.S., ImageJ, U.S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA. <https://rsb.info.nih.gov/ij/>) in Kombination mit dem NeuronJ-Plugin (<https://imagescience.org/meijering/software/neuronj/>) verwendet.

Sowohl ich als auch Dr. med. Hesse hatten Zugriff auf ergänzende klinische Informationen der Patienten, um eine umfassende und fundierte Beurteilung der jeweiligen Krankheitsbilder sicherzustellen.

Die neurologischen Untersuchungen sowie die klinische Analyse ihrer Ergebnisse wurden hingegen ohne meine Mitarbeit von Dr. med. M. Katz in der Neurologie Ambulanz des Johannes Wesling Klinikums in Minden durchgeführt und die erfassten Ergebnisse zur Verfügung gestellt.

Die kommerzielle Software bei dieser Arbeit umfasste Microsoft Excel 2021 (Microsoft Corp., Redmond, Washington, USA). Für sämtliche statistischen Analysen wurden die Software R in der Version 4.3.1 (R Foundation for Statistical Computing, Wien, Österreich; <https://www.R-project.org/>) sowie Stata in der Version 18 (StataCorp, College Station, Texas, USA; <https://www.stata.com/new-in-stata/>) verwendet. Diese wurden in enger Zusammenarbeit mit PD Dr. rer. biol. hum. W. Adler, sowie unter Beratung von Dr. rer. nat. Dipl.-Biol. P. Schiller durchgeführt.

Das Manuskript weist eine eigenständige Verfassung von ca. 90 % auf.

Erklärung zur guten wissenschaftlichen Praxis:

Ich erkläre hiermit, dass ich die Ordnung zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis und zum Umgang mit wissenschaftlichem Fehlverhalten (Amtliche Mitteilung der Universität zu Köln AM 132/2020) der Universität zu Köln gelesen habe und verpflichte mich hiermit, die dort genannten Vorgaben bei allen wissenschaftlichen Tätigkeiten zu beachten und umzusetzen.

Minden, den 20.08.2025

Unterschrift:

Danksagung

Zuerst möchte ich meinen tiefsten Dank und meine aufrichtige Wertschätzung meinem hochgeschätzten Doktorvater, Univ.-Prof. Dr. Dr. med. Ludwig M. Heindl, aussprechen. Seine fachliche Expertise, seine Unterstützung und wertvollen Ratschläge haben es mir ermöglicht, meine Forschungsarbeit erfolgreich abzuschließen und meine wissenschaftlichen Fähigkeiten weiterzuentwickeln. Durch seine Ideengebung wurde mir ein spannendes Thema anvertraut, das mein Interesse an der Forschung geweckt hat. Ich bin ihm zutiefst dankbar für seine geduldige Anleitung und motivierenden Worte.

Ich möchte mich herzlich bei PD Dr. med. F. Bucher für die wertvolle Unterstützung und die stets freundliche und kompetente Betreuung bedanken. Ihre Expertise und Ihr Engagement haben mir sehr geholfen, und ich schätze Ihre Bemühungen außerordentlich.

Ein besonderer Dank gebührt dem Studienleiter Dr. med. J. Philipps für die außergewöhnliche und intensive Betreuung während der gesamten Dissertation. Seine Leidenschaft für das Fachgebiet der Neuropathien und die umfassende Begleitung über mehrere Jahre haben maßgeblich zum Erfolg dieser Arbeit beigetragen.

Ein herzliches Dankeschön geht auch an PD Dr. med. H.-J. Hettlich, Prof. Dr. med. M. Gießhammer, Prof. Dr. med. P. D. Schellinger und Prof. Dr. med. J. Borggrete für ihre wertvollen Beiträge und ihre Unterstützung während meiner Dissertation. Ihre fachliche Kompetenz und ihre Bereitschaft, ihr Wissen mit mir zu teilen, haben einen entscheidenden Einfluss auf meine Arbeit gehabt.

Ein aufrichtiger Dank gilt auch meinen Kollegen Herrn V. Navasardyan, Dr. med. M. Katz und D. med. W. Fan. Ich schätze ihre Unterstützung, Zusammenarbeit und die angenehme Arbeitsatmosphäre, die sie in den Forschungsprozess eingebracht haben, sehr. Ihre Kollegialität und ihr Engagement haben mir stets geholfen, motiviert zu bleiben.

Ebenso möchte ich meiner Familie und meinen Freunden meinen lieben Dank aussprechen, die mich in jeder Phase meiner akademischen Laufbahn unterstützt und ermutigt haben. Ihr unermüdlicher Glaube an mich und eure bedingungslose Liebe haben mich stets motiviert, mein Bestes zu geben.

Ich möchte auch unseren Patienten danken, die an dieser Studie teilgenommen haben. Ihre Bereitschaft, ihre Zeit und ihre Daten zur Verfügung zu stellen, war von unschätzbarem Wert. Ohne ihre Teilnahme wäre meine Forschungsarbeit nicht möglich gewesen.

Abschließend möchte ich allen Personen danken, die in irgendeiner Weise zu meiner Dissertation beigetragen haben, sei es durch fachliche Unterstützung, aufmunternde Worte oder moralische Unterstützung.

Vielen Dank an alle!

Nazik Baghdasaryan

Minden, den 20.08.2025

Für meine Eltern und meine Familie

Inhaltsverzeichnis

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	8
1. ZUSAMMENFASSUNG	9
2. EINLEITUNG	11
2.1 Chemotherapie-induzierte Polyneuropathie	11
2.1.1. Chemotherapeutika: Taxane und Vinca-Alkaloiden	12
2.1.2. Total Neuropathy Score	13
2.2 Innervation der Kornea - Subbasaler Nervenplexus	15
2.2.1. Visualisierung von SNP - kornealer konfokaler Mikroskopie	16
2.2.2. Auswertung der kornealen konfokalen Mikroskopie	19
2.2.3. Anwendung der kornealen konfokalen Mikroskopie	22
2.3 Fragestellungen und Ziel der Arbeit	26
3. PUBLIKATION	27
4. DISKUSSION	27
5. LITERATURVERZEICHNIS	48
6. ANHANG	57
6.1 Abbildungsverzeichnis	57
6.2 Tabellenverzeichnis	57

Abkürzungsverzeichnis

CIPN - Chemotherapie-induzierte Polyneuropathie

TNS - Total Neuropathy Score

SNP - Subbasal Nerve Plexus

CCM - Corneal Confocal Microscopy

HRT III - Heidelberg Retina Tomograph III

RCM - Rostock Cornea Module

CNFL - Cornea Nerve Fiber Length

CNFD - Cornea Nerve Fiber Density

CNBD - Cornea Nerve Branching Density

CNFT - Corneal Nerve Fiber Tortuosity

1. Zusammenfassung

Die Chemotherapie-induzierte Polyneuropathie ist eine der häufigsten Langzeittoxizitäten und schwerwiegende Nebenwirkungen der Chemotherapie und wird zunehmend als bedeutendes klinisches Problem in der Onkologie anerkannt.¹⁻⁷

Die koronale konfokale Mikroskopie bietet eine nicht-invasive, reproduzierbare Methode zur direkten Visualisierung und Abbildung der Nervenfasern des subbasalen Nervenplexus der Hornhaut und stellt damit ein kraftvolles klinisches sowie wissenschaftliches Instrument dar.³⁸⁻

39

Ein wesentlicher Vorteil der koronalen konfokalen Mikroskopie besteht darin, dass sie eine wiederholte Untersuchung im Verlauf ohne Gewebeverletzungen ermöglicht und somit die Einschränkungen invasiver Biopsiemethoden umgeht.⁶⁰

Die klinische Anwendung konfokalen Mikroskopie als bildgebendes Biomarker zur Quantifizierung von Abnormitäten im subbasalen Nervenplexus der Kornea bei verschiedenen neuropathischen Erkrankungen, einschließlich der Chemotherapy-induzierten Polyneuropathie, ist in zahlreichen Studien belegt.⁶⁶⁻⁹⁰

Das Potenzial von kornealer konfokaler Mikroskopie zur frühzeitigen Erkennung einer Chemotherapie-induzierten Polyneuropathie bleibt jedoch unklar.

In dieser Studie wurde die Eignung der koronalen konfokalen Mikroskopie für die Frühdiagnose der Chemotherapie-induzierten Polyneuropathie bei Krebspatienten untersucht und ihre diagnostische Nützlichkeit sowohl während der Chemotherapie als auch nach der Beendigung der Chemotherapie im Vergleich zur klinischen Evaluation mittels des Total Neuropathy Score beurteilt.

Unsere Ergebnisse deuten darauf hin, dass konfokale Mikroskopie ein besonders attraktives diagnostisches Werkzeug sowie eine praktikable Methode zur frühzeitigen Detektion von Veränderungen im subbasalen Nervenplexus der Kornea bei Patienten mit Chemotherapie-induzierten Polyneuropathie darstellen könnte.

Die frühzeitige Erkennung von Veränderungen der kleinsten Nervenfasern in der Hornhaut bietet ein wertvolles Zeitfenster, um Behandlungsstrategien bei der Chemotherapie anzupassen und möglicherweise das Fortschreiten der Polyneuropathie zu verhindern oder abzumildern.

Veränderungen im subbasalen Nervenplexus könnten potenziell auch als Prädiktoren für Chemotherapie-induzierte Neurotoxizität dienen und damit eine Prävention der Polyneuropathie bei Krebspatienten unterstützen, die ein häufiges und langfristiges klinisches Problem in der Onkologie darstellt.

Um die Zuverlässigkeit der Ergebnisse zu erhöhen, erscheint eine weitere Studie mit einer größeren Stichprobe wünschenswert. Zudem wäre die Etablierung standardisierter Protokolle für die Datenanalyse der kornealen konfokalen Mikroskopie sowie für die Bildauswahl von Vorteil. Dieser Schritt würde die systematische Weiterentwicklung des Themenbereichs in zukünftigen Forschungen fördern und die Bewertung seiner Nützlichkeit als Biomarker sowie als ergänzende Methodik zu bestehenden klinischen Techniken unterstützen.⁹⁶

2. Einleitung

2.1 Chemotherapie-induzierte Polyneuropathie

Die Chemotherapie-induzierte Neurotoxizität wird zunehmend als bedeutendes klinisches Problem in der Onkologie anerkannt, wobei gängige Chemotherapeutika (Taxane, Vinca-Alkaloide, Platin-Derivate, Proteasom-Inhibitoren, antiangiogene/immunmodulatorische Wirkstoffe, Eribulin) periphere Neuropathien verursachen können.¹⁻⁵

Die Chemotherapie-induzierte Polyneuropathie (CIPN) ist eine der häufigsten Langzeittoxizitäten und schwerwiegende nicht-hämatologische Nebenwirkungen der Chemotherapie.^{6, 7}

Bei der CIPN handelt es sich um eine Schädigung der peripheren Nerven, die zu jedem Zeitpunkt nach Beginn der Chemotherapie auftreten können. Dabei ist es möglich, dass die Symptome bereits während der laufenden Chemotherapie auftreten, sich jedoch auch Wochen bis Monate nach Beendigung der Behandlung entwickeln oder fortschreiten. Dieser Verlauf wird als „Coasting“-Phänomen bezeichnet.^{7, 8}

Eine Meta-Analyse, die sowohl randomisierte kontrollierte Studien als auch Kohortenstudien einschließt, hat ergeben, dass etwa 50 % der Patienten während einer Chemotherapie eine Polyneuropathie entwickeln. Die Prävalenz der CIPN beträgt etwa 68 % nach einem Monat der Behandlung. Darüber hinaus persistiert die Neuropathie bei ca. 30% der Patienten über einen Zeitraum von mehr als 6 Monaten.⁸

Die genaue Prävalenz und Inzidenz von CIPN unterscheiden sich je nach den verwendeten Chemotherapeutika und deren Kombinationen und Therapieregimen, wobei viele Autoren auf eine erhebliche Untererfassung hinweisen.⁹

Die klinischen Manifestationen der CIPN umfassen sowohl sensorische als auch sensorisch-motorische periphere Neuropathien, die die großen myelinisierten Fasern und die kleinen unmyelinisierten Fasern betreffen können. Zudem kann CIPN entweder mit oder ohne autonomer Dysfunktion auftreten.¹⁰

Am häufigsten manifestiert sich die CIPN als sensomotorische Neuropathie mit symmetrischen Symptomen. Typischerweise umfasst dies Taubheitsgefühle, Verlust des Propriozeptionssinns, Kribbeln, Missempfindungen wie Brennen oder Ameisenlaufen, Hyperalgesie oder Allodynie in den Händen oder Füßen, meist in einer Handschuh- und Strumpfverteilung.¹¹

Die genaue pathophysiologische Grundlage der CIPN ist bislang nicht vollständig verstanden, da die Entwicklung der Erkrankung vermutlich auf multiple Beteiligungen im peripheren Nervensystem zurückzuführen ist, was die Erforschung ihrer Mechanismen erschwert.^{1, 10, 12}

Neurotoxizität ist eine belastende Nebenwirkung von Chemotherapien, die häufig die vollständige Verabreichung der wirksamen Dosis verhindern kann. In schweren Fällen führt sie zu Dosisreduktionen, Behandlungsverzögerungen oder Behandlungsabbrüchen.^{13,14} Darüber hinaus beeinträchtigt CIPN die optimale Behandlung der aktiven Krankheit, erhöht das Risiko für Mortalität und kann langfristig zu einer verminderten Lebensqualität führen.⁷

Aufgrund der steigenden Zahl maligner Erkrankungen sowie neuer Substanzen in der Chemotherapie gewinnt die CIPN zunehmend an klinischer Relevanz. Mit verbesserten Diagnosemöglichkeiten und Fortschritten in der Onkologie steigt zudem die Zahl der Krebsüberlebenden. Dies stellt eine bedeutende Herausforderung für die langfristige Behandlung und Nachsorge von Krebspatienten dar.^{15, 16}

Derzeit sind keine nachweislich wirksame Präventions- oder Therapiemöglichkeiten für CIPN verfügbar, wodurch ein erheblicher ungedeckter Bedarf für Patienten besteht, da CIPN ein häufiges und belastendes klinisches Problem darstellt.^{8, 12} Zahlreiche Ansätze, die auf die Symptomlinderung und die Modifikation der zugrunde liegenden Pathophysiologie abzielen, haben sich bislang als ineffizient erwiesen. Eine pharmakologische Prophylaxe der CIPN ist bisher ebenfalls nicht etabliert.^{13, 17, 18}

Die zeitnahe Dosismodifikation der zugrunde liegenden Substanz kann dazu beitragen, Unterbrechungen oder Beendigungen der onkologischen Therapie zu vermeiden.¹⁸ Dabei sind eine frühzeitige Erkennung und Überwachung der CIPN entscheidend, um langfristige funktionelle Beeinträchtigungen zu minimieren und die Lebensqualität der Krebspatienten zu erhalten.¹⁹

2.1.1. Chemotherapeutika: Taxane und Vinca-Alkaloiden

Taxane (Paclitaxel) und Vinca-Alkaloide (Vincristine) gehören zu den primären Klassen von Chemotherapeutika, die mit CIPN assoziiert sind.^{13, 17, 18}

Paclitaxel verursacht typischerweise eine sensorische Neuropathie, die als Kribbeln, Taubheit oder neuropathischer Schmerz in den Händen und/oder Füßen beschrieben wird.^{11, 20} Zudem kann Paclitaxel ein akutes Schmerzsyndrom mit Myalgie und Arthralgie innerhalb von 1–4 Tagen nach der Infusion verursachen,²¹ wobei schweres akutes Schmerzsyndrom als Indikator

für das Risiko der Entwicklung einer Chemotherapie-induzierten sensorischen Neuropathie ist.²²

Bei der Anwendung von Paclitaxel entwickeln rund 93% der behandelten Patienten eine milde bis moderate Neuropathie, wobei sich bei etwa 25% von ihnen ein schwerer Verlauf entwickelt.²³

Die meisten Patienten können eine Besserung oder Auflösung der Symptome innerhalb eines Zeitraums von 3-6 Monaten nach Absetzen der Behandlung mit Paclitaxel erwarten, jedoch neigen schwerere Fälle weniger dazu, sich zu verbessern.²⁴⁻²⁶

Eine autonome Neuropathie tritt am häufigsten im Zusammenhang mit Vinca-Alkaloiden auf und äußert sich durch orthostatische Hypotonie, schwere Obstipation sowie erektile Dysfunktion. Sowohl Paclitaxel als auch Vincristine können neurotoxische Wirkungen auf motorische Nervenfasern ausüben, was zu entsprechenden motorischen Defiziten führen kann.¹²

Die klinische Manifestation einer CIPN infolge von Vincristine zeigt sich vorwiegend als sensomotorische Neuropathie der oberen und unteren Extremitäten. Diese führt zu Beeinträchtigungen der Feinmotorik und erhöht die Behinderungsrate, was die funktionelle Leistungsfähigkeit sowie die Lebensqualität der betroffenen Patienten erheblich einschränkt. Die Prävalenz dieser Nebenwirkung liegt bei etwa 75 % während der laufenden Therapie und nach drei Monaten post-Therapie berichten noch ca. 50 % der Patienten über persistierende Symptome der CIPN. Dies kann auf eine langanhaltende neurologische Beeinträchtigung hinweisen.¹⁵

2.1.2. Total Neuropathy Score

Der Total Neuropathy Score (TNS) ist eine validierte Maßnahme zur Beurteilung der peripheren Nervenfunktion und kann in klinischen Studien zur peripheren Neuropathie verwendet werden.²⁷

Der TNS stellt ein detailliertes und zuverlässiges Instrument zur präzisen Klassifikation und Bewertung der CIPN dar. Es integriert sowohl subjektive Symptombereiche der Patienten als auch objektive klinische Befunde.²⁸⁻³⁰

Obwohl kein allgemein anerkannter Grenzwert für den TNS zur Diagnosestellung einer CIPN etabliert ist, korreliert ein erhöhter TNS-Wert mit zunehmender Schwere der neuropathischen Beteiligung bei peripheren Neuropathien. Aufgrund seiner umfassenden Erfassung

neuropathischer Manifestationen und der nachgewiesenen Korrelation zwischen erhöhten TNS-Werten und der onkologischen Klassifikation der peripheren Neurotoxizität stellt der TNS ein wertvolles Instrument für die Diagnosestellung und das Monitoring der CIPN dar.³⁰

In unserer Studie zur Bewertung des Vorhandenseins sowie des Schweregrads einer CIPN wurde der TNS gewählt. Die Parameter des TNS sind in Tabelle 1 zusammengefasst.

Tabelle 1. Parameter des Total Neuropathy Score in unserer Studie

Parameter	Score				
	0	1	2	3	4
Sensorische Symptome	Keine	Symptome beschränkt auf Finger oder Zehen	Symptome erstrecken sich auf Knöchel oder Handgelenk	Symptome erstrecken sich auf Knie oder Ellenbogen	Symptome oberhalb der Knie oder Ellenbogen oder funktionell beeinträchtigend
Motorische Symptome	Keine	Leichte Beeinträchtigung	Mäßige Beeinträchtigung	Berufung auf Hilfe/ Unterstützung	Paralyse
Autonome Symptome	0	1	2	3	4
Pin-Sensibilität	Normal	Vermindert in Fingern/ Zehen	Vermindert bis zum Handgelenk/ Fußgelenk	Vermindert bis zum Ellenbogen/ Knie	Vermindert bis über den Ellenbogen/ Knie
Vibration Sensibilität	Normal	Vermindert in Fingern/Zehen	Vermindert bis zum Handgelenk/ Fußgelenk	Vermindert bis zum Ellenbogen/ Knie	Vermindert bis über den Ellenbogen/ Knie
Muskelkraft	Normal	Leichte Schwäche	Mäßige Schwäche	Schwere Schwäche	Lähmung
Tiefe Sehnenreflexe	Normal	Kniesehnenreflex vermindert	Kniesehnenreflex absent	Kniesehnenreflex absent, andere vermindert	Alle Reflexe absent
Vibrationssinn	Normal bis 125% oN	126-150% oN	151-200% oN	201-300% oN	>300% oN
Suralnerve SAP	Normal/ vermindert bis <5% uN	76-95% vom uN	51-75% vom uN	26-50% vom uN	0-25% vom uN

Peronealnerve CMAP	Normal/ vermindert bis <5% uN	76-95% vom uN	51-75% vom uN	26-50% vom uN	0-25% vom uN
-----------------------	--	------------------	------------------	------------------	-----------------

Abkürzungen: oN, obere Normgrenze; uN, untere Normgrenze; SAP (amplitude of the sensory potential), Amplitude des sensorischen Potentials (normal Wert ≥ 6 mV); CMAP (amplitude of the compound muscular potential), Amplitude des gemischten Muskelaktionspotentials (normal Wert ≥ 2 mV).

Dieses Bewertungssystem umfasst sowohl subjektive als auch objektive Merkmale und ermöglicht eine umfassende Einschätzung der sensorischen, motorischen und autonomen Funktionen des peripheren Nervensystems bei einer Chemotherapie.³⁰

2.2 Innervation der Kornea - Subbasaler Nervenplexus

Die menschliche Hornhaut (Kornea) ist durch ihre außergewöhnlich hohe Anzahl an Nervenfasern und ihre Transparenz gekennzeichnet. Dadurch bietet sie eine einzigartige, nicht-invasive Möglichkeit zur in vivo-Visualisierung von Nervenstrukturen.^{31–33}

Die Kornea wird hauptsächlich durch sensorische Nervenfasern versorgt, die dem Nervus ophthalmicus als Ast des Nervus trigeminus entstammen und lassen sich Fasern mit polymodalen Rezeptoren für nozizeptive, mechanische und Kältereize zuordnen.^{34, 35}

Die autonomen Nervenfasern in der Kornea setzen sich aus sympathischen Fasern zusammen, die vom Ganglion cervicalis superior ausgehen.³⁶ Darüber hinaus gibt es parasympathische Fasern, die ihren Ursprung im Ganglion ciliare haben.³⁷

Die Nervenbündel treten parallel zur Hornhautoberfläche in radialer Ausrichtung an der Peripherie der Kornea in das mittlere Stromaschichten ein.³⁸ Innerhalb von etwa 1 mm vom Limbus entfernt verlieren die Nervenbündel ihr Perineurium und ihre Myelinscheide. Sie setzen ihren Verlauf in der Kornea fort, umgeben nur von Schwann-Zellhüllen, und teilen sich mehrmals in kleinere Seitenzweige auf. Das Fehlen einer Myelinscheide bei den zentralen Hornhautaxonen ist entscheidend für die Aufrechterhaltung der Hornhauttransparenz.³⁵

Das allgemeine Muster der Innervation der Kornea besagt, dass dicke und gerade Nervenstämmen im Stroma seitlich und nach vorne verlaufen und verzweigen sich dabei in mehrere dünneren Nervenfasern, die das vordere und mittlere Stroma der Kornea versorgen. Diese Fasern durchdringen die Bowman-Membran und bilden schließlich unterhalb der basalen Epithelschicht ein dichtes Netzwerk aus gewundenen und dünnen Nervenfasern, die durch zahlreiche Nerven Elemente miteinander verbunden sind und das Epithel der Kornea innervieren.³⁹

Nervenfasern aus sämtlichen Richtungen konvergierten in Richtung des inferozentrischen Hornhautbereichs, um ein charakteristisches, im Uhrzeigersinn verlaufendes Spiralmuster zu bilden.⁴⁰ Diese Äste bilden das subepitheliale Nervenengeflecht, das sich an der Grenzfläche zwischen der Bowman-Schicht und dem vorderen Stroma befindet.³⁸

Der subbasale Nervenplexus (SNP - Subbasal Nerve Plexus) der Kornea, ein Netzwerk unmyelinisierter Nervenfasern, befindet sich in einer Tiefe von etwa 50 bis 60 µm unterhalb und parallel zur Basalmembran des Hornhautepithels.^{20, 32}

Durch seine reflektierenden Eigenschaften und seiner parallelen Orientierung zur Oberfläche der Kornea kann der SNP mittels kornealer konfokaler Mikroskopie (Corneal Confocal Microscopy - CCM) direkt visualisiert werden.⁴¹

2.2.1. Visualisierung von SNP - korneale konfokale Mikroskopie

Die korneale konfokale Mikroskopie stellt gegenwärtig die bedeutendste und am häufigsten verwendete Methode zur hochauflösenden Darstellung der kornealen Nerven in vivo dar. Sie erlaubt die Untersuchung der Nervenstruktur, der Faserdichte sowie der geometrischen Anordnung des SNP. Der Heidelberg Retina Tomograph III (HRT III, Heidelberg Engineering GmbH, Heidelberg, Germany) in Kombination mit dem Rostock Cornea Module (HRT III/RCM, Heidelberg Engineering GmbH, Heidelberg, Germany) stellt derzeit das Standardgerät zur Erfassung von CCM-Bildern im Rahmen der SNP-Diagnostik dar.³¹

Der HRT III, entwickelt von Heidelberg Engineering als Nachfolger des HRT II, basiert auf konfokaler Laser-Scanning-Technologie und ermöglicht dreidimensionale hochauflösende Bilder der Netzhaut, wobei der HRT II eine Weiterentwicklung des ursprünglichen HRT darstellt, das 1994 eingeführt wurde.⁴²

Mit verbesserter Bildqualität, höherer Auflösung und erweiterten Analysetools konnte der HRT III die Diagnose und Überwachung von Augenerkrankungen deutlich verbessern.

Das RCM ist eine Erweiterung, die speziell für die hochauflösende Bildgebung der Hornhaut konzipiert wurde. Die Entwicklung dieses Moduls wurde in den 1990 Jahren von der Rostocker Arbeitsgruppe um Professor Rudolf F. Guthoff vorangetrieben, um die Funktionalität des HRT III auf die Hornhautanalyse auszudehnen und die Diagnose und Überwachung von Hornhauterkrankungen zu verbessern.⁴³

Die Entwicklung der HRT III und des RCM in der Ophthalmologie ist ein wichtiger Teil der technischen Fortschritte zur Verbesserung der Diagnostik und Behandlung von Augenerkrankungen.

Das HRT III/RCM ist ein fortschrittliches ophthalmologisches Gerät, das zur nicht-invasiven Untersuchung der Hornhaut und des anterioren Auges entwickelt wurde. Es handelt sich um ein konfokales Laser-Scanning-Computertomographie, das eine dreidimensionale hochauflösende Darstellung der Hornhaut und ihrer Strukturen ermöglicht.

Beim Aufsetzen des RCM wird ein spezielles Linsensystem zwischen die Hornhaut und das HRT III eingesetzt. Dadurch wird die Bildebene vom hinteren Augenabschnitt auf die Oberfläche des Auges verschoben.

Das Gerät basiert auf Oberflächen-Fluoreszenz-Techniken und verwendet einen Diodenlaser mit einer Wellenlänge von 670 nm, der durch eine konfokale Optik auf die untersuchte Tiefe fokussiert wird. Durch den fokussierten Laserstrahl und die gepulsten, computergesteuerten Z-Scans entstehen Schnittbilder der Hornhautschichten sowie automatische Bildaufnahmen in verschiedenen Tiefen der Hornhaut. Durch die Erstellung vieler solcher Schichtbilder kann ein dreidimensionales Modell der Hornhaut generiert werden.

Das Gerät ermöglicht die Betrachtung von mikroskopischen Details aller Hornhautschichten einschließlich Nervenfasersicht in hoher Auflösung darzustellen.

Die Software Heidelberg Eye Explorer 2.0 wurde speziell für das HRT II/RCM entwickelt und findet auch bei HRT III/RCM Anwendung. Sie ermöglicht die effiziente Organisation der Patientendaten sowie die Verwaltung der erstellten Bilder.

Während der Untersuchung können alle Bildaufnahmen gleichzeitig auf dem Bildschirm überwacht werden. Es besteht außerdem die Möglichkeit durch die Einzelbildaufnahmen Bilder in einer festgelegten Bildsequenz (Aufnahmen von Bildserien innerhalb einer Schicht) oder komplette dreidimensionale z-Stack-Volumes zu erstellen. Diese Aufnahmen erfolgen durch den internen z-Scan, der eine durchschnittliche Tiefe von etwa 80 µm abdeckt.⁴⁴

Der HRT III/RCM arbeitet im Kontaktmodus mit zwei Objektiven (40-fach und 63-fach, Zeiss, Jena, Deutschland). Dabei erfolgt die Verbindung zwischen dem HRT III/RCM und der Hornhaut durch eine sterile, 0,5 mm dicke Kappe (TomoCap, Heidelberg Engineering GmbH, Heidelberg, Deutschland) mit glatter, flacher Oberfläche sowie einen Verbindungsschnitt aus Gel (z. B. Visco Vision Gel®, Omni Vision GmbH, Deutschland).

Dieser Aufbau sorgt für eine stabile optische Verbindung zwischen der Hornhaut, dem TomoCap und dem Objektiv des Geräts, wodurch hochauflösende Bilder bei minimaler Beeinträchtigung durch Luft möglich sind. Die Live-Kamera auf der untersuchenden Seite des Patienten kann senkrecht zur optischen Achse des Objektivs positioniert werden und ermöglicht die präzise Beobachtung des Auges während der Untersuchung (Abbildung 1).

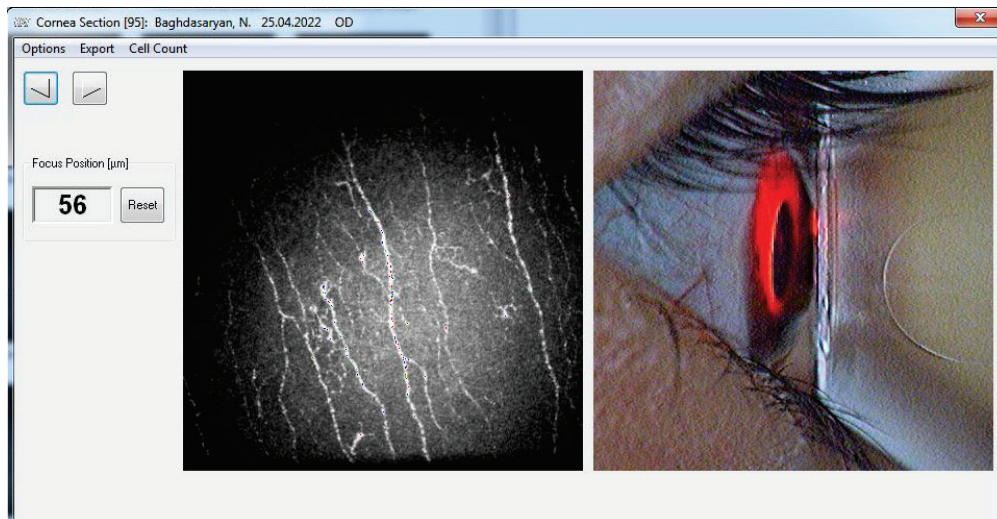
Die aufgenommenen Bilder bei 630-facher Vergrößerung umfassten standartmäßig eine Fläche von $400\text{ }\mu\text{m} \times 400\text{ }\mu\text{m}$ ($0,16\text{ mm}^2$) der zentralen Kornea und wiesen eine Auflösung von 384×384 Pixeln auf.

Abbildung 1. Durchführung der kornealen konfokalen Mikroskopie mit dem Heidelberg Retina Tomograph III in Kombination mit dem Rostock Cornea Module.

a) Die Probandin befindet sich während der CCM am Gerät: Ausrichten des Tomographs und Aufnahme der Bilder.



- b) Durch das Live-Bild der Kamera wird die möglichst zentrale Positionierung des TomoCap kontrolliert. Gleichzeitig erfolgt die Feinfokussierung im Mikrometerbereich, wodurch der subbasale Nervenplexus präzise identifiziert werden kann.



2.2.2. Auswertung der kornealen konfokalen Mikroskopie

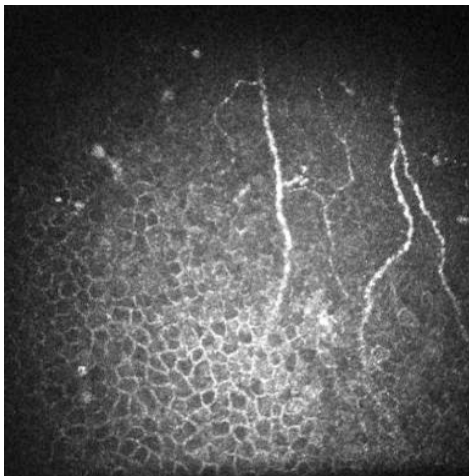
Die Detektion von Nervenstrukturen in CCM-Aufnahmen stellt eine anspruchsvolle Aufgabe dar, da die Nervenfasern aufgrund ihrer mikroskopischen Eigenschaften und des Hintergrundrauschens oft einen geringen Kontrast aufweisen.⁴⁵

Die Quantifizierung von Nervenfasern ist eine Herausforderung in der digitalen Bildverarbeitung, da die Genauigkeit dieser Verfahren maßgeblich von verschiedenen Faktoren beeinflusst wird. Insbesondere schwankende Bildqualität, heterogene Bildmerkmale sowie das Vorhandensein einer Vielzahl von Bildartefakten können die Zuverlässigkeit der Analyse erheblich beeinträchtigen.³¹

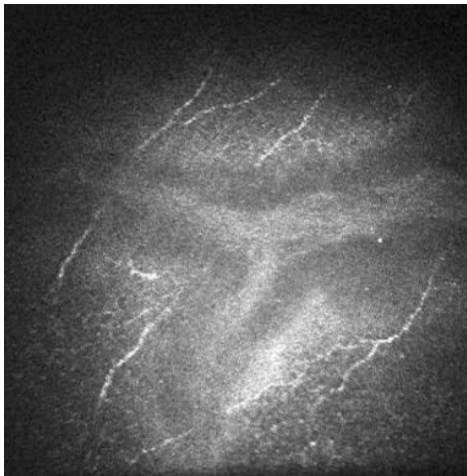
Für die Auswertung werden ausschließlich die Bilder herangezogen, die die höchste Qualität und den maximalen Kontrast aufweisen. Bilder, die nicht in der subbasalen Ebene des Epithels aufgenommen wurden und somit Stroma- oder Epithelstrukturen zeigen, werden ausgeschlossen. Ebenso werden Aufnahmen ausgeschlossen, die aufgrund von Faltenbildung oder Druckartefakten nicht mehr für die weitere Analyse geeignet sind (Abbildung 2).

Abbildung 2. Ausschluss von CCM-Bildern:

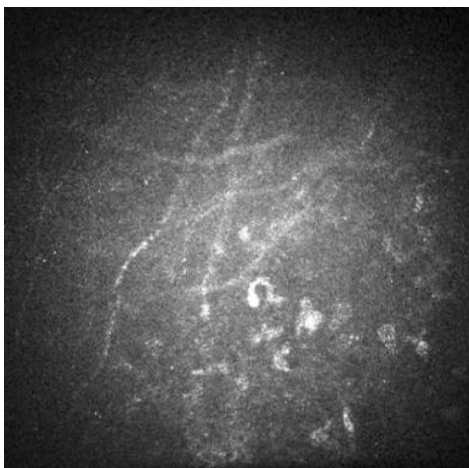
a) Epithel im Bild



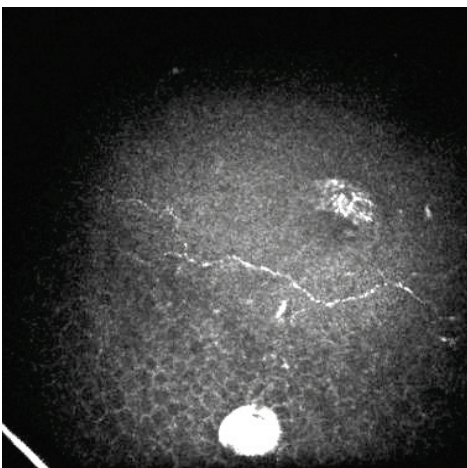
b) Druckartefakte



c) Stroma im Bild



d) Artefakte und Epithel im Bild



Es stehen drei Analysemöglichkeiten für CCM-Bilder zur Verfügung: eine manuelle Auswertung mit CCMetrics (CCMetrics, Image Analysis Software, Universität Manchester, Großbritannien), eine semiautomatische Methode, nutzbar über das ImageJ Analysis Tools (ImageJ, U.S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA), sowie eine vollautomatische Analyse mit ACCMetrics (ACCMetrics, Image Analysis Software, Universität Manchester, Großbritannien).

Die Studien zeigten eine gute Übereinstimmung zwischen der manuellen, semi-automatisierten und vollautomatisierten Analyse der CCM-Bilder.^{45–50}

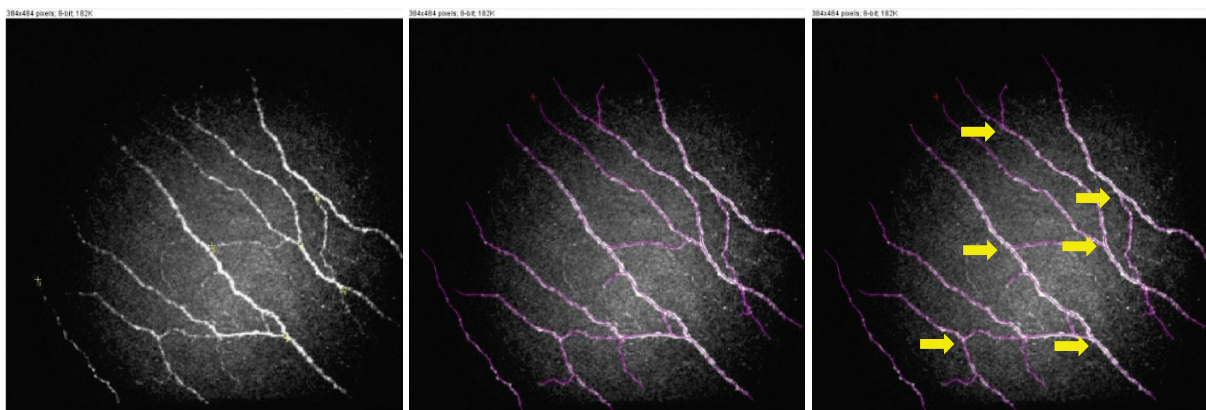
Die semiautomatische Bildanalyse mithilfe der kostenfreien Software ImageJ ist durch das Verfolgungsprogramm NeuronJ möglich.⁵⁰ NeuronJ wird als Plugin für ImageJ bereitgestellt.

Diese Software ermöglicht die präzise Erfassung und Analyse der CCM-Bilder des SNP. Durch die Anwendung von NeuronJ konnten verschiedene Messungen und Berechnungen zur Charakterisierung der Nervenstrukturen im SNP durchgeführt werden.⁵³ (Abbildung 3).

Bei der Anwendung von NeuronJ erfolgt die manuelle Verfolgung fluoreszenzmarkierter Neurone, während ein Algorithmus die Pixelintensitäten des Neurites mit den umliegenden Pixeln vergleicht und den Cursor automatisch auf einen geschätzten Pfad des Neurites anpasst. Dies führt zu einer verbesserten Genauigkeit und Effizienz bei der Nachverfolgung. NeuronJ erkennt genau die Pfade der Neurite und benötigt nur wenige Klicks, um die Verfolgung an den passenden Stellen zu starten. Nach Abschluss der Verfolgung wird eine Berechnungsdatei erstellt, die die Längenmessungen aller erfassten Neuriten enthält.⁵⁰

Abbildung 3. NeuronJ-Analyse der CCM-Bilder (die verfolgten Nervenfasern zur Auswertung sind lila markiert, Verzweigungen der Nervenfasern sind mit gelben Pfeilen gekennzeichnet):

a) vor der Chemotherapie



b) nach der Chemotherapie



Da Studien nachgewiesen haben, dass die semiautomatische Verfolgung mit NeuronJ hinsichtlich ihrer Genauigkeit mit der vollständig manuellen Verfolgung⁵⁰ sowie mit der vollständig automatisierten Verfolgung⁵⁴ vergleichbar ist, haben wir für unsere Studie diese Auswertungsmethode gewählt.

Die Kombination von CCM und NeuronJ ermöglicht eine objektive, benutzerfreundliche und schnelle Quantifizierung von Nervenfasern im SNP.^{53, 55, 56}

2.2.3. Anwendung der kornealen konfokalen Mikroskopie

Die CCM ist eine nicht-invasive und reproduzierbare Methode, die eine direkte Visualisierung und Abbildung der Nervenfasern des SNP ermöglicht und somit ein kraftvolles klinisches sowie wissenschaftliches Instrument darstellt.^{38, 39}

Die CCM ermöglicht die mikroskopische Erforschung aller Hornhautschichten und wurde zur Untersuchung zahlreicher Hornhauterkrankungen eingesetzt, einschließlich Veränderungen des Epithels, degenerativen und dystrophischen Erkrankungen des Stroma, Endotheliopathien, Ablagerungen, Infektionen und traumatischen Läsionen,⁵⁷ sowie zur Erfassung und Bewertung der Hornhautnerven bei gesunden Augen, bei systemischen Erkrankungen und nach Hornhautchirurgie.^{58, 59}

In-vivo konfokale Mikroskopie bietet eine einzigartige Möglichkeit, die lebende menschliche Hornhaut auf zellulärer Ebene zu untersuchen. Durch die nicht-invasive Natur dieser Technik können wiederholte Untersuchungen an demselben Gewebe im Laufe der Zeit ohne Gewebeschädigung durchgeführt werden, im Gegensatz zu invasiven Verfahren wie Nerven- oder Hautbiopsien.^{38, 60}

Darüber hinaus besteht die Möglichkeit, mehrere Untersuchungen des kornealen SNP zu verschiedenen Zeitpunkten durchzuführen, um dynamische Veränderungen seiner Mikromorphologie zu erfassen. Diese Option, die Untersuchung in beliebigen Intervallen durchzuführen, steigert den Nutzen der CCM deutlich und erweitert die Einsatzmöglichkeiten.³¹

Da die diagnostische Effizienz von CCM vergleichbar mit der intraepidermalen Nervenfaserdichte ist, die bei invasiven Nerven- oder Hautbiopsien ermittelt wird, und weil CCM durch ihre schnelle, nicht-invasive und reproduzierbare Quantifizierung kleinster Nervenfaserschäden sowie ihre Eignung für Längsschnittstudien überzeugt, wird sie zunehmend als bevorzugtes Verfahren eingesetzt.^{60–62}

Die gewonnenen Informationen über die Struktur des kornealen SNP haben sich als klinische Parameter erwiesen, die bei der Beurteilung von neuropathischen Erkrankungen verwendet werden können und als Biomarker für die Früherkennung und Überwachung der Therapie dienen können.³¹

Die wichtigsten Parameter, die bei der CCM erhoben werden und in der Diagnostik einer Affektion der kleinkalibrigen Nervenfasern herangezogen werden, sind die korneale Nervenfaserlänge (Corneal Nerve Fiber Length – CNFL (mm/mm²)), die Nervenfaserdichte (Corneal Nerve Fiber Density - CNFD (n/mm²)), die Anzahl der Verästelungspunkte der Nerven (Corneal Nerve Branching Density - CNBD (n/mm²)) und die Schlingelung der Nervenfasern (Corneal Nerve Fiber Tortuosity - CNFT (tortuosity coefficient)). Diese Parameter liefern Informationen über die Anordnung, Dichte und Verzweigungsstruktur der Nervenfasern in der Kornea und werden verwendet, um die strukturellen Veränderungen der Nerven im Bild zu quantifizieren.^{62–65}

Die multizentrische Studie von Tavakoli M. et al., 2015 liefert umfassende normative Referenzwerte für korneale Nervenparameter sowie entsprechende Cut-off-Punkte. Diese Ergebnisse stellen eine wertvolle Grundlage dar, um periphere Neuropathien in Forschung und klinischer Praxis präzise zu identifizieren und zu bewerten. Die bereitgestellten Daten ermöglichen eine standardisierte Beurteilung der Nervenintegrität der Kornea und tragen somit zur verbesserten Diagnostik und Überwachung neuropathischer Erkrankungen bei (Tabelle 2).

Tabelle 2. Normative Referenzwerte und Cutoff-Werte des kornealen subbasalen Nervenplexus.⁶⁵

a) Normative Referenzwerte des SNP

Age (years)	Female subjects					Male subjects				
	No. of subjects	Median CNFD (no./mm ²)	Median CNBD (no./mm ²)	Median CNFL (mm/mm ²)	Median CNFT (TC)	No. of subjects	Median CNFD (no./mm ²)	Median CNBD (no./mm ²)	Median CNFL (mm/mm ²)	Median CNFT (TC)
<16	19	33.33	87.60	26.43	13.17	18	34.13	91.62	24.56	13.49
16–25	28	31.85	77.01	25.45	13.77	32	32.44	53.68	23.16	13.92
26–35	26	30.20	68.46	24.37	14.43	23	30.56	58.14	22.92	14.40
36–45	26	28.56	63.27	23.28	15.09	17	28.68	71.93	23.34	14.87
46–55	34	26.91	61.46	22.20	15.75	25	26.80	81.05	23.63	15.35
56–65	22	25.27	63.02	21.11	16.41	32	24.92	79.17	23.03	15.83
>65	16	23.54	68.28	19.97	17.10	25	22.95	61.68	20.61	16.33

b) Cutoff-Werte des SNP

Age (years)	Female subjects				Male subjects			
	0.05th quantile CNFD (no./mm ²)	0.05th quantile CNBD (no./mm ²)	0.05th quantile CNFL (mm/mm ²)	0.95th quantile CNFT (TC)	0.05th quantile CNFD (no./mm ²)	0.05th quantile CNBD (no./mm ²)	0.05th quantile CNFL (mm/mm ²)	0.95th quantile CNFT (TC)
<16	23.98	46.52	19.19	17.23	22.18	36.80	18.82	17.09
16–25	20.07	34.01	15.08	21.06	17.96	20.62	15.93	19.66
26–35	16.85	24.04	13.17	22.76	14.54	16.49	14.05	21.04
36–45	14.79	18.19	12.48	22.79	12.46	15.78	13.20	21.86
46–55	13.91	16.47	12.48	22.16	11.71	15.55	13.01	22.43
56–65	14.20	18.89	12.90	21.91	12.29	14.85	13.12	22.85
>65	15.77	25.86	13.67	23.17	14.35	13.23	13.15	23.20

Abkürzungen: CNFL - Corneal Nerve Fiber Length; CNFD - Corneal Nerve Fiber Density; CNBD - Corneal Nerve Branching Density; CNFT - Corneal Nerve Fiber Tortuosity; TC - Tortuosity Coefficient.

In unserer Studie wurden die drei wichtigsten Parameter des SNP untersucht: CNFL, CNFD und CNBD.

Zahlreiche Studien haben bereits die klinische Nützlichkeit der CCM als bildgebender Biomarker sowie als surrogate Parameter zur Quantifizierung von Abnormalitäten der SNP in verschiedenen neuropathischen Erkrankungen nachgewiesen.^{66–69}

Hierzu zählen unter anderem die kleine Faser-Neuropathien im Allgemeinen, diabetische Neuropathien, Charcot-Marie-Tooth-Krankheit Typ 1A, Sarkoidose, HIV-assoziierte Neuropathien (HIV - Human Immunodeficiency Virus), chronisch-entzündliche demyelinisierende Polyneuropathien, Anti-MAG Neuropathie (MAG - Myelinassociated Glycoprotein)-, Fabry- und Behçet-Krankheiten sowie neurologische Erkrankungen wie Parkinson, Multiple Sklerose und Schlaganfälle.^{70–86}

Die Veränderungen im SNP wurden mittels CCM auch in Studien zur amyotrophen Lateralsklerose (Ferrari G. et al., 2014), Sjögren-Syndrom (Navarro M. C. et al., 2012), Morbus Wilson (Sturniolo G. C. et al., 2015), Amyloidose (Thimm A. et al., 2022; Thimm A. et al., 2023; Rousseau et al., 2016) sowie zur Fibromyalgie (Ramirez et al., 2015) nachgewiesen.

Der pathologische Nachweis der intraepidermalen Nervenfaserdichte gilt als Goldstandard für die direkte Beurteilung peripherer Neuropathien. Die Haut- und Nervenbiopsie ist eine objektive Methode, die eine präzise Quantifizierung der Nervenfasern ermöglicht und somit wertvolle Einblicke in das Ausmaß der Nervenveränderungen bei CIPN liefert.^{60, 72}

Allerdings ist die Haut- und Nervenbiopsie invasiv und mit einem erhöhten Risiko für Komplikationen verbunden, was insbesondere bei Verlaufskontrollen nachteilig ist. Bei mehrfachen Untersuchungen, beispielsweise zur dynamischen Beurteilung des Krankheitsverlaufs, stellt die Invasivität eine bedeutende Einschränkung dar. Daher besteht ein Bedarf an weniger invasiven, aber ebenso präzisen diagnostischen Verfahren, um die Pathologie der peripheren Nerven bei CIPN zuverlässig und wiederholbar zu überwachen.

Die Daten, die die CCM bei der Detektion neuropathischer Veränderungen in verschiedenen Erkrankungen gewonnen hat, belegen ihre Wirksamkeit und unterstützen die Hypothese, dass die CCM auch bei der Erkennung und Überwachung von CIPN ein wertvolles diagnostisches Instrument darstellen könnte und deuten darauf hin, dass sie das Potenzial besitzt, ein nützliches diagnostisches Werkzeug bei CIPN zu sein.

Allerdings liegen derzeit nur wenige Studien vor, die die CCM der Kornea-SNP als diagnostisches Verfahren für die CIPN untersucht haben.^{21, 87–90}

Nach unserem Kenntnisstand existieren bislang keine Daten, die die Früherkennung dieser schweren Nebenwirkung von Chemotherapeutika durch die CCM-Analyse ermöglichen.

2.3 Fragestellungen und Ziel der Arbeit

Durch die Weiterentwicklung des HRT III/RCM steht ein fortschrittliches ophthalmologisches Gerät zur Verfügung, das die nicht-invasive In vivo Untersuchung der Kornea ermöglicht. Die koronale konfokale Mikroskopie erlaubt die Abbildung feinsten Nervenfasern des subbasalen Nervenplexus im lebenden Gewebe. Dadurch lassen sich Veränderungen nicht nur okulärer, sondern auch systemischer Erkrankungen erkennen und charakterisieren.

In dieser Arbeit soll ein neues Anwendungsgebiet der CCM erforscht und dargestellt werden, wobei die Früherkennung der CIPN durch die Untersuchung des kornealen SNP fokussiert wird. Zudem sollte untersucht werden, ob die CCM in der Routineuntersuchung die Diagnostik von peripheren Polyneuropathien erweitern kann, um invasive Nerven- oder Hautbiopsien zu verringern oder zu ersetzen.

Vorläufige Studienergebnisse deuten darauf hin, dass die CCM ein vielversprechendes Instrument zur Erkennung und Überwachung der CIPN sein könnte.^{21,89}

Folgende spezifischen Fragestellungen wurden unter Anwendung wissenschaftlicher Methoden und statistischer Analysen verfolgt, um fundierte Erkenntnisse zu gewinnen und potenzielle Zusammenhänge sowie Unterschiede in den untersuchten Parametern zu identifizieren:

1. Gibt es Unterschiede in den morphometrischen Daten der CCM vor und nach der Chemotherapie?
2. Bestehen Unterschiede in den morphometrischen Daten der CCM zwischen Patienten, die eine Chemotherapie erhalten haben, und Kontrollgruppe ohne Chemotherapie?
3. Besteht eine Korrelation zwischen den morphometrischen Daten der CCM und den klinischen Zeichen der CIPN sowie dem Verlauf der Erkrankung?

Das Hauptziel dieser Studie bestand darin, die Eignung der CCM zur frühzeitigen Diagnose der CIPN im Vergleich zu klinischen Zeichen, die mittels TNS erfasst werden, zu evaluieren, und die Auswirkungen der Chemotherapie auf das periphere Nervensystem während und nach der Chemotherapie zu untersuchen.

Die zentrale Hypothese dieser Studie lautet, dass CCM als sensibles und nicht-invasives Instrument zur Detektion und Überwachung einer CIPN bei Patienten unter neurotoxischer Chemotherapie dienen kann. Durch die Validierung dieser Hypothese strebt die Untersuchung an, koronale konfokale Mikroskopie auch als wertvolles klinisches Werkzeug für die frühe präklinische Identifikation von CIPN zu etablieren, um eine bessere Patientenführung und eine verbesserte Lebensqualität zu ermöglichen.

3. Publikation

In-vivo confocal microscopy of corneal subbasal nerve plexus detects early chemotherapy-induced polyneuropathy*

Nazik Baghdasaryan¹, MD, Hans-Joachim Hettlich¹, MD, Maria Katz², MD, Vagner Navasardyan², MD, Jan Borggreffe², MD, Wanlin Fan^{3*}, MD, Franziska Bucher^{3†}, MD, Ludwig M. Heindl^{3†}, MD

¹Clinic for Ophthalmology, Johannes Wesling Klinikum Minden, Ruhr-University Bochum, Minden, Germany;;
²Department of Radiology, Neuroradiology and Nuclear Medicine, Johannes Wesling Klinikum Minden, Ruhr-University Bochum, Minden, Germany; ³Department of Ophthalmology, University Hospital of Cologne, Cologne, Germany; ^{3†}These authors share last authorship.

*Correspondence: Wanlin Fan, Department of Ophthalmology, University Hospital of Cologne, Kerpener Str. 62, D-50937 Köln, Cologne, Germany. Email: wanlin.fan@uk-koeln.de

Abstract

Purpose: This study aimed to evaluate the diagnostic utility of corneal confocal microscopy (CCM) for the early detection of chemotherapy-induced polyneuropathy (CIPN) compared to clinical assessment in cancer patients undergoing chemotherapy.

Methods: This prospective longitudinal controlled observational single-center study included 30 cancer patients receiving Paclitaxel and Vincristine, and 20 healthy controls. Patients were evaluated before and at 3, 8, and 24 weeks after starting chemotherapy. Clinical assessments included the Total Neuropathy Score (TNS), and CCM evaluated the corneal subbasal nerve plexus, focusing on three critical parameters: corneal nerve fiber length (CNFL), corneal nerve fiber density (CNFD), and corneal nerve branching density (CNBD). CCM and TNS were compared over time and against the healthy controls.

Results: TNS exhibited a significant increase at week 8 compared to baseline (6.30 ± 3.91 vs. 3.67 ± 2.67 points, $p < 0.01$). In contrast, CCM demonstrated a significant reduction in all three parameters five weeks earlier at week 3 (CNFL: 23.60 ± 6.14 vs. 31.14 ± 8.38 mm/mm², $p < 0.01$; CNFD: 27.70 ± 7.69 vs. 34.27 ± 7.87 n/mm², $p < 0.01$, CNBD: 32.17 ± 11.00 vs. 49.12 ± 17.21 n/mm², $p < 0.001$). The most significant changes in CCM occurred at week 8 after chemotherapy, showing 86% sensitivity and 100% specificity in detecting neuropathy. No significant correlation was observed between CCM and TNS.

Conclusions: CCM demonstrates high sensitivity, specificity, and utility as an early diagnostic tool for CIPN in cancer patients undergoing chemotherapy, suggesting its use as a complementary method in clinical practice.

Declaration of Competing Interest

The authors have no conflicts of interest to disclose.

Keywords

corneal confocal microscopy, chemotherapy-induced polyneuropathy, corneal nerve fiber, total neuropathy score, Taxane, Vinca alkaloids

Funding

This study was not supported by any funding.

Acknowledgements

No.

Introduction

Chemotherapy-induced polyneuropathy (CIPN) is defined as damage to the peripheral nerves caused by neurotoxic chemotherapeutic agents. This serious non-hematological side effect of chemotherapy not only complicates the optimal management of cancer but also often necessitates dose reductions, treatment delays, or even premature discontinuation of therapy, significantly impacting patient outcomes [1]. As one of the most prevalent long-term adverse effects of chemotherapy, CIPN has increasingly become a major clinical challenge in oncology, particularly given the growing population of cancer survivors [1]. Despite its clinical significance, the pathophysiological mechanisms underlying CIPN remain incompletely understood, and no effective preventive or therapeutic interventions are currently available [2, 3]. Commonly used chemotherapeutic agents, such as Taxanes (e.g., Paclitaxel) and Vinca alkaloids (e.g., Vincristine), are frequently implicated in the development of CIPN [3]. Consequently, early detection and monitoring of CIPN are critical to mitigating long-term functional impairments and preserving the quality of life in affected patients [4].

The human cornea, with its exceptionally high density of nerve fibers and its transparency, offers a unique opportunity for non-invasive visualization of nerves in vivo. The subbasal nerve plexus (SNP) of the cornea, a network of unmyelinated nerve fibers located approximately at a depth of about 50-60 μm beneath the basal membrane of the corneal epithelium, can be imaged directly using in-vivo corneal confocal microscopy (CCM) [5]. CCM is a non-invasive, reproducible imaging technique that enables detailed visualization and quantification of nerve fibers within the corneal SNP, making it a valuable tool in both clinical and research settings [6].

The diagnostic performance of CCM is comparable to that of intraepidermal nerve fiber density assessments obtained through invasive skin biopsies. However, CCM offers significant advantages, including rapid, non-invasive, and reproducible assessments of small nerve fiber

integrity, making it particularly suitable for longitudinal studies that require repeated evaluations without causing tissue damage [7]. Numerous studies have validated the utility of CCM as an imaging biomarker for a range of neuropathic conditions, including small fiber neuropathy, diabetic neuropathy, Human Immunodeficiency Virus-associated neuropathy, chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy, Fabry disease, Parkinson's disease, multiple sclerosis, and stroke [8-17].

Given its proven efficacy in detecting neuropathic changes in these conditions, CCM has the potential to serve as a powerful diagnostic tool for CIPN. However, only a limited number of studies have specifically investigated its application in this context [18-20]. These preliminary findings suggest that corneal CCM could be valuable in the detection and monitoring of CIPN. The central hypothesis of this study is that CCM can serve as a sensitive and non-invasive tool for the detection and monitoring of CIPN in patients receiving neurotoxic chemotherapy. By validating this hypothesis, the study seeks to establish CCM as a valuable clinical tool also for the early preclinical identification of CIPN, ultimately contributing to better patient management and improved quality of life.

Methods

Participants

A total of 53 individuals were initially approached for this study. 3 patients declined to participate.

As criteria for discontinuation, the following factors were established: the refusal to participate in the study or the voluntary withdrawal of previously given consent by the participants.

50 individuals were enrolled, consisting of 30 patients and 20 healthy age-matched controls. Among the 30 patients, there were 21 females and 9 males, with a mean age of 56.73 ± 9.95 years, ranging from 39 to 77 years.

The 20 healthy controls included 14 females and 6 males, with a mean age of 54.75 ± 8.37 years, ranging from 44 to 70 years.

All participants were examined between November 2020 and January 2023.

Inclusion and Exclusion Criteria

The patient group consisted of adult participants (over 18 years old) who were chemotherapy-naïve and scheduled for treatment with Vincristine or Paclitaxel. These patients were identified based on their planned initiation of mono- or poly-chemotherapy at the oncology department of Johannes Wesling University Hospital, Minden, Germany.

Exclusion criteria included co-existing conditions that could affect the peripheral nervous system or cornea, such as Diabetes, Parkinson's disease, Alzheimer's disease, Dementia, Sjögren's syndrome, Sarcoidosis, Fabry disease, Behçet's disease, Charcot-Marie-Tooth disease, pre-existing polyneuropathy of other etiology, peripheral nerve lesions from other

reasons, ocular surgery within the last year, ocular trauma, contact lens use, dry eye syndrome, keratoconus, keratopathy, keratitis and chemotherapy in the medical history.

The healthy control group included adults (over 18 years old) and was recruited through a convenience sampling method, matched to the patient group in terms of age and sex distribution.

The control group did not have any symptoms suggestive of ocular disease or polyneuropathy.

Study Design

This study was conducted as a prospective longitudinal controlled observational study at the oncology department of Johannes Wesling University Hospital, Minden, Germany. All patients were assessed at baseline up to 2 days before chemotherapy. In order to capture potential early effects of toxic chemotherapies, patients were evaluated after 3 weeks and 8 weeks, both during the mono- or poly-chemotherapy with Vincristine or Paclitaxel which had a total duration of 12 weeks. The final observation was carried out 24 weeks after the initiation of chemotherapy to ensure that any subsequent changes could be detected.

The recruitment of all patients was conducted through a neurological assessment in the neurology clinic and an ophthalmological examination in the ophthalmology clinic of the Johannes Wesling Hospital.

The neurological evaluations focused on assessing the neurological status of patients using the Total Neuropathy Score (TNS) to evaluate the clinical characteristics and condition of the peripheral nervous system, the severity of peripheral neuropathy, and the functional impairment of the patients.

The ophthalmological examinations included a detailed standardized assessment of the ocular condition, which encompassed visual acuity measurement, slit-lamp biomicroscopy, non-contact tonometry and fundoscopy.

By combining these examinations, comprehensive information regarding the neurological and ocular status of the patients was obtained.

Healthy controls who did not receive chemotherapy and met the exclusion criteria underwent a one-time ophthalmological and neurological examination. Patients and control participants were not masked in respect to their treatment.

The primary objective of this study was to evaluate changes in corneal nerve fibers in patients undergoing chemotherapy, comparing the findings to those from a healthy control group and assessing potential correlations between ophthalmological findings and clinical characteristics of neurological changes.

Clinical Examination

In order to assess the presence and severity of CIPN during clinical examinations, the Total Neuropathy Score was chosen as the reference standard to evaluate CIPN. TNS has been validated as a detailed and reliable tool for accurate grading and assessment of CIPN and considers both the subjective symptoms of the patients and the objective clinical signs. Although there is no universally accepted cutoff for TNS for diagnosing CIPN, a higher TNS score reflects greater severity of neuropathy. Given that the TNS comprehensively assesses neuropathic involvement and a higher score reliably correlates with the oncologic grading of peripheral neurotoxicity, making it a useful tool for diagnosis of CIPN [21].

In this study TNS consists of ten items scored from 0 points (normal) to 4 points (severely abnormal), assessing both subjective and objective features. The subjective features capture sensory, motor and autonomic symptoms, while the objective features include evaluations of pin sensibility, vibration sensibility and vibration sensation, deep tendon reflexes, muscle strength, sural nerve sensory action potential, and tibial nerve compound muscle action potential. These assessments are conducted bilaterally. The total score ranged from 0 (normal) to 40 points (severe neuropathy) [21]. Description of the total neuropathy score is summarized in Table 1.

In our study, the TNS score was used with a cutoff of ≥ 6 chosen to define CIPN. This cutoff was selected based on our clinical experience, aiming to balance sensitivity and specificity for the study population. A TNS score of ≥ 6 was considered to reflect moderate neuropathy severity, ensuring both early detection and diagnostic accuracy while identifying significant neuropathic involvement.

Sensory tests were conducted using a 10 g filament (Twin-Tip®) and a Rydel Seiffer 64 Hz tuning fork to assess vibratory sensation.

The TNS evaluations were conducted and interpreted independently by specialists in neurology who did not have access to the results of the CCM. They used only clinical information relevant to neuropathy assessment and were not influenced by the corneal confocal microscopy results.

Corneal Confocal Microscopy

The Heidelberg Retina Tomograph III (HRT III, Heidelberg Engineering GmbH, Heidelberg, Germany) in conjunction with the Rostock Cornea Module (HRT III RCM, Heidelberg Engineering GmbH, Heidelberg, Germany) was used for generating CCM images of corneal SNP. All patients and controls in this study were examined monocular using an HRT III RCM. A specialized TomoCap (Heidelberg Engineering GmbH, Heidelberg, Germany) was employed, which was filled with a large drop of Visco Vision Gel ® to create a bubble-free interface and a transparent medium layer, establishing an optical connection between the lens

and the TomoCap. This approach facilitated precise and high-quality imaging. The captured images at 630x magnification covered an area of $400\mu\text{m} \times 400\mu\text{m}$ (0.16 mm^2) of central cornea with a resolution of 384×384 pixels. For each examination, from 100 images four high-quality images with maximum contrast were selected, and the resulting data were averaged.

Analysis of Corneal Subbasal Nerves

In the evaluation of the corneal data of the subbasal nerve plexus, the following parameters were recorded and analyzed:

1. corneal nerve fiber length (CNFL in mm/mm^2), which represents the total length of all nerve fibers and branches per square millimeter within the corneal area,
2. corneal nerve fiber density (CNFD in n/mm^2), indicating the total number of major nerves per square millimeter of the cornea,
3. corneal nerve branching density (CNBD in n/mm^2), which refers to the number of branches of all major nerve trunks per square millimeter of the cornea [22].

The cut-offs for these parameters were pre-defined based on normative data from prior studies involving healthy control populations [23]. Specifically, reductions in CNFL, CNFD, and CNBD compared to these normative values were considered indicative of peripheral neuropathy. These thresholds were chosen for their proven ability to detect early nerve damage, particularly in cases of chemotherapy-induced polyneuropathy.

For the analysis of the captured CCM images, the specific semi-automatic program "ImageJ" (Version 1.54b, Rasband, W.S., ImageJ, U.S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA. <https://rsb.info.nih.gov/ij/http://rsb.info.nih.gov/ij/>) with the NeuronJ plugin (<https://imagejscience.org/meijering/software/neuronj/>) was used [24].

The commercial software was Microsoft Excel 2021 (Microsoft Corp, Redmond, Washington, USA.). R in version 4.3.1 (R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.R-project.org/>) and Stata in version 18 (StataCorp, College Station, Texas, USA <https://www.stata.com/new-in-stata/>) were used for all statistical analyses.

The CCM examinations were conducted and interpreted by specialists in ophthalmology. These specialists had access to additional clinical information about the patients, including their medical history, symptoms, and prior test results, to provide a comprehensive understanding of each patient's condition. The CCM performers did not have access to the TNS results.

Statistics

All data were presented as mean $\pm$ SD (standard deviations) and analysis included descriptive statistics. To compare the results of TNS and CCM examinations at baseline in the patient group with the results of a single examination of controls, we used an independent samples *t* test (Mann-Whitney *U* test for non-parametric). For comparing the results of TNS and CCM

examinations across multiple visits within the patient group, we employed a repeated measures ANOVA with Bonferroni-correction (Friedman test for non-parametric) and post hoc paired samples *t* test (Wilcoxon test for non-parametric) (Figure 1).

The association between the corneal nerve morphological parameters in CCM and clinical findings with TNS were assessed using the Pearson correlation coefficient (Spearman's rank correlation for non-parametric). Fisher's Exact test was used to evaluate the association between the categorical variables. A *p*-value below 0.05 was considered statistically significant.

Ethics Statement

The protocol of the study was approved by the ethics committee of the Ruhr University of Bochum, Germany (approval number 2020-609) and in accordance with the Helsinki Declaration and adhered to all German federal and state laws.

All participants signed written informed consent before examination.

Results

Among the 33 patients initially examined, 3 declined to participate, leaving a total of 30 patients who met the inclusion criteria and were included in the study. We did not replace any missing data. The demographic characteristics of the patients, including oncology diagnosis and cumulative chemotherapy doses of Vincristine and Paclitaxel, are summarized in Table 2.

There were no significant differences in terms of weight ($p=0.88$), height ($p=0.86$) and age ($p=0.43$) between the patients at baseline and the healthy controls. The distribution of gender between the groups did not show any significant differences (Fisher's exact test $p=1.00$).

The evolution of clinical symptoms and cornea parameters over time is represented in Table 3. 94% of the TNS and CCM variables exhibited a normal distribution.

TNS showed no differences between controls and patients in baseline (3.35 ± 2.29 vs. 3.67 ± 2.67 , $p>0.05$). In CCM data there were no differences by CNFL (32.07 ± 9.32 vs. 31.14 ± 8.38 , $p>0.05$) and CNFD (38.05 ± 10.71 vs. 34.27 ± 7.87 , $p>0.05$). Only CNBD shows a significant difference between controls and patients (78.40 ± 22.93 vs. 49.12 ± 17.21 , $p=0.00$).

In comparison to the baseline, the patient group demonstrated a significantly higher TNS at both week 8 and week 24 (6.30 ± 3.91 and 7.90 ± 5.01 vs. 3.67 ± 2.67 accordingly, $p<0.01$). There is no significant difference between the baseline and after 3 weeks from the beginning of chemotherapy ($p>0.05$). The TNS demonstrates a continuous increase during the therapy with a low significance between week 8 and week 3 ($p=0.03$) after the beginning of chemotherapy. No significant changes can be detected when comparing week 24 and week 8, but a highly

significant difference between week 24 and week 3 ($p<0.05$). The graphical representation of these changes was summarized in Figure 2.

After a duration of 6 months, all patients experienced neuropathic symptoms associated with polyneuropathy. 33% of them reported sensory symptoms characterized by painful sensations, 63% experienced a decrease in vibration sensation. Additionally, 40% of patients had reduced sensitivity to pinpricks, 40% had exhibited autonomic symptoms, 7% weakness in the toe extensor muscles, and 60% had reduced tendon reflexes of the legs.

Patients exhibited significant changes in the corneal subbasal nerve plexus through CCM demonstrated in Figure 3.

Compared to baseline, patients had a significantly lower CNFL already at the week 3 (23.60 ± 6.14 vs. 31.14 ± 8.38 mm/mm², $p<0.01$), a reduction of CNFD (27.70 ± 7.69 vs. 34.27 ± 7.87 n/mm², $p<0.01$) and CNBD (32.17 ± 11.00 vs. 49.12 ± 17.21 n/mm², $p<0.001$). The maximal changes were detected at week 8 during chemotherapy. At this point CNFD decrease was 22%. More changes were demonstrated in CNFL and CNBD, exhibiting a decrease of values in 34% and 40% respectively. Figure 4 summarizes the graphical representation of these changes.

The changes of SNP between week 3 and week 8, week 8 and week 24, as well as week 3 and week 24 after the beginning of chemotherapy were not significant.

Age was a significant predictor for CNBD ($p<0.05$), weight and height for CNFL ($p<0.05$).

To assess the diagnostic utility of CCM in detecting CIPN, both sensitivity and specificity were calculated using the following formulas:

$$\text{Sensitivity} = \frac{\text{True Positiv}}{\text{True Positiv} + \text{False Negativ}}$$

$$\text{Specificity} = \frac{\text{True Negatives}}{\text{True Negatives} + \text{False Positiv}}$$

At week 8, 30 patients were examined using both CCM (with the three parameters: CNFL, CNFD and CNBD) and TNS. Of these, 25 patients were classified as true positives, defined as those exhibiting both abnormal CCM findings and neuropathy confirmed through clinical assessment using the TNS. Four patients were classified as false negatives, meaning they had confirmed neuropathy but no abnormal CCM changes. One patient was classified as true negative, with no clinical neuropathy and no abnormal CCM changes. Neuropathy was determined based on the presence of clinical symptoms (such as sensory disturbances, neuropathic pain, motor and autonomic dysfunction) and objective neurological examination findings (including pinprick and vibration sensitivity, muscle strength, tendon reflexes and nerve action potential). As histopathological confirmation via skin or nerve biopsy was not performed in this study, the evaluation of neuropathy relied on these clinical criteria.

This results in a sensitivity of 86% and in a specificity of 100% in the patient group, although this should be interpreted cautiously due to the small sample size.

However, the correlation between CCM results and TNS at week 3, week 8, and week 24 after the start of chemotherapy was not significant ($p>0.05$). This comparison is represented in Table 4.

Discussion

In our study, we analyzed the capability of CCM to observe the corneal SNP changes among cancer patients during and after chemotherapy, in comparison to the control group. The purpose of this study was to investigate the utility of CCM in the early diagnosis of CIPN compared to clinical signs of CIPN detected using the TNS in cancer patients undergoing chemotherapy.

The patients exhibited clinical signs of CIPN, which became noticeable with an increase in the TNS starting from week 3 after the beginning of chemotherapy. By week 8 this increase became significant. The neurotoxic effects of Taxanes, including early signs following chemotherapy, have been reported in previous studies and our findings are consistent with this [25]. An additional non-significant increase in the TNS was observed by week 24, following the completion of chemotherapy, which was administered over a 12-week period starting at the initiation of the treatment. This finding can be comparable to the coasting phenomenon described in previous research, which refers to a progressive deterioration of neuropathic symptoms following the discontinuation of chemotherapy [26].

Throughout the entire 24-week observation period, significant differences were observed in CCM measurements compared to baseline and healthy controls. The observation that only the CNBD from three CCM parameters shows a significant difference between controls and patients could be attributed to factors, such as the potential influence of underlying malignancies on the corneal nerve branches. Furthermore, changes in CNBD appear to be more significantly affected, as indicated by the mean alterations from baseline compared to CNFL and CNFD. This suggests that CNBD may be more vulnerable to damage resulting from systemic toxicity in cancer patients. On the other hand, this could potentially be regarded as a statistical anomaly due to the low representation in both subgroups.

All parameters of CCM showed a significant decrease starting from week 3, with further decreases observed at week 8 during the chemotherapy treatment period. This means that significant changes in CCM occurred earlier (at week 3) than the changes in clinical signs of TNS (at week 8). The recent results published by Chiang and colleagues present evidence of a reduction in sub-basal corneal nerves during neurotoxic chemotherapy treatment with commonly used agents such as Paclitaxel and Oxaliplatin, which aligns with the findings of our study [27].

In contrast, a small study by Katz et al. enrolling 15 patients could not report significant performance of CCM as diagnostic tool for the early detection of CIPN [28]. The discrepancies in the current research may be attributed to methodological variations in corneal nerve fiber counting, particularly due to the use of different fully automated (by Katz et al.) and semi-automated (in our study) methods for evaluating CCM parameters, as well as the limited sample size and potential selection bias.

We also observed a non-significant increase in all CCM parameters at week 24 following chemotherapy, which is only partially consistent with previous research showing a non-significant increase in CNFD, CNBD, and significant increase in CNFL at follow-up [29].

In our study chemotherapy was administered for a duration of 12 weeks, followed by a subsequent 12-week period during which patients did not receive any further chemotherapy, potentially facilitating the recovery and regeneration of chemotherapy-induced damage in the corneal SNP.

However, at week 24 we did not detect any signs of a continuous reduction in the CCM parameters, and the increasing trend of TNS was not noted at the SNP of the cornea.

The peak alterations in CCM occurred at week 8 after chemotherapy, demonstrating a sensitivity of 86% and a specificity of 100% for identifying neuropathy, nonetheless, these results should be viewed with caution given the small sample size.

No significant correlation was found between CCM results and TNS throughout the entire 24-week observation period.

The previous studies explored the neurotoxicity of chemotherapeutic agents using TNS and CCM [18,19] however, they did not specifically compare the clinical manifestations of CIPN with corneal SNP parameters during and after chemotherapy.

In this study, we aimed to fill this gap and compared clinical signs in TNS with changes in CCM both during chemotherapy and in its absence, which, to the best of our knowledge, have not been examined in other studies to date. In this regard, this study introduces novel findings.

The observation that corneal parameters measured by CCM in our group of patients showed significant reductions around 5 weeks earlier (at week 3) compared to the TNS (at week 8) suggests that structural changes may precede functional and subjective signs of CIPN and detecting these changes earlier can offer a valuable window of opportunity to adjust treatment strategies, potentially preventing or mitigating the progression of CIPN.

Furthermore, it is noteworthy that by week 24, despite the observed improvements in CCM parameters, the clinical signs of CIPN, as evaluated by TMS, do not show any signs of improvement and instead exhibit an increasing trend.

At the same time, the discrepancy in our observed results may be attributed to the differing methodologies employed in the two examinations: the TNS score utilized both objective and subjective measures, while the CCM of corneal SNP focused on objective measurements. This

distinction in approach could account for variations in the findings, as subjective assessments often capture personal perceptions and experiences.

It may be valuable to conduct follow-up examinations of patients at a later time point to determine whether the discrepancies in CCM parameters and TNS persist or change over time. This longitudinal approach could provide important insights into the stability of these measurements and their potential implications for patient management.

In this current study, we did not investigate the cumulative dose or type of chemotherapy in relation to the changes in TNS or CCM as a cofactor. This could be a topic for further analysis and investigation to compare the different neurotoxic chemotherapeutics, such as Vincristine and Paclitaxel.

A limitation of the study is that we did not perform skin or nerve biopsy, and the CCM, as a diagnostic tool for CIPN, was not compared to this objective method, which is considered the gold standard for directly assessing small fiber neuropathy and can provide pathological evidence of intraepidermal nerve fiber density in CIPN [7, 10].

For clinical observation and neuropathy diagnosis, we employed a grading system based on TNS, which includes also subjective signs of the disease. To assess the diagnostic accuracy of CCM complementing CIPN-management, further investigations comparing it with objective methods, including skin biopsy, could be considered.

However, CCM offers a significant advantage by enabling clinicians to conduct repeated examinations without inflicting tissue damage. This non-invasive technique allows for a more comprehensive evaluation of nerve integrity over time, addressing the limitations associated with invasive biopsy methods [7].

Another limitation of this study is the small number of participants. Recruiting oncology patients undergoing chemotherapy presents challenges, nevertheless, despite the small sample size, statistically significant clinical changes were observed.

In order to solidify the results, further study with a larger sample size would be desirable and it would be advantageous to establish standardized protocols for CCM data analysis and image selection. This step is deciding to effectively development this issue in future research [30] and to assess its usefulness as a biomarker and as a complementary method to existing clinical techniques.

In summary, our findings suggest that CCM is a viable method for detecting early alterations in the corneal SNP among patients with CIPN and make CCM a particularly attractive diagnostic tool.

Acknowledgements

Nazik Baghdasaryan: Conceptualization; investigation; writing-original draft; writing-review and editing; methodology; validation; visualization; data curation; formal analysis.

Hans-Joachim Hettlich: Conceptualization; writing-original draft; writing-review and editing; supervision.

Maria Katz: Conceptualization; investigation; writing-review and editing; methodology.

Vagner Navasardyan: writing-review and editing.

Jan Borggrefe: writing-review and editing.

Wanlin Fan: writing-review and editing.

Franziska Bucher: Conceptualization, writing-review and editing; validation; methodology.

Ludwig M. Heindl: Conceptualization; Writing-original draft; writing-review and editing; supervision.

All authors have thoroughly reviewed and approved the final version of this paper and declared no conflicts of interest. Franziska Bucher is currently employed by Boehringer Ingelheim Pharma GmbH & Co. KG.

The participants in the study have signed informed consent forms. These consent forms included a declaration of conformity for data processing and permission for the publication of anonymized data and images.

Data Availability Statement

The corresponding author can provide the data upon reasonable request.

REFERENCES

1. Brewer JR, Morrison G, Dolan ME, et al. Chemotherapy-induced peripheral neuropathy: Current status and progress. *Gynecol Oncol* 2016;140(1):176–83.
2. Argyriou AA, Kyritsis AP, Makatsoris T, et al. Chemotherapy-induced peripheral neuropathy in adults: a comprehensive update of the literature. *Cancer Manag Res* 2014;6:135–47.
3. Hausheer FH, Schilsky RL, Bain S, et al. Diagnosis, management, and evaluation of chemotherapy-induced peripheral neuropathy. *Semin Oncol* 2006;33(1):15–49.
4. McCrary JM, Goldstein D, Boyle F, et al. Optimal clinical assessment strategies for chemotherapy-induced peripheral neuropathy (CIPN): a systematic review and Delphi survey. *Support Care Cancer* 2017;25(11):3485–93.
5. Guthoff RF, Wienss H, Hahnel C, et al. Epithelial innervation of human cornea: a three-dimensional study using confocal laser scanning fluorescence microscopy. *Cornea* 2005;24(5):608–13.
6. Patel DV, McGhee CNJ. Mapping of the normal human corneal sub-Basal nerve plexus by in vivo laser scanning confocal microscopy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005;46(12):4485–88.

7. Wang EF, Misra SL, Patel DV. In Vivo Confocal Microscopy of the Human Cornea in the Assessment of Peripheral Neuropathy and Systemic Diseases. *Biomed Res Int* 2015;2015:951081.
8. Bucher F, Schneider C, Blau T, et al. Small-Fiber Neuropathy Is Associated With Corneal Nerve and Dendritic Cell Alterations: An In Vivo Confocal Microscopy Study. *Cornea* 2015;34(9):1114–19.
9. Malik RA, Kallinikos P, Abbott CA, et al. Corneal confocal microscopy: a non-invasive surrogate of nerve fibre damage and repair in diabetic patients. *Diabetologia* 2003;46(5):683–88.
10. Ziegler D, Papanas N, Zhivov A, et al. Early detection of nerve fiber loss by corneal confocal microscopy and skin biopsy in recently diagnosed type 2 diabetes. *Diabetes* 2014;63(7):2454–63.
11. Chen X, Graham J, Dabbah MA, et al. Small nerve fiber quantification in the diagnosis of diabetic sensorimotor polyneuropathy: comparing corneal confocal microscopy with intraepidermal nerve fiber density. *Diabetes Care* 2015;38(6):1138–44.
12. Kemp HI, Petropoulos IN, Rice ASC, et al. Use of Corneal Confocal Microscopy to Evaluate Small Nerve Fibers in Patients with Human Immunodeficiency Virus. *JAMA Ophthalmol* 2017;135(7):795–800.
13. Schneider C, Bucher F, Cursiefen C, et al. Corneal confocal microscopy detects small fiber damage in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy (CIDP). *J Peripher Nerv Syst* 2014;19(4):322–27.
14. Bitirgen G, Turkmen K, Malik RA, et al. Corneal confocal microscopy detects corneal nerve damage and increased dendritic cells in Fabry disease. *Sci Rep* 2018;8(1):12244.
15. Kass-Iliyya L, Javed S, Gosal D, et al. Small fiber neuropathy in Parkinson's disease: A clinical, pathological and corneal confocal microscopy study. *Parkinsonism Relat Disord* 2015;21(12):1454–60.
16. Bitirgen G, Akpinar Z, Malik RA, et al. Use of Corneal Confocal Microscopy to Detect Corneal Nerve Loss and Increased Dendritic Cells in Patients with Multiple Sclerosis. *JAMA Ophthalmol* 2017;135(7):777–82.
17. Khan A, Akhtar N, Kamran S, et al. Corneal Confocal Microscopy Detects Corneal Nerve Damage in Patients Admitted with Acute Ischemic Stroke. *Stroke* 2017;48(11):3012–18.
18. Bennedsgaard K, Ventzel L, Andersen NT, et al. Oxaliplatin- and docetaxel-induced polyneuropathy: clinical and neurophysiological characteristics. *J Peripher Nerv Syst* 2020;25(4):377–87.
19. Riva N, Bonelli F, Lasagni Vitar RM, et al. Corneal and Epidermal Nerve Quantification in Chemotherapy Induced Peripheral Neuropathy. *Front Med (Lausanne)* 2022;9:832344.
20. Campagnolo M, Lazzarini D, Fregona I, et al. Corneal confocal microscopy in patients with oxaliplatin-induced peripheral neuropathy. *J Peripher Nerv Syst* 2013;18(3):269–71.
21. Cavaletti G., Bogliun G., Marzorati L., et al. Grading of chemotherapy-induced peripheral neurotoxicity using the Total Neuropathy Scale. *Neurology*. 2003;61:1297-1300.
22. Alam U, Jeziorska M, Petropoulos IN, et al. Diagnostic utility of corneal confocal microscopy and intra-epidermal nerve fibre density in diabetic neuropathy. *PLoS One* 2017;12(7):e0180175.

23. Tavakoli M., Ferdousi M., Petropoulos I. N., et al. Normative values for corneal nerve morphology assessed using corneal confocal microscopy: a multinational normative data set. *Diabetes Care* 2015;38(5):838-843.
24. Popko J, Fernandes A, Brites D, et al. Automated analysis of NeuronJ tracing data. *Cytometry A* 2009;75(4):371–76.
25. Eckhoff L, Knoop A, Jensen MB, et al. Persistence of docetaxel-induced neuropathy and impact on quality of life among breast cancer survivors. *Eur J Cancer* 2015;51(3):292–300.
26. Andersen Hammond E, Pitz M, Shay B. Neuropathic Pain in Taxane-Induced Peripheral Neuropathy: Evidence for Exercise in Treatment. *Neurorehabil Neural Repair* 2019;33(10):792–99.
27. Chiang JCB, Goldstein D, Trinh T, et al. A Cross-Sectional Study of Sub-Basal Corneal Nerve Reduction Following Neurotoxic Chemotherapy. *Transl Vis Sci Technol* 2021;10(1):24.
28. Katz M, Mork H, Baghdasaryan N, et al. High-resolution nerve ultrasound and corneal confocal microscopy in taxane-induced polyneuropathy. *Eur J Neurol* 2024;31(2):e16141.
29. Ferdousi M, Azmi S, Petropoulos IN, et al. Corneal Confocal Microscopy Detects Small Fibre Neuropathy in Patients with Upper Gastrointestinal Cancer and Nerve Regeneration in Chemotherapy Induced Peripheral Neuropathy. *PLoS One* 2015;10(10):e0139394.
30. Sturm D, Vollert J, Greiner T, et al. Implementation of a Quality Index for Improvement of Quantification of Corneal Nerves in Corneal Confocal Microscopy Images: A Multicenter Study. *Cornea* 2019;38(7):921–26.

*The following notice should appear with the manuscript: "This is a non-final version of an article published in final form in [\[include the complete journal citation for your article here\]](#)." A link to the publication on the journal website should be included.

Figure 1. Study design and Statistical analysis.

Abbreviations: TNS, total neuropathy score; CCM, corneal confocal microscopy.

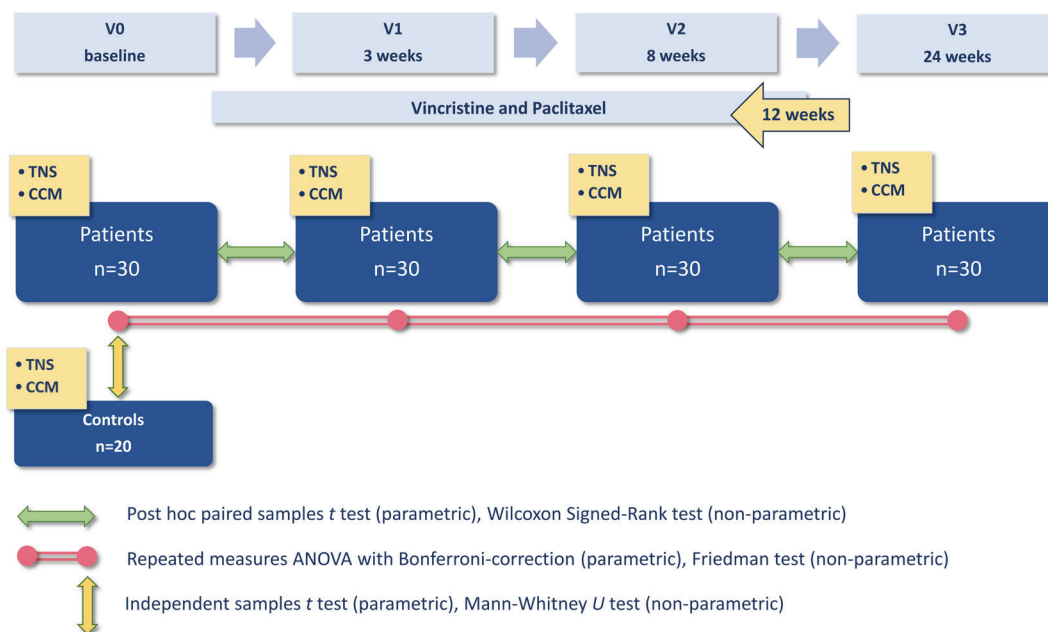
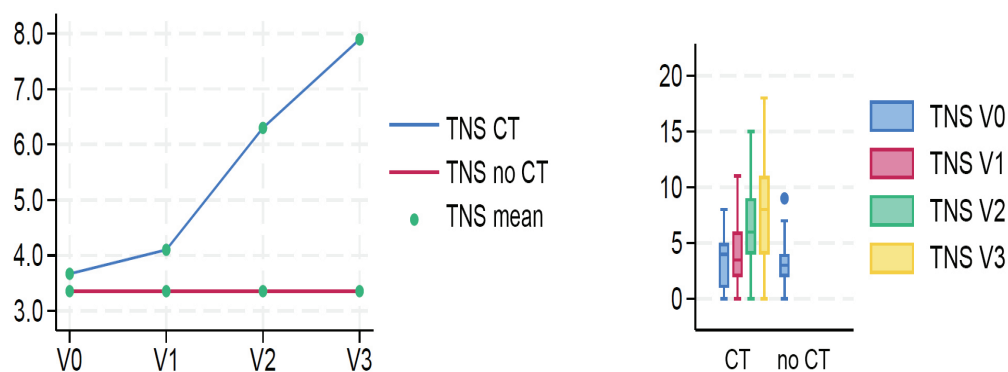


Figure 2. Graphical representation of changes of total neuropathy score by cancer patients treated with Paclitaxel and Vincristine between different visits and compared to healthy controls.



Abbreviations: TNS, total neuropathy score (in points); V0, visit 0 at baseline; V1, visit 1 in 3 weeks; V2, visit 2 in 8 weeks; V3, visit 3 in 24 weeks after the beginning of chemotherapy; CT, chemotherapy; no CT, no chemotherapy.

Figure 3. Corneal confocal microscopy shows corneal nerve differences in the same patient before (A) and after (B) chemotherapy.

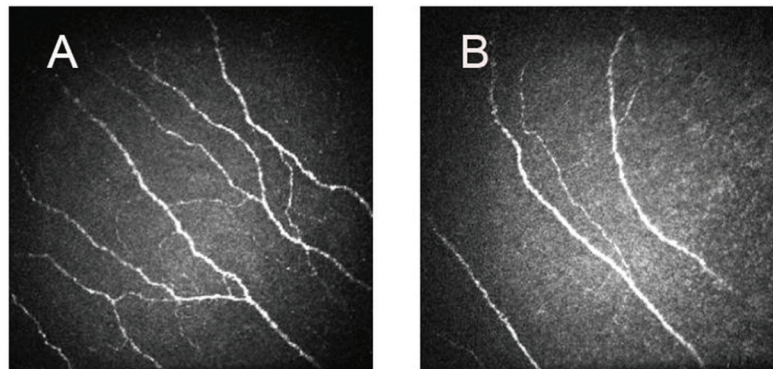
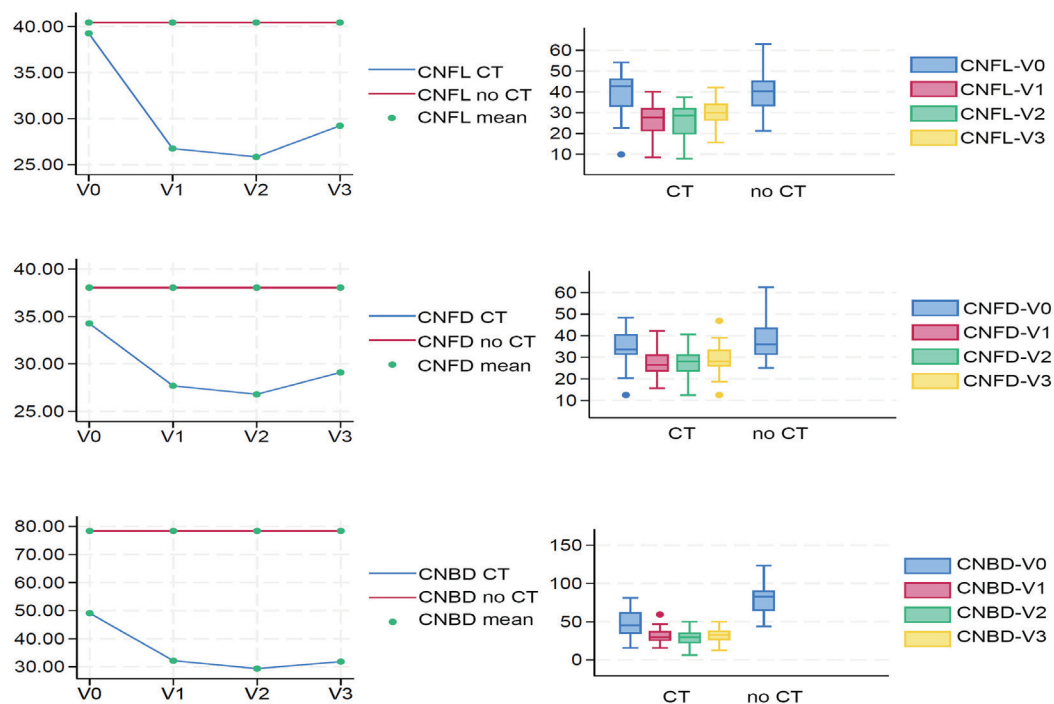


Figure 4. Graphical representation of changes in corneal confocal microscopy parameters by cancer patients treated with Paclitaxel and Vincristine between different visits and compared to healthy controls.



Abbreviations: CNFL, corneal nerve fiber length (in mm/mm²); CNFD, corneal nerve fiber density (in n/mm²); CNBD, corneal nerve branch density (in n/mm²); V0, visit 0 at baseline; V1, visit 1 in 3 weeks; V2, visit 2 in 8 weeks; V3, visit 3 in 24 weeks after the beginning of chemotherapy; CT, chemotherapy; no CT, no chemotherapy.

4. Diskussion

In unserer Studie analysierten wir die Fähigkeit der kornealen konfokalen Mikroskopie, Veränderungen des subbasalen Nervenplexus in der Kornea bei Krebspatienten während und nach einer Chemotherapie im Vergleich zur Kontrollgruppe zu erfassen.

Das Ziel der Studie bestand darin, die Eignung der CCM für die frühzeitige Diagnostik der Chemotherapie-induzierten peripheren Neuropathie einzuschätzen und ihre diagnostische Nutzbarkeit im Vergleich zur klinischen Evaluation mittels des Total Neuropathy Score zu beurteilen.

Frühere Studien haben die Neurotoxizität von Chemotherapeutika mittels TNS und CCM untersucht.^{88,89} Allerdings wurde in diesen Studien kein direkter Vergleich der klinischen Manifestationen der CIPN mit den SNP-Parametern der Kornea während und nach der Chemotherapie vorgenommen.

In unserer Studie haben wir versucht, diese Lücke zu schließen, indem klinische Zeichen im TNS mit Veränderungen in CCM sowohl während der Chemotherapie als auch nach Beendigung der Chemotherapie bei Krebspatienten verglichen wurden. Nach unserem Kenntnisstand ist eine solche Untersuchung in der Literatur bisher nicht beschrieben worden, was diese Studie als neuartig ausweist.

Die Patienten zeigten klinische Anzeichen einer CIPN, welche ab der 3. Behandlungswoche mit einer Zunahme des TNS deutlich erkennbar wurden. Ab der 8. Woche zeigte sich ein statistisch signifikanter Anstieg des TNS.

Die neurotoxischen Effekte von Taxanen, einschließlich früherer Hinweise nach Beginn der Chemotherapie, sind in der Literatur bereits beschrieben, und unsere Ergebnisse stehen im Einklang mit diesen Befunden.⁹¹

Zusätzlich wurde eine nicht signifikante Zunahme des TNS nach Abschluss der Chemotherapie bis zur 24. Woche beobachtet. Da die Chemotherapie in unserer Studie über einen Zeitraum von 12 Wochen ab Behandlungsbeginn verabreicht wurde, lässt sich dieses Ergebnis mit dem sogenannten Coasting-Phänomen vergleichen, das eine fortschreitende Verschlechterung neuropathischer Symptome nach Beendigung der Chemotherapie beschreibt.^{7, 92}

Während des gesamten 24-wöchigen Beobachtungszeitraums wurden signifikante Unterschiede in den CCM-Messungen im Vergleich zum Ausgangswert sowie zu einer gesunden Kontrollgruppe festgestellt.

Die Tatsache, dass nur die CNBD als einziger der drei CCM-Parameter eine signifikante Differenz zwischen Kontrollen und Patientengruppen zeigt, könnte auf Faktoren wie den Einfluss zugrunde liegender Malignitäten an diesem Parameter der CCM zurückzuführen sein. Zudem erscheint die Veränderung der CNBD im Vergleich zu CNFL und CNFD deutlich stärker ausgeprägt, was darauf hindeutet, dass die CNBD möglicherweise empfindlicher auf systemische Toxizität bei Krebspatienten reagiert. Es ist jedoch auch möglich, dass diese Befunde eine statistische Anomalie darstellen, da die Probandenzahlen in beiden Subgruppen (Patienten und Kontrolle) relativ niedrig sind.

Alle CCM-Parameter - CNFL, CNFD und CNBD zeigten ab Woche 3 eine signifikante Abnahme, mit weiteren Reduktionen bis Woche 8 im Verlauf der Chemotherapie. Dies deutet darauf hin, dass die Veränderungen im CCM bereits frühzeitig (ab Woche 3) auftreten, während klinische Anzeichen einer CIPN in TNS erst ab Woche 8 sichtbar wurden.

Kürzlich veröffentlichte Studien, beispielsweise die von Chiang J. C. B. et al., liefern Evidenz für eine Reduktion der subepithelialen Nerven der Kornea während einer neurotoxischen Chemotherapie, insbesondere bei den häufig verwendeten Substanzen Paclitaxel und Oxaliplatin, was mit den Ergebnissen unserer Untersuchung übereinstimmt.²¹

Im Gegensatz dazu konnte eine kleine Studie von Katz M. et al., die 15 Patienten einschloss, keinen signifikanten Nachweis für die Leistungsfähigkeit CCM als diagnostisches Instrument zur Früherkennung der CIPN erbringen.⁹³

Die Divergenzen in den Ergebnissen der aktuellen Studie könnten auf methodologische Variationen bei der Zählung der Nervenfasern der Kornea zurückzuführen sein, insbesondere auf die Verwendung unterschiedlicher vollständig automatisierter (bei Katz et al.) und semiautomatisierter (in unserer Studie) Verfahren zur Bewertung der CCM-Parameter. Zudem könnten die begrenzte Stichprobengröße, Unterschiede in der Therapie sowie potenzielle Selektionsverzerrung eine Rolle spielen.

Wir beobachteten zudem eine nicht signifikante Zunahme aller CCM-Parameter nach 24 Wochen nach Beginn der Chemotherapie, was nur teilweise mit früheren Studien übereinstimmt, die eine nicht signifikante Erhöhung von CNFD, CNBD sowie eine signifikante Zunahme von CNFL in Verlaufskontrolle zeigten.⁸⁷

In dieser Studie wurde die Chemotherapie über einen Zeitraum von 12 Wochen verabreicht, gefolgt von einer anschließenden 12-wöchigen Phase ohne weitere Chemotherapie. Dieser Zeitraum könnte die Regeneration und Heilung der durch die Chemotherapie verursachten Schäden im SNP begünstigt haben.

In einigen Studien wurde gezeigt, dass die regenerativen Prozesse im SNP mittels CCM bei systemischen Erkrankungen wie Diabetes mellitus und Sarkoidose nach einer optimalen Einstellung und Behandlung erfasst werden können.^{68, 74, 94, 95}

Allerdings haben wir bis zur Woche 24 keine Anzeichen für eine kontinuierliche Reduktion der CCM-Parameter festgestellt, und ein zunehmender Trend des TNS wurde am SNP der Kornea nicht beobachtet.

Die stärksten Veränderungen im CCM traten nach der Chemotherapie in der 8. Woche auf und zeigten eine Sensitivität von 86% sowie eine Spezifität von 100% bei der Identifikation einer Neuropathie. Diese Ergebnisse sind jedoch mit Vorsicht zu interpretieren, da die Stichprobengröße begrenzt ist.

Während des gesamten 24-wöchigen Beobachtungszeitraums wurde keine signifikante Korrelation zwischen den CCM-Ergebnissen und dem TNS gefunden.

Die Beobachtung, dass die CCM-Parameter in unserer Patientengruppe bereits ab Woche 3 Veränderungen zeigten, etwa 5 Wochen früher als die objektiven und subjektiven Zeichen im TNS bei Woche 8, deutet darauf hin, dass strukturelle Veränderungen möglicherweise den funktionellen und klinischen Manifestationen der CIPN vorausgehen.

Die frühzeitige Erkennung dieser Veränderungen bietet ein wertvolles Zeitfenster, um Behandlungsstrategien anzupassen und möglicherweise das Fortschreiten der CIPN zu verhindern oder abzumildern.

Des Weiteren ist hervorzuheben, dass trotz der beobachteten Verbesserungen der CCM-Parameter bis zur Woche 24 die klinischen Zeichen einer CIPN, bewertet mittels TNS, keine Anzeichen einer Verbesserung zeigen und stattdessen einen zunehmenden Trend aufweisen.

Gleichzeitig könnte die Diskrepanz in den beobachteten Ergebnissen auf die unterschiedliche Methodik der beiden Untersuchungen zurückzuführen sein: der TNS-Score integriert sowohl objektive als auch subjektive Messungen, während die CCM-Analyse des SNP der Kornea ausschließlich auf objektiven Parametern basiert. Diese Unterschiede im Ansatz könnten die Variabilität in den Ergebnissen erklären, da subjektive Bewertungen oftmals persönliche Wahrnehmungen und Erfahrungen widerspiegeln.

Es erscheint sinnvoll, die Patienten in späteren Zeitpunkten longitudinal zu follow-up-Studien zu untersuchen, um zu klären, ob die Diskrepanzen zwischen CCM-Parametern und TNS persistieren oder sich verändern. Ein solcher Ansatz könnte wertvolle Einblicke in die Stabilität der Messgrößen und deren potenzielle Implikationen für das Patientenmanagement liefern.

Im Rahmen dieser Studie wurde hingegen kein Zusammenhang zwischen der kumulativen Dosis oder dem Chemotherapieregime sowie der zugrunde liegenden onkologischen Erkrankung und den Veränderungen in TNS oder CCM als potenziellen Einflussfaktoren untersucht. Diese Fragestellungen stellen ein interessantes Thema für zukünftige Analysen dar, um Unterschiede zwischen neurotoxischen Chemotherapeutika wie Vincristine und Paclitaxel zu vergleichen oder den Zusammenhang mit unterschiedlichen malignen Erkrankungen zu untersuchen.

Eine Einschränkung dieser Studie besteht darin, dass weder eine Haut- noch eine Nervenbiopsie durchgeführt wurde. Zudem wurde die CCM als Diagnostiktool für CIPN nicht mit diesen objektiven Methoden verglichen, die als Goldstandard für die direkte Beurteilung der Polyneuropathie gelten und pathologische Nachweise der intraepidermalen Nervenfaserdichte bei CIPN liefern können.^{60,72}

Zur klinischen Beobachtung und Diagnostik der Neuropathie verwendeten wir ein Bewertungssystem basierend auf dem TNS, das auch subjektive klinische Zeichen der Erkrankung umfasst. Um die diagnostische Genauigkeit der CCM in der Ergänzung zur Behandlung der CIPN zu evaluieren, wären weiterführende Studien notwendig, die den Vergleich mit objektiven Verfahren, einschließlich der Hautbiopsie, beinhalten.

Ein wesentlicher Vorteil der CCM besteht jedoch darin, dass sie eine wiederholte Untersuchung ohne Gewebeverletzung ermöglicht. Diese nicht-invasive Technik der CCM erlaubt eine umfassendere Beurteilung der Nervenintegrität im Verlauf, wodurch die mit invasiven Biopsiemethoden verbundenen Limitationen umgangen werden können.⁶⁰

Eine weitere Einschränkung der Studie besteht in der geringen Stichprobengröße.

Die Rekrutierung onkologischer Patienten unter Chemotherapie gestaltet sich herausfordernd, dennoch wurden trotz der kleinen Teilnehmerzahl statistisch signifikante klinische Veränderungen beobachtet.

Um die Ergebnisse zu validieren, ist eine Studie mit einer größeren Stichprobe wünschenswert. Zudem wäre die Entwicklung standardisierter Protokolle für die CCM-Datenanalyse und die Bildauswahl von Vorteil, um die Methodik künftig effizient

weiterzuentwickeln⁹⁶ und deren Nützlichkeit sowohl als Biomarker als auch als ergänzende Diagnostische Werkzeug zu den bestehenden klinischen Verfahren zu beurteilen.

Zusammenfassend deuten unsere Ergebnisse darauf hin, dass die konfokale Mikroskopie des subbasalen Nervenplexus der Kornea eine vielversprechende Methode zur frühzeitigen Erkennung von Veränderungen in den kleinen Nervenfasern bei Patienten mit Chemotherapie-induzierter Polyneuropathie darstellt und somit als diagnostisches Instrument besonders attraktiv ist.

5. Literaturverzeichnis

- 1 Argyriou AA, Kyritsis AP, Makatsoris T, et al. Chemotherapy-induced peripheral neuropathy in adults: a comprehensive update of the literature. *Cancer Manag Res* 2014; **6**: 135–47. <https://doi.org/10.2147/CMAR.S44261>
- 2 Xiao WH, Zheng H, Bennett GJ. Characterization of oxaliplatin-induced chronic painful peripheral neuropathy in the rat and comparison with the neuropathy induced by paclitaxel. *Neuroscience* 2012; **203**: 194–206. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2011.12.023>
- 3 Lakshman A, Modi M, Prakash G, et al. Evaluation of Bortezomib-Induced Neuropathy Using Total Neuropathy Score (Reduced and Clinical Versions) and NCI CTCAE v4.0 in Newly Diagnosed Patients With Multiple Myeloma Receiving Bortezomib-Based Induction. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk* 2017; **17**: 513-519.e1. <https://doi.org/10.1016/j.clml.2017.06.035>
- 4 Benbow SJ, Wozniak KM, Kulesh B, et al. Microtubule-Targeting Agents Eribulin and Paclitaxel Differentially Affect Neuronal Cell Bodies in Chemotherapy-Induced Peripheral Neuropathy. *Neurotox Res* 2017; **32**: 151–62. <https://doi.org/10.1007/s12640-017-9729-6>
- 5 Tarasiuk O, Cavaletti G, Meregalli C. Clinical and preclinical features of eribulin-related peripheral neuropathy. *Exp Neurol* 2022; **348**: 113925. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2021.113925>
- 6 Argyriou AA, Bruna J, Marmioli P, Cavaletti G. Chemotherapy-induced peripheral neurotoxicity (CIPN): an update. *Crit Rev Oncol Hematol* 2012; **82**: 51–77. <https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2011.04.012>
- 7 Brewer JR, Morrison G, Dolan ME, Fleming GF. Chemotherapy-induced peripheral neuropathy: Current status and progress. *Gynecol Oncol* 2016; **140**: 176–83. <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2015.11.011>
- 8 Seretny M, Currie GL, Sena ES, et al. Incidence, prevalence, and predictors of chemotherapy-induced peripheral neuropathy: A systematic review and meta-analysis. *Pain* 2014; **155**: 2461–70. <https://doi.org/10.1016/j.pain.2014.09.020>
- 9 Alberti P, Rossi E, Cornblath DR, et al. Physician-assessed and patient-reported outcome measures in chemotherapy-induced sensory peripheral neurotoxicity: two sides of the same coin. *Ann Oncol* 2014; **25**: 257–64. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdt409>
- 10 Argyriou AA, Zolota V, Kyriakopoulou O, Kalofonos HP. Toxic peripheral neuropathy associated with commonly used chemotherapeutic agents. *J BUON* 2010; **15**: 435–46.

- 11 Park SB, Goldstein D, Krishnan AV, et al. Chemotherapy-induced peripheral neurotoxicity: a critical analysis. *CA: a cancer journal for clinicians* 2013; **63**: 419–37.
<https://doi.org/10.3322/caac.21204>
- 12 Quasthoff S, Hartung HP. Chemotherapy-induced peripheral neuropathy. *J Neurol* 2002; **249**: 9–17. <https://doi.org/10.1007/pl00007853>
- 13 Burgess J, Ferdousi M, Gosal D, et al. Chemotherapy-Induced Peripheral Neuropathy: Epidemiology, Pathomechanisms and Treatment. *Oncol Ther* 2021; **9**: 385–450.
<https://doi.org/10.1007/s40487-021-00168-y>
- 14 Avan A, Postma TJ, Ceresa C, et al. Platinum-induced neurotoxicity and preventive strategies: past, present, and future. *Oncologist* 2015; **20**: 411–32.
<https://doi.org/10.1634/theoncologist.2014-0044>
- 15 Li T, Trinh T, Bosco A, Kiernan MC, Goldstein D, Park SB. Characterising vincristine-induced peripheral neuropathy in adults: symptom development and long-term persistent outcomes. *Support Care Cancer* 2024; **32**: 278. <https://doi.org/10.1007/s00520-024-08484-5>
- 16 Shah A, Hoffman EM, Mauermann ML, et al. Incidence and disease burden of chemotherapy-induced peripheral neuropathy in a population-based cohort. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2018; **89**: 636–41. <https://doi.org/10.1136/jnnp-2017-317215>
- 17 Hausheer FH, Schilsky RL, Bain S, Berghorn EJ, Lieberman F. Diagnosis, management, and evaluation of chemotherapy-induced peripheral neuropathy. *Semin Oncol* 2006; **33**: 15–49. <https://doi.org/10.1053/j.seminoncol.2005.12.010>
- 18 Koeppen S. Prophylaxe und Therapie der chemotherapieinduzierten Polyneuropathie. *best practice onkologie* 2018; **13**: 214–25. <https://doi.org/10.1007/s11654-018-0082-x>
- 19 McCrary JM, Goldstein D, Boyle F, et al. Optimal clinical assessment strategies for chemotherapy-induced peripheral neuropathy (CIPN): a systematic review and Delphi survey. *Support Care Cancer* 2017; **25**: 3485–93. <https://doi.org/10.1007/s00520-017-3772-y>
- 20 Peters CM, Jimenez-Andrade JM, Kuskowski MA, Ghilardi JR, Mantyh PW. An evolving cellular pathology occurs in dorsal root ganglia, peripheral nerve and spinal cord following intravenous administration of paclitaxel in the rat. *Brain Res* 2007; **1168**: 46–59.
<https://doi.org/10.1016/j.brainres.2007.06.066>
- 21 Chiang JCB, Goldstein D, Trinh T, et al. A Cross-Sectional Study of Sub-Basal Corneal Nerve Reduction Following Neurotoxic Chemotherapy. *Transl Vis Sci Technol* 2021; **10**: 24. <https://doi.org/10.1167/tvst.10.1.24>
- 22 Reeves BN, Dakhil SR, Sloan JA, et al. Further data supporting that paclitaxel-associated acute pain syndrome is associated with development of peripheral neuropathy: North

- Central Cancer Treatment Group trial N08C1. *Cancer* 2012; **118**: 5171–78.
<https://doi.org/10.1002/cncr.27489>
- 23 Gradishar WJ, Tjulandin S, Davidson N, et al. Phase III trial of nanoparticle albumin-bound paclitaxel compared with polyethylated castor oil-based paclitaxel in women with breast cancer. *J Clin Oncol* 2005; **23**: 7794–803.
<https://doi.org/10.1200/JCO.2005.04.937>
 - 24 Argyriou AA, Polychronopoulos P, Iconomou G, Koutras A, Kalofonos HP, Chroni E. Paclitaxel plus carboplatin-induced peripheral neuropathy. A prospective clinical and electrophysiological study in patients suffering from solid malignancies. *J Neurol* 2005; **252**: 1459–64. <https://doi.org/10.1007/s00415-005-0887-8>
 - 25 Pignata S, Placido S de, Biamonte R, et al. Residual neurotoxicity in ovarian cancer patients in clinical remission after first-line chemotherapy with carboplatin and paclitaxel: the Multicenter Italian Trial in Ovarian cancer (MITO-4) retrospective study. *BMC Cancer* 2006; **6**: 5. <https://doi.org/10.1186/1471-2407-6-5>
 - 26 La Morena Barrio P de, Conesa MÁV, González-Billalabeitia E, et al. Delayed recovery and increased severity of Paclitaxel-induced peripheral neuropathy in patients with diabetes. *J Natl Compr Canc Netw* 2015; **13**: 417–23.
<https://doi.org/10.6004/jnccn.2015.0057>
 - 27 Cornblath DR, Chaudhry V, Carter K, et al. Total neuropathy score: validation and reliability study. *Neurology* 1999; **53**: 1660–64. <https://doi.org/10.1212/wnl.53.8.1660>
 - 28 Cavaletti G, Frigeni B, Lanzani F, et al. The Total Neuropathy Score as an assessment tool for grading the course of chemotherapy-induced peripheral neurotoxicity: comparison with the National Cancer Institute-Common Toxicity Scale. *J Peripher Nerv Syst* 2007; **12**: 210–15. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8027.2007.00141.x>
 - 29 Cavaletti G, Jann S, Pace A, et al. Multi-center assessment of the Total Neuropathy Score for chemotherapy-induced peripheral neurotoxicity. *J Peripher Nerv Syst* 2006; **11**: 135–41. <https://doi.org/10.1111/j.1085-9489.2006.00078.x>
 - 30 Cavaletti G, Bogliun G, Marzorati L, et al. Grading of chemotherapy-induced peripheral neurotoxicity using the Total Neuropathy Scale. *Neurology* 2003; **61**: 1297–300.
<https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000092015.03923.19>
 - 31 Winter K, Scheibe P, Guthoff RF, Allgeier S, Stachs O. Morphometrische Charakterisierung des subbasalen Nervenplexus : Detektion und Analyse von Nervenfasernetzwerken. *Ophthalmologe* 2017; **114**: 608–16.
<https://doi.org/10.1007/s00347-017-0465-3>
 - 32 Guthoff RF, Wienss H, Hahnel C, Wree A. Epithelial innervation of human cornea: a three-dimensional study using confocal laser scanning fluorescence microscopy. *Cornea* 2005; **24**: 608–13. <https://doi.org/10.1097/01.ico.0000154384.05614.8f>

- 33 Marfurt CF, Cox J, Deek S, Dvorscak L. Anatomy of the human corneal innervation. *Exp Eye Res* 2010; **90**: 478–92. <https://doi.org/10.1016/j.exer.2009.12.010>
- 34 Marfurt CF, Kingsley RE, Echtenkamp SE. Sensory and sympathetic innervation of the mammalian cornea. A retrograde tracing study. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1989; **30**: 461–72.
- 35 Müller LJ, Marfurt CF, Kruse F, Tervo TMT. Corneal nerves: structure, contents and function. *Exp Eye Res* 2003; **76**: 521–42. [https://doi.org/10.1016/s0014-4835\(03\)00050-2](https://doi.org/10.1016/s0014-4835(03)00050-2)
- 36 Tervo T, Joó F, Huikuri KT, Toth I, Palkama A. Fine structure of sensory nerves in the rat cornea: an experimental nerve degeneration study. *Pain* 1979; **6**: 57–70. [https://doi.org/10.1016/0304-3959\(79\)90140-4](https://doi.org/10.1016/0304-3959(79)90140-4)
- 37 Marfurt CF, Jones MA, Thrasher K. Parasympathetic innervation of the rat cornea. *Exp Eye Res* 1998; **66**: 437–48. <https://doi.org/10.1006/exer.1997.0445>
- 38 Patel DV, McGhee CNJ. Mapping of the normal human corneal sub-Basal nerve plexus by in vivo laser scanning confocal microscopy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005; **46**: 4485–88. <https://doi.org/10.1167/iovs.05-0794>
- 39 Masters BR, Rudolf F, Guthoff, Christophe Baudouin, Joachim Stave: Atlas of Confocal Laser Scanning In-vivo Microscopy in Ophthalmology—Principles and Applications in Diagnostic and Therapeutic Ophthalmology. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2008; **246**: 1357–59. <https://doi.org/10.1007/s00417-008-0787-6>
- 40 Al-Aqaba MA, Fares U, Suleman H, Lowe J, Dua HS. Architecture and distribution of human corneal nerves. *Br J Ophthalmol* 2010; **94**: 784–89. <https://doi.org/10.1136/bjo.2009.173799>
- 41 Pawley JB. Handbook of biological confocal microscopy. New York, NY: Springer, 2006.
- 42 Webb RH. Confocal optical microscopy. *Rep. Prog. Phys.* 1996; **59**: 427–71. <https://doi.org/10.1088/0034-4885/59/3/003>
- 43 Burmeister M, Schwanewede H von, Stave J, Guthoff RF. Intraorale Diagnostik mittels konfokaler Laser-Scanning-Mikroskopie. *Biomed Tech (Berl)* 2009; **54**: 23–28. <https://doi.org/10.1515/BMT.2009.004>
- 44 Falke K, Prakasam RK, Hovakimyan M, Zhivov A, Guthoff RF, Stachs O. Oberflächenerkrankungen des Auges unterschiedlicher Genese - klinische und konfokalmikroskopische Untersuchungen. *Klin Monbl Augenheilkd* 2013; **230**: 59–63. <https://doi.org/10.1055/s-0032-1327947>
- 45 Petropoulos IN, Alam U, Fadavi H, et al. Rapid automated diagnosis of diabetic peripheral neuropathy with in vivo corneal confocal microscopy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2014; **55**: 2071–78. <https://doi.org/10.1167/iovs.13-13787>
- 46 Dehghani C, Pritchard N, Edwards K, Russell AW, Malik RA, Efron N. Fully automated, semiautomated, and manual morphometric analysis of corneal subbasal nerve plexus in

- individuals with and without diabetes. *Cornea* 2014; **33**: 696–702.
<https://doi.org/10.1097/ICO.0000000000000152>
- 47 Chen X, Graham J, Dabbah MA, Petropoulos IN, Tavakoli M, Malik RA. An Automatic Tool for Quantification of Nerve Fibers in Corneal Confocal Microscopy Images. *IEEE Trans Biomed Eng* 2017; **64**: 786–94. <https://doi.org/10.1109/TBME.2016.2573642>
 - 48 Chen X, Graham J, Dabbah MA, et al. Small nerve fiber quantification in the diagnosis of diabetic sensorimotor polyneuropathy: comparing corneal confocal microscopy with intraepidermal nerve fiber density. *Diabetes Care* 2015; **38**: 1138–44.
<https://doi.org/10.2337/dc14-2422>
 - 49 Ferdousi M, Kalteniece A, Azmi S, et al. Diagnosis of Neuropathy and Risk Factors for Corneal Nerve Loss in Type 1 and Type 2 Diabetes: A Corneal Confocal Microscopy Study. *Diabetes Care* 2021; **44**: 150–56. <https://doi.org/10.2337/dc20-1482>
 - 50 Meijering E, Jacob M, Sarria J-CF, Steiner P, Hirling H, Unser M. Design and validation of a tool for neurite tracing and analysis in fluorescence microscopy images. *Cytometry A* 2004; **58**: 167–76. <https://doi.org/10.1002/cyto.a.20022>
 - 51 Image J NJ. <http://rsb.info.nih.gov/ij/>. <https://image.science.org/meijering/software/neuronj/>.
 - 52 Popko J, Fernandes A, Brites D, Lanier LM. Automated analysis of NeuronJ tracing data. *Cytometry A* 2009; **75**: 371–76. <https://doi.org/10.1002/cyto.a.20660>
 - 53 Cottrell P, Ahmed S, James C, et al. Neuron J is a rapid and reliable open source tool for evaluating corneal nerve density in herpes simplex keratitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2014; **55**: 7312–20. <https://doi.org/10.1167/iovs.14-15140>
 - 54 Vallotton P, Lagerstrom R, Sun C, et al. Automated analysis of neurite branching in cultured cortical neurons using HCA-Vision. *Cytometry A* 2007; **71**: 889–95.
<https://doi.org/10.1002/cyto.a.20462>
 - 55 Parissi M, Karanis G, Randjelovic S, et al. Standardized baseline human corneal subbasal nerve density for clinical investigations with laser-scanning in vivo confocal microscopy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2013; **54**: 7091–102.
<https://doi.org/10.1167/iovs.13-12999>
 - 56 Efron N, Lee G, Lim RN, et al. Development and validation of the QUT corneal nerve grading scale. *Cornea* 2014; **33**: 376–81. <https://doi.org/10.1097/ICO.0000000000000084>
 - 57 Chiou AG-Y, Kaufman SC, Kaufman HE, Beuerman RW. Clinical corneal confocal microscopy. *Surv Ophthalmol* 2006; **51**: 482–500.
<https://doi.org/10.1016/j.survophthal.2006.06.010>
 - 58 Zhivov A, Blum M, Guthoff R, Stachs O. Real-time mapping of the subepithelial nerve plexus by in vivo confocal laser scanning microscopy. *Br J Ophthalmol* 2010; **94**: 1133–35. <https://doi.org/10.1136/bjo.2009.175489>

- 59 Patel DV, McGhee CNJ. In vivo confocal microscopy of human corneal nerves in health, in ocular and systemic disease, and following corneal surgery: a review. *Br J Ophthalmol* 2009; **93**: 853–60. <https://doi.org/10.1136/bjo.2008.150615>
- 60 Wang EF, Misra SL, Patel DV. In Vivo Confocal Microscopy of the Human Cornea in the Assessment of Peripheral Neuropathy and Systemic Diseases. *Biomed Res Int* 2015; **2015**: 951081. <https://doi.org/10.1155/2015/951081>
- 61 Oliveira-Soto L, Efron N. Morphology of corneal nerves using confocal microscopy. *Cornea* 2001; **20**: 374–84. <https://doi.org/10.1097/00003226-200105000-00008>
- 62 Alam U, Jeziorska M, Petropoulos IN, et al. Diagnostic utility of corneal confocal microscopy and intra-epidermal nerve fibre density in diabetic neuropathy. *PLoS One* 2017; **12**: e0180175. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0180175>
- 63 Cruzat A, Qazi Y, Hamrah P. In Vivo Confocal Microscopy of Corneal Nerves in Health and Disease. *Ocul Surf* 2017; **15**: 15–47. <https://doi.org/10.1016/j.jtos.2016.09.004>
- 64 Perkins BA, Lovblom LE, Bril V, et al. Corneal confocal microscopy for identification of diabetic sensorimotor polyneuropathy: a pooled multinational consortium study. *Diabetologia* 2018; **61**: 1856–61. <https://doi.org/10.1007/s00125-018-4653-8>
- 65 Tavakoli M, Ferdousi M, Petropoulos IN, et al. Normative values for corneal nerve morphology assessed using corneal confocal microscopy: a multinational normative data set. *Diabetes Care* 2015; **38**: 838–43. <https://doi.org/10.2337/dc14-2311>
- 66 Zhivov A, Winter K, Peschel S, et al. Changes in the micromorphology of the corneal subbasal nerve plexus in patients after plaque brachytherapy. *Radiat Oncol* 2013; **8**: 136. <https://doi.org/10.1186/1748-717X-8-136>
- 67 Zhivov A, Winter K, Peschel S, et al. Quantitative Analyse des subbasalen Nervenplexus der Kornea mittels in vivo konfokaler Laser-Scanning-Mikroskopie. *Klin Monbl Augenheilkd* 2011; **228**: 1067–72. <https://doi.org/10.1055/s-0031-1281663>
- 68 Brines M, Culver DA, Ferdousi M, et al. Corneal nerve fiber size adds utility to the diagnosis and assessment of therapeutic response in patients with small fiber neuropathy. *Sci Rep* 2018; **8**: 4734. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-23107-w>
- 69 Zhivov A, Winter K, Hovakimyan M, et al. Imaging and quantification of subbasal nerve plexus in healthy volunteers and diabetic patients with or without retinopathy. *PLoS One* 2013; **8**: e52157. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0052157>
- 70 Bucher F, Schneider C, Blau T, et al. Small-Fiber Neuropathy Is Associated With Corneal Nerve and Dendritic Cell Alterations: An In Vivo Confocal Microscopy Study. *Cornea* 2015; **34**: 1114–19. <https://doi.org/10.1097/ICO.0000000000000535>
- 71 Malik RA, Kallinikos P, Abbott CA, et al. Corneal confocal microscopy: a non-invasive surrogate of nerve fibre damage and repair in diabetic patients. *Diabetologia* 2003; **46**: 683–88. <https://doi.org/10.1007/s00125-003-1086-8>

- 72 Ziegler D, Papanas N, Zhivov A, et al. Early detection of nerve fiber loss by corneal confocal microscopy and skin biopsy in recently diagnosed type 2 diabetes. *Diabetes* 2014; **63**: 2454–63. <https://doi.org/10.2337/db13-1819>
- 73 Tavakoli M, Marshall A, Banka S, et al. Corneal confocal microscopy detects small-fiber neuropathy in Charcot-Marie-Tooth disease type 1A patients. *Muscle Nerve* 2012; **46**: 698–704. <https://doi.org/10.1002/mus.23377>
- 74 Culver DA, Dahan A, Bajorunas D, et al. Cibinetide Improves Corneal Nerve Fiber Abundance in Patients With Sarcoidosis-Associated Small Nerve Fiber Loss and Neuropathic Pain. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2017; **58**: BIO52-BIO60. <https://doi.org/10.1167/iovs.16-21291>
- 75 Kemp HI, Petropoulos IN, Rice ASC, et al. Use of Corneal Confocal Microscopy to Evaluate Small Nerve Fibers in Patients With Human Immunodeficiency Virus. *JAMA Ophthalmol* 2017; **135**: 795–800. <https://doi.org/10.1001/jamaophthalmol.2017.1703>
- 76 Schneider C, Bucher F, Cursiefen C, Fink GR, Heindl LM, Lehmann HC. Corneal confocal microscopy detects small fiber damage in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy (CIDP). *J Peripher Nerv Syst* 2014; **19**: 322–27. <https://doi.org/10.1111/jns.12098>
- 77 Stettner M, Hinrichs L, Guthoff R, et al. Corneal confocal microscopy in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy. *Ann Clin Transl Neurol* 2016; **3**: 88–100. <https://doi.org/10.1002/acn3.275>
- 78 Rajabally YA, Stettner M, Kieseier BC, Hartung H-P, Malik RA. CIDP and other inflammatory neuropathies in diabetes - diagnosis and management. *Nat Rev Neurol* 2017; **13**: 599–611. <https://doi.org/10.1038/nrneurol.2017.123>
- 79 Bitirgen G, Turkmen K, Malik RA, Ozkagnici A, Zengin N. Corneal confocal microscopy detects corneal nerve damage and increased dendritic cells in Fabry disease. *Sci Rep* 2018; **8**: 12244. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-30688-z>
- 80 Tavakoli M, Marshall A, Thompson L, et al. Corneal confocal microscopy: a novel noninvasive means to diagnose neuropathy in patients with Fabry disease. *Muscle Nerve* 2009; **40**: 976–84. <https://doi.org/10.1002/mus.21383>
- 81 Bitirgen G, Tinkir Kayitmazbatir E, Satirtav G, Malik RA, Ozkagnici A. In Vivo Confocal Microscopic Evaluation of Corneal Nerve Fibers and Dendritic Cells in Patients With Behçet's Disease. *Front Neurol* 2018; **9**: 204. <https://doi.org/10.3389/fneur.2018.00204>
- 82 Kass-Iliyya L, Javed S, Gosal D, et al. Small fiber neuropathy in Parkinson's disease: A clinical, pathological and corneal confocal microscopy study. *Parkinsonism Relat Disord* 2015; **21**: 1454–60. <https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2015.10.019>
- 83 Bitirgen G, Akpınar Z, Malik RA, Ozkagnici A. Use of Corneal Confocal Microscopy to Detect Corneal Nerve Loss and Increased Dendritic Cells in Patients With Multiple

- Sclerosis. *JAMA Ophthalmol* 2017; **135**: 777–82.
<https://doi.org/10.1001/jamaophthalmol.2017.1590>
- 84 Khan A, Akhtar N, Kamran S, et al. Corneal Confocal Microscopy Detects Corneal Nerve Damage in Patients Admitted With Acute Ischemic Stroke. *Stroke* 2017; **48**: 3012–18.
<https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.117.018289>
 - 85 Lalive PH, Truffert A, Magistris MR, Landis T, Dosso A. Peripheral autoimmune neuropathy assessed using corneal in vivo confocal microscopy. *Arch Neurol* 2009; **66**: 403–05. <https://doi.org/10.1001/archneurol.2008.587>
 - 86 Papanas N, Ziegler D. Corneal confocal microscopy: a new technique for early detection of diabetic neuropathy. *Curr Diab Rep* 2013; **13**: 488–99. <https://doi.org/10.1007/s11892-013-0390-z>
 - 87 Ferdousi M, Azmi S, Petropoulos IN, et al. Corneal Confocal Microscopy Detects Small Fibre Neuropathy in Patients with Upper Gastrointestinal Cancer and Nerve Regeneration in Chemotherapy Induced Peripheral Neuropathy. *PLoS One* 2015; **10**: e0139394.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0139394>
 - 88 Bennedsgaard K, Ventzel L, Andersen NT, et al. Oxaliplatin- and docetaxel-induced polyneuropathy: clinical and neurophysiological characteristics. *J Peripher Nerv Syst* 2020; **25**: 377–87. <https://doi.org/10.1111/jns.12413>
 - 89 Riva N, Bonelli F, Lasagni Vitar RM, et al. Corneal and Epidermal Nerve Quantification in Chemotherapy Induced Peripheral Neuropathy. *Front Med (Lausanne)* 2022; **9**: 832344.
<https://doi.org/10.3389/fmed.2022.832344>
 - 90 Campagnolo M, Lazzarini D, Fregona I, et al. Corneal confocal microscopy in patients with oxaliplatin-induced peripheral neuropathy. *J Peripher Nerv Syst* 2013; **18**: 269–71.
<https://doi.org/10.1111/jns5.12036>
 - 91 Eckhoff L, Knoop A, Jensen MB, Ewertz M. Persistence of docetaxel-induced neuropathy and impact on quality of life among breast cancer survivors. *Eur J Cancer* 2015; **51**: 292–300. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2014.11.024>
 - 92 Andersen Hammond E, Pitz M, Shay B. Neuropathic Pain in Taxane-Induced Peripheral Neuropathy: Evidence for Exercise in Treatment. *Neurorehabil Neural Repair* 2019; **33**: 792–99. <https://doi.org/10.1177/1545968319860486>
 - 93 Katz M, Mork H, Baghdasaryan N, et al. High-resolution nerve ultrasound and corneal confocal microscopy in taxane-induced polyneuropathy. *Eur J Neurol* 2024; **31**: e16141.
<https://doi.org/10.1111/ene.16141>
 - 94 Mehra S, Tavakoli M, Kallinikos PA, et al. Corneal confocal microscopy detects early nerve regeneration after pancreas transplantation in patients with type 1 diabetes. *Diabetes Care* 2007; **30**: 2608–12. <https://doi.org/10.2337/dc07-0870>

- 95 Dahan A, Dunne A, Swartjes M, et al. ARA 290 improves symptoms in patients with sarcoidosis-associated small nerve fiber loss and increases corneal nerve fiber density. *Mol Med* 2013; **19**: 334–45. <https://doi.org/10.2119/molmed.2013.00122>
- 96 Sturm D, Vollert J, Greiner T, et al. Implementation of a Quality Index for Improvement of Quantification of Corneal Nerves in Corneal Confocal Microcopy Images: A Multicenter Study. *Cornea* 2019; **38**: 921–26. <https://doi.org/10.1097/ICO.0000000000001949>

6. Anhang

6.1 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1. Durchführung der kornealen konfokalen Mikroskopie mit dem Heidelberg Retina Tomograph III in Kombination mit dem Rostock Cornea Module.

Abbildung 2. Ausschluss von CCM-Bildern.

Abbildung 3. NeuronJ-Analyse der CCM-Bilder.

6.2 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1. Parameter des Total Neuropathy Score in unserer Studie.

Tabelle 2. Normative Referenzwerte und Cutoff-Werte des kornealen subbasalen Nerwenplexus.