



МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ
„ПРОФ. Д-Р ПАРАСКЕВ СТОЯНОВ” ВАРНА
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНА
КАТЕДРА ПО ОЧНИ БОЛЕСТИ И ЗРИТЕЛНИ НАУКИ

Д-р Дарина Яниславова Косева

АВТОРЕФЕРАТ

За присъждане на образователна и научна степен „ДОКТОР” по научна специалност „Офталмология” на тема:

**Диабетната ретинопатия – социално значим проблем,
анализ на ранните промени на микроструктурно ниво**

Научен ръководител

Проф. д-р Зорница Златарова, дмн

Варна, 2021 г.

Дисертационният труд е с обем 206 страници и е онагледен с 15 фигури и 34 таблици. Библиографията включва 411 литературни източници.

Дисертационният труд е обсъден и насрочен за защита на заседание на катедрения съвет на Катедра по очни болести и зрителни науки, проведено на 22.07.2021 г.

Изследванията по дисертационния труд са проведени в „Специализирана болница по очни болести за активно лечение - Варна“ ЕООД.

НАУЧНО ЖУРИ

Председател:

Проф. д-р Христина Николова Групчева, д.м.н, МУ-Варна

Членове:

Външни членове:

Проф. д-р Ива Тодорова Петкова, д.м, МУ-София

Доц. д-р Марин Ангелов Атанасов, д.м, МУ-Пловдив

Доц. д-р Десислава Николаева Колева-Георгиева, д.м, МУ-Пловдив

Вътрешни членове:

Проф. д-р Зорница Златарова-Ангелова, д.м.н., МУ-Варна

Защитата на дисертационния труд ще се проведе на 18.10.2021 г. от 08:30ч. в лекционна зала 214 на „Специализирана болница по очни болести за активно лечение – Варна“ ЕООД.

Съдържание

1. ВЪВЕДЕНИЕ	4
2. ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ	6
3. РЕЗЮМЕ.....	9
4. АВСТРАСТ.....	12
5. ЦЕЛ И ЗАДАЧИ	15
6.МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ.....	16
7.РЕЗУЛТАТИ.....	28
8.ОБСЪЖДАНЕ	48
9.ОБОБЩЕНИЕ.....	72
10. ИЗВОДИ.....	75
11. ПРИНОСИ	77
12.ПУБЛИКАЦИИ И НАУЧНИ СЪОБЩЕНИЯ, СВЪРЗАНИ С ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД.....	79

1. ВЪВЕДЕНИЕ

Захарният диабет (ЗД) е заболяване, което засяга все повече хора по света. Очаква се броят им да се увеличи до малко под 700 милиона до 2045 година.(1) При недиагностициране, липсващо лечение или лош контрол на заболяването, то довежда до появата на сериозни усложнения, включително диабетна ретинопатия (ДР).

ДР, освен най-честото усложнение на ЗД, е и една от водещите причини за слепота в световен мащаб. Поради нарастващият брой на диабетно болните и увеличаващата се очаквана продължителност на живота, пациентите, страдащи от ДР ще стават все повече.

ДР е многофакторно прогресивно заболяване, характеризиращо се с изключително сложна патогенеза, включваща различни фактори и разнообразни патофизиологични механизми.

ДР често се разглежда като чисто съдово увреждане на ретината. Наистина, променената от ЗД микросреда на ретината се явява отговорна за появата и прогресията на съдови лезии и клетъчна смърт. Продължителните високи нива на глюкоза увреждат ретиналните съдове, предизвиквайки метаболитни промени, които водят до дисрегулация на растежни фактори, невротрофични фактори, цитокини / хемокини, вазоактивни агенти и възпалителни и адхезионни молекули. Клинично, ДР се класифицира като непролиферативна, характеризираща се с микросъдови увреждания, включващи разрушаване на кръвно- ретинната бариера, удебеляване на базалната мембрана, левкоцитна адхезия, капилярна дегенерация, загуба на перипцити; или пролиферативна, където се наблюдава феномена неoангиогенеза- формиране на нови кръвоносни съдове. Ключовият фактор, участващ в патологичните съдови промени, от микроваскуларното увреждане до неoангиогенезата, е съдовият ендотелен растежен фактор (Vascular endothelial growth factor- VEGF).

В допълнение към и в контраст с разбирането за ДР като за чисто съдова патология, има теория за ролята на невродегенерацията на ретината в развитието на болестта. Всъщност, тъй като невроните са най-крехките клетъчни елементи в ретината, е възможно те да са първите засегнати, когато

съставът на микросредата е драстично променен от ЗД. За проверка на тази хипотеза през последните години активно се събират голямо количество данни, потвърждаващи, че в ранните стадии на ДР вече са налице невронални увреди.

Американската диабетна асоциация определя ДР като тъканно-специфично невро-съдово усложнение, включващо прогресивно нарушаване на взаимозависимостта между множеството типове клетки в ретината.(2)

След като и невроните и съдовете са засегнати при ДР, въпросът е каква връзка, ако има такава, съществува между невроналните и съдовите увреждания при ДР и кое събитие настъпва първо. Отговор на този въпрос търсим и ние в настоящата дисертация, с помощта на диагностични методи като оптична кохерентна томография (ОСТ) и оптична кохерентна томография- Ангиография (ОСТ-А).

ОСТ, която беше представена на научната общност през 1991 г., направи революция в клиничното изследване на предния и задния сегмент на окото.(3) ОСТ- А, която беше разработена наскоро, е техника, базирана на декорелация между повторени сигнали на две последователни сканирания на напречно сечение на ОСТ образа, на едно и също място, причинено от кръвния ток.(4)

В момента непрекъснато протичат изследвания за разбиране и разширяване на новата концепция за ДР като невроретинална болест и се търсят обещаващи нови диагностични и терапевтични възможности за това заплашващо зрението заболяване.

2. ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ

На кирилица:

АХ- Артериална хипертония

ВОН- Вътреочно налягане

ДМЕ- Диабетен макулен едем

ДР- Диабетна ретинопатия

ЗД- Захарен диабет

МА- Микроаневризми

МУ- Варна- Медицински университет- Варна

НПДР- Непролиферативна диабетна ретинопатия

ПДР- Пролиферативна диабетна ретинопатия

СБОБАЛ- Варна- Специализирана болница по очни болести за активно лечение- Варна

ФАГ- Флуоресцеинова ангиография

На латиница:

ААО- American Academy of Ophthalmology (Американска академия по офталмология)

ABCD Trial- Appropriate Blood Pressure Control in Diabetes Trial (Проучване за адекватен контрол на кръвното налягане при диабетно болни)

ACCORD study- Action to Control Cardiovascular Risk in Diabetes (Проучване за контрола на кардиоваскуларния риск при диабетно болни)

AGEs- Advanced glycation end products (Крайни продукти от процеса гликиране)

BCVA- Best corrected visual acuity (Най- добре коригирана зрителна острота)

CST- Central subfield thickness (Дебелина в централното подполе)

CURES- Chennai Urban Rural Epidemiology Study (Проучване на градската епидемиология в град Ченай)

DCCT- Diabetes Control and Complications Trial (Проучване за контрола на диабета и неговите усложнения)

DCP- Deep capillary plexus (Дълбок капилярен плексус)

ETDRS- Early Treatment Diabetic Retinopathy Study (Проучване за ранно лечение на диабетна ретинопатия)

FAZ- Foveal avascular zone (Фовеална аваскуларна зона)

GCL- Ganglion Cell Layer (Слой на ганглийните клетки)

GDRPG- Global Diabetic Retinopathy Project Group (Глобална проектна група за диабетна ретинопатия)

HbA1c- Glycated hemoglobin (Гликиран хемоглобин)

HDL- High density lipoproteins (Липопротеини с висока плътност)

ICO- International Council of ophthalmology (Международен Съвет по офталмология)

IDF- The International Diabetes Federation (Международна диабетна федерация)

ILM- Internal Limiting Membrane (Вътрешна гранична мембрана)

INL- Inner Nuclear Layer (Вътрешен ядрен слой)

IPL- Inner Plexiform Layer (Вътрешен плексиформен слой)

IRMA- Intraretinal microvascular anomalies (Инtrarетинално микроваскуларно заболяване)

KW test- Kruskal-Wallis test (Тест на Крускал-Уолис)

LALES- The Los Angeles Latino Eye Study (Латино очно проучване в Лос Анджелис)

LDL- Low density lipoproteins (Липопротеини с ниска плътност)

LSO- Line scanning laser ophthalmoscope (Линеен сканиращ офталмоскоп)

MESA- Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (Мултиетническо проучване за атеросклерозата)

MODY- Maturity-onset diabetes of the young (Младежки диабет с начало в зряла възраст)

NFL- Nerve Fiber Layer (Слой на нервните влакна)

OCT- Optical coherence tomography (Оптична кохерентна томография)

OCT-A- Optical coherence tomography- Angiography (Оптична кохерентна томография- Ангиография)

OLM- Outer Limiting Membrane (Външна гранична мембрана)

ONL- Outer Nuclear Layer (Външен ядрен слой)

OPL- Outer Plexiform Layer (Външен плексиформен слой)

PL- Photoreceptor Layer (Фоторецепторен слой)

RPE- Retinal Pigment Epithelium (Ретинален пигментен епител)

SCP- Superficial capillary plexus (Повърхностен капилярен плексус)

SD- Spectral-domain (Спектър домейн)

TD- Time-domain (Тайм домейн)

UKPDS - UK Prospective Diabetes Study (Проспективно проучване за диабет в Обединеното Кралство)

VEGF- Vascular endothelial growth factor (Съдов ендотелен растежен фактор)

WESDR- The Wisconsin Epidemiologic Study of Diabetic Retinopathy (Епидемиологично проучване за диабетната ретинопатия в Уисконсин)

3. РЕЗЮМЕ

Цел

Да се изследват ранните микроструктурни промени в макулата и перипапилерния неврофибрилерен слой при болни от захарен диабет, като се анализират и рисковите фактори за развитие на диабетна ретинопатия.

Материали и методи

Изследвани са 212 лица (92 мъже, 120 жени). Пациентите са разпределени в две групи: I контролна група- 75 здрави индивиди (148 очи) без наличие на ЗД; II група- 137 индивиди с наличие на захарен диабет (248 очи)- II A подгрупа: болни от ЗД, без ДР- 71 пациенти (140 очи) ; II B подгрупа: болни от ЗД, с лека НПДР - 66 пациенти (108 очи). След снемане на медицинска и фамилна анамнеза всички субекти преминаха щателен офталмологичен преглед, който включваше най-добра коригирана зрителна острота (BCVA), измерване на ВОН, биомикроскопия, изследване на очно дъно (стереоофталмоскопия с +90 D леща), оптична кохерентна томография и OCT-ангиография. Пациентите са изследвани с помощта на Zeiss Cirrus 5000 HD-OCT. Използвани са скениращи и анализни протоколи. Скениращите протоколи, използвани в изследването, са „Macular cube 512x128”, „Optic disc cube 200x200” и „Angiography 6x6 mm”. Анализните протоколи, използвани в изследването, са „Macula thickness analysis”, „Ganglion cell Analysis”, „ONH and RNFL analysis” и “Angiography Analysis”. Анализирани с OCT и OCT-A данни: дебелината на ретината от вътрешната гранична мембрана до ретиналния пигментен епител в макулата, дебелината на ретината в централното подполе на макулата, обема на макулния куб, средната дебелина на ретината в макулния куб; средната и минималната дебелина на слоя на ганглийните клетки и вътрешния плексиформен слой в макулата; средната дебелина на слоя нервни влакна около диска на зрителния нерв (горен, долен, темпорален, назален квадрант); фовеоларната аваскуларна зона, измерена в повърхностния съдов плексус на ретината (площ, периметър и кръгообразна форма); плътността на съдовете и перфузионната плътност в ETDRS полетата в повърхностният ретинален съдов плексус;

Резултати

Средната стойност на ретиналната дебелина от вътрешната гранична мембрана до ретиналния пигментен епител в макулата, както и обемът на макулният куб намаляват с напредване на възрастта, а фовеолата остава стабилна. Открива се статистически значима отрицателна връзка между минималните и средните стойности на слоя ганглийни клетки+ вътрешен плексиформен слой в макулата и възрастта при здрави индивиди, както и значително изтъняване на слоя нервни влакна перипапилерно във всички квадранти с напредване на възрастта при здрави хора.

Не съществува връзка между възрастта, размера на фовеоларната аваскуларна зона и нейната кръгообразна форма в здрави очи. Съдовата и перфузионната плътност в макулата значимо намаляват с напредване на възрастта.

Не съществува статистически значима разлика в средната дебелина на ретината от вътрешната гранична мембрана до ретиналния пигментен епител в макулата, както и на фовеоларната дебелина и обема на макулата, между здравите контроли, диабетиците без ДР и диабетиците с лека степен НПДР. Съществува статистически значимо изтъняване на слоя ганглийни клетки и вътрешният плексиформен слой при болните от ЗД с лека ДР спрямо здравите лица, както и при болните от ЗД с лека ДР спрямо болните от ЗД без ДР. Не се установява статистически значимо изтъняване на тези слоеве при пациенти със ЗД без ДР спрямо здрави лица. Не се наблюдава статистически значима разлика дебелината на перипапилерния слой нервни влакна между здравите лица и лицата със ЗД (без и с лека ДР).

Не се открива статистически значима разлика между здравите контроли, диабетиците без ДР и диабетиците с лека НПДР относно площта и периметъра на фовеоларната аваскуларна зона, но се наблюдава значимо по-добре изразена кръгообразна форма в здрави очи, в сравнение с очи с установена лека ДР. Установени са статистически значимо по-ниски стойности на съдовата и префузионна плътност в макулата в групата на болните от ЗД с ДР, в сравнение с контролната група, и в същото време не се наблюдава значима разлика в стойностите им между групата на здравите

лица и групата на болните от ЗД без ДР, нито между групата на болните с лека ДР и групата на диабетиците без ДР.

Установи се, че продължителността на ЗД, качеството на гликемичния контрол, инсулинозависимостта и хиперхолестеролемията са най-значимите рискови фактори за поява на ДР. От друга страна типа на ЗД, фамилната обремененост със ЗД, наличието на АХ и тютюнопушенето и тяхното изолирано и самостоятелно въздействие не биха могли да се приемат като причина за развитие на ДР. Няма значими корелации между микроструктурните характеристики на ретината, наблюдавани с ОСТ и ОСТ-А и най-значимите рискови фактори за поява на ДР.

Заключение

Резултатите от проведеното проучване дават основание да се отхвърли хипотезата, че невродегенеративните промени в ретината при ЗД настъпват преди микроваскуларните изменения и да се потвърди теорията, че двете събития са взаимосвързани и настъпват успоредно. С помощта на ОСТ-А се установи, че индексът на циркулярност на фовеоларната аваскуларна зона, следван от съдовата и перфузионна плътност в повърхностният капилярен плексус са най-надеждните показатели за ранни микроциркулаторни увреждания при диабетна ретинопатия. Потвърди се, че давността на захарния диабет и качеството на гликемичния контрол са най-значимите рискови фактори за поява на диабетна ретинопатия.

Навлизането на оптичната кохерентна томография и ОСТ-А в клиничната практика дава възможност за търсене и откриване на ранни микроструктурни изменения в ретината при пациенти болни от захарен диабет, които са важни с оглед ранното диагностициране на диабетната ретинопатия. Необходими са още проучвания свързани с невродегенеративните промени в ретината, настъпващи при болни с диабет и диабетна ретинопатия в различен стадий.

4. ABSTRACT

Aim:

To study the early microstructural changes in the macula and peripapillary neurofibrillary layer in patients with diabetes mellitus, analysing the risk factors for diabetic retinopathy onset.

Methodology:

212 persons (92 men, 120 women) were studied. Patients were divided into two groups: I control group - 75 healthy individuals (148 eyes) without diabetes; II group - 137 people with diabetes mellitus (248 eyes) - II A subgroup: patients with diabetes, without DR - 71 patients (140 eyes); II B subgroup: patients with diabetes mellitus, with mild NPDR - 66 patients (108 eyes). After taking a medical and family history all subjects underwent a thorough ophthalmological examination, which included the best corrected visual acuity (BCVA), IOP measurement, biomicroscopy, fundus examination (stereophthalmoscopy with +90 D lens), optical coherence tomography and OCT-angiography. Patients were examined using Zeiss Cirrus 5000 HD-OCT. Scanning and analysis protocols were used. The scanning protocols used in the study were "Macular cube 512x128", "Optic disc cube 200x200" and "Angiography 6x6 mm". The analysis protocols used in the study were "Macula thickness analysis", "Ganglion cell Analysis", "ONH and RNFL analysis" and "Angiography Analysis". Data analyzed with OCT and OCT-A: the thickness of the retina from the inner limiting membrane to the retinal pigment epithelium in the macula, the thickness of the retina in the central subfield of the macula, the volume of the macular cube, the average thickness of the retina in the macular cube; the average thickness of the layer of ganglion cells and the inner plexiform layer in the macula; the minimum thickness of the ganglion cell layer and the inner plexiform layer in the macula; average thickness of the nerve fibers layer around the optic disc (upper, lower, temporal, nasal quadrant); the foveolar avascular zone, measured in the superficial vascular plexus of the retina (area, perimeter and circularity index); vascular density and perfusion density in ETDRS fields in the superficial retinal vascular plexus;

Results:

The mean value of the retinal thickness from the inner limiting membrane to the retinal pigment epithelium in the macula, as well as the volume of the macular cube decreases with age, but the foveola remains stable. There was a statistically significant negative relationship between the minimum and mean values of the ganglion cells layer + inner plexiform layer in the macula and age in healthy individuals, as well as significant thinning of the nerve fiber layer peripapillary in all quadrants with age in healthy individuals.

There is no relationship between age, size of the foveolar avascular zone and its circular shape in healthy eyes. The vascular and perfusion densities in the macula decrease significantly with age.

There was no statistically significant difference in the mean retinal thickness from the inner limiting membrane to the retinal pigment epithelium in the macula, as well as the foveolar thickness and macular volume between healthy controls, diabetics without DR and diabetics with mild NPDR. There is a statistically significant thinning of the ganglion cell layer and the inner plexiform layer in patients with diabetes with mild DR compared to healthy individuals, as well as in patients with diabetes with mild DR compared with patients with diabetes without DR. No statistically significant thinning of these layers was found in patients with diabetes without DR compared to healthy subjects. There was no statistically significant difference in the thickness of the peripapillary layer of nerve fibers between healthy individuals and individuals with diabetes (without and with mild DR).

There was no statistically significant difference between healthy controls, diabetics without DR and diabetics with mild NPDR in terms of area and perimeter of the foveolar avascular zone, but a significantly better circular shape was observed in healthy eyes compared to eyes with established mild DR. There were statistically significantly lower values of vascular and perfusion density in the macula in the group of patients with diabetes mellitus with DR, compared with the control group, and at the same time there was no significant difference in their values between the group of healthy individuals and the group of patients with diabetes without DR,

nor between the group of patients with mild DR and the group of diabetics without DR.

It was found that the duration of diabetes, the quality of glycemic control, insulin dependence and hypercholesterolemia are the most significant risk factors for the occurrence of DR. On the other hand, the type of diabetes, the family history of diabetes, the presence of AH and smoking and their isolated and independent impact could not be considered as a reason for the development of DR. There are no significant correlations between the microstructural characteristics of the retina observed with OCT and OCT-A and the most significant risk factors for the occurrence of DR.

Conclusions:

The hypothesis of neurodegenerative changes in the retina in diabetes occurring before microvascular changes was rejected. The theory of the two events interconnecting and occurring in parallel has been confirmed.

The circular index of the foveolar avascular zone, followed by vascular and perfusion density in the superficial capillary plexus, has been shown to be the most reliable OCT-A indicators for early microcirculatory damage in diabetic retinopathy.

It has been confirmed that the age of diabetes and the quality of glycemic control are the most significant risk factors for the diabetic retinopathy development.

The entry of optical coherence tomography and OCT-A into clinical practice makes it possible to search and detect early microstructural changes in the retina in patients with diabetes mellitus. More studies are needed on the neurodegenerative changes in the retina that occur in patients with diabetes and different stages diabetic retinopathy.

5. ЦЕЛ И ЗАДАЧИ

5.1 Цел на настоящата дисертационна работа:

Да се изследват ранните микроструктурни промени в макулата и перипапилерния неврофибрилерен слой при болни от захарен диабет, като се анализират и рисковите фактори за развитие на диабетна ретинопатия.

5.2 Задачи

За постигане на дисертационната цел, си поставихме следните задачи:

1. Да се изследват количествените микроструктурни характеристики на макулата, с помощта на ОСТ, в здрави очи, както и в очите на пациенти със захарен диабет без и с лека степен на диабетна ретинопатия .
2. Да се сравнят количествените показатели, характеризиращи ретиналната дебелина и обем в макулата, дебелината на слоя на ганглийните клетки и вътрешния плексиформен слой, и дебелината на перипапиларния неврофибрилерен слой при пациенти със захарен диабет, без и с лека степен на диабетна ретинопатия и здрави очи.
3. Да се изследват характеристиките на фовеоларната аваскуларна зона и повърхностният капилярен плексус в макулата на здрави очи, както и в очите на болни от захарен диабет, без и с лека степен на диабетна ретинопатия с помощта на ОСТ- А.
4. Да се сравнят количествените показатели, характеризиращи фовеоларната аваскуларна зона, съдовата плътност и перфузионната плътност в макулата при пациенти със захарен диабет, без и с лека степен на диабетна ретинопатия и здрави очи.
5. Да се анализира влиянието на различни рискови фактори върху вероятността за развитие на диабетна ретинопатия.
6. Да се потърси връзка между най-важните рискови фактори за развитие на диабетна ретинопатия и микроструктурните характеристики на макулата и перипапилерния неврофибрилерен слой.

6.МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

Изследването е одобрено от Комисията по етика на научните изследвания при МУ-Варна, протокол № 77/27.09.2018г . Всички пациенти/ респ. техните законни представители/ са подписали информирано съгласие преди прегледа и изследванията, след предварително разясняване на целта и методите. Всички процедури са в съответствие с изискванията на добрата клинична практика и етичните стандарти на Световната медицинска асоциация (Декларацията от Хелзинки за правата на изследваните лица).

Методите, използвани за получаването и обработването на информацията, са клинични и статистически.

6.1 Обща характеристика на изследваните лица

Настоящото проучване е проведено в „СБОБАЛ- Варна” ЕООД, в периода октомври 2018- март 2020 година. Изследвани са 212 индивиди, от които мъжете са 92 (43,4%), а жените 120 (56,6%).

За целите на проучването, пациентите са разпределени в две основни групи:

I контролна група- 75 здрави индивиди (148 очи) без наличие на ЗД. В контролната група са включени 32 мъже и 43 жени, като разпределението по пол и възраст в тази група съответстват на лицата със ЗД.

II група- 137 индивиди с наличие на захарен диабет (248 очи), 60 мъже и 77 жени.

II А подгрупа: болни от ЗД, без ДР- 71 пациенти (140 очи)

II В подгрупа: болни от ЗД, с лека НПДР (според ICO класификацията) - 66 пациенти (108 очи)

6.2 Включващи и изключващи критерии

Включващи критерии за групата със ЗД:

1. Пациенти с наличие на I тип ЗД с давност по-голяма от 5 години (или от 2 години, ако ЗД е открит през пубертета),

2. Пациенти с II тип ЗД без значение на давността

3. Пациенти със ЗД и липса на ДР или наличие на лека степен НПДР (според ICO)

Изключващи критерии за групата със ЗД:

1. Наличие на умерена и тежка НПДР, ПДР или ДМЕ
2. Намалена прозрачност на очните среди, възпрепятстваща получаване на качествен образ на ОСТ
3. Установяване на повишено ВОН > 21 mmHg, наличие на глаукома
4. Наличие на възпалителни заболявания на орбитата, увеята или роговицата
5. Едем на макулата с друга етиология- при увеит, след стволова или клонова венозна оклузия
6. Наличие на други ретинални заболявания- наследствени дегенеративни заболявания на макулата, макулна дегенерация свързана с възрастта, отлепване на ретината, ретинопатия централис сероза, оклузия на ретинена вена или артерия, дупка в макулата и др.
7. Състоянието след извършена витректомия
8. Рефрактивни аномалии $> \pm 6.0$ диоптъра сфера и/или астигматизъм $> \pm 2.0$ диоптъра.

Включващи критерии за контролната група:

1. Здрави доброволци над 18 годишна възраст
2. Липса на системно или очно заболяване

Изключващи критерии за контролната група:

1. Рефрактивни сферични аномалии $> \pm 6.0$ диоптъра сфера и/или астигматизъм $> \pm 2.0$ диоптъра
2. Наличие на очна патология

6.3. Клинични методи

След снемане на медицинска и фамилна анамнеза всички субекти преминаха щателен офталмологичен преглед, който включваше най-добра коригирана зрителна острота (BCVA), измерване на ВОН, биомикроскопия, изследване

на очно дъно (стереоофталмоскопия с +90 D леща), оптична кохерентна томография и OCT-ангиография.

6.3.1 Анамнеза и попълване на анкетна карта

Анамнезата бе снета по данни на пациента и придружаващата документация.

Получената информация е попълнена в анкетна карта, специално разработена и идентична за лицата без и със захарен диабет.

6.3.2. Очен преглед

Зрителната острота се определи за всяко око поотделно с помощта на стандартен унифициран тест за зрителна острота. Измерването на ВОН на всички пациенти се осъществи с апланационен Perkins тонометър. С помощта на биомикроскоп се извърши оглед на преден очен сегмент.

При всеки пациент се извърши стереоофталмоскопия за оглед на очното дъно.

Пациенти, при които се наблюдаваха белези на лека степен на НПДР, според класификацията на ICO, а именно - микроаневризми, бяха разпределяни в подгрупа II В- болни от ЗД, с лека НПДР. Белези в очното дъно за умерена НПДР, тежка НПДР, или ПДР, бяха критерий за изключване от проучването.

6.3.3. Оптична кохерентна томография (ОСТ) и Оптична кохерентна томография – ангиография (ОСТ-А)

Пациентите бяха изследвани с помощта на Zeiss Cirrus 5000 HD-OCT. Този апарат осигури възможности за визуализация на очното дъно с най-висока разделителна способност, както и възможност за OCT-А сканиране, благодарение на системата AngioPlex™ OCT ангиография.

6.3.3.1 Характеристики на оптичен кохерентен томограф Zeiss Cirrus 5000 HD-OCT Carl Zeiss

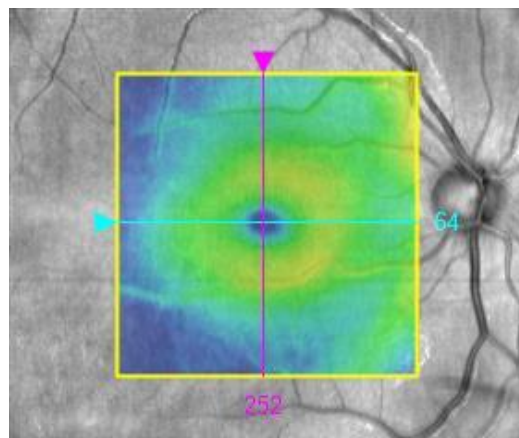
- OCT изображение
- Метод: Спектър домейн OCT
- Оптичен източник: Суперлуминесцентен диод (Superluminescent diode, SLD), 840 nm

- Скорост на сканиране: 27К- 68К А-сканове в секунда
- А-скан: 2.0 мм (в тъканите), 1024
- Аксиална резолюция: 5 μm (в тъканите)
- Трансверзална резолюция: 15 μm (в тъканите)

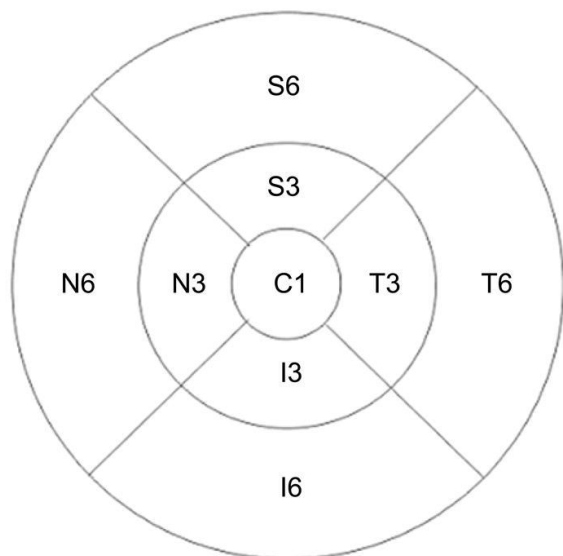
6.3.3.2 Описание на скениращите протоколи на Zeiss Cirrus 5000 HD-ОСТ, използвани в проучването.

Скениращите протоколи, използвани в изследването, бяха „Macular cube 512x128” , „Optic disc cube 200x200” и „Angiography 6x6 mm”.

Скениращият протокол “Macular cube 512x128” (фигура 1) скенира серия от 128 хоризонтални В-скена, всеки съставен от 512 А-скена. В допълнение протокола скенира и един централен хоризонтален В-скен с HD (high definition) качество. Чрез този скениращ протокол се добива информация за обема на триизмерен куб с размери 6mm/6mm/6mm и за дебелината на ретината в 9-те картографски сектора, определени от проучването за ранно лечение на диабетна ретинопатия (ETDRS) (фигура 2). Протокола „Macular cube 512x128” предоставя възможност за 3D и ен-фас визуализация за изследваните структури.

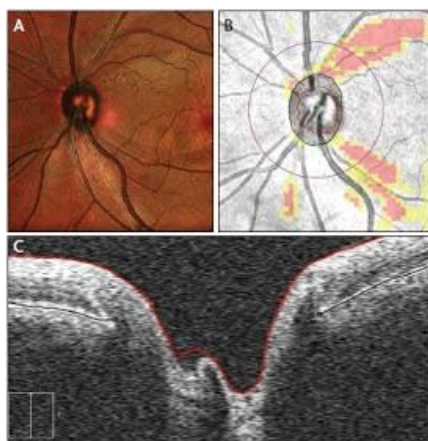


Фигура 1. Скениращият протокол “Macular cube 512x128”



Фигура 2. Секторите на макулната карта, определени от ETDRS. Четирите квадранта на външния пръстен (outer ring) с диаметър 6 mm около фовеята са обозначени като S6, T6, I6 и N6, за да представляват съответно горната, темпоралната, долната и назалната области. Вътрешният пръстен с диаметър 3 mm е обозначен аналогично (inner ring). C1 представлява най-вътрешният пръстен (central ring) с диаметър 1 mm около фовеята.(5)

Протоколът „Optic disc cube 200x200” предоставя уникален изглед на папилата на зрителния нерв (ONH) за анализ. Той улавя куб с размери 6 mm x 6 mm и автоматично идентифицира границите на диска на зрителния нерв. Скениращият протокол генерира данни от 200 В-скенирания с 200 А-скенирания на всеки В-скен (фигура 3).



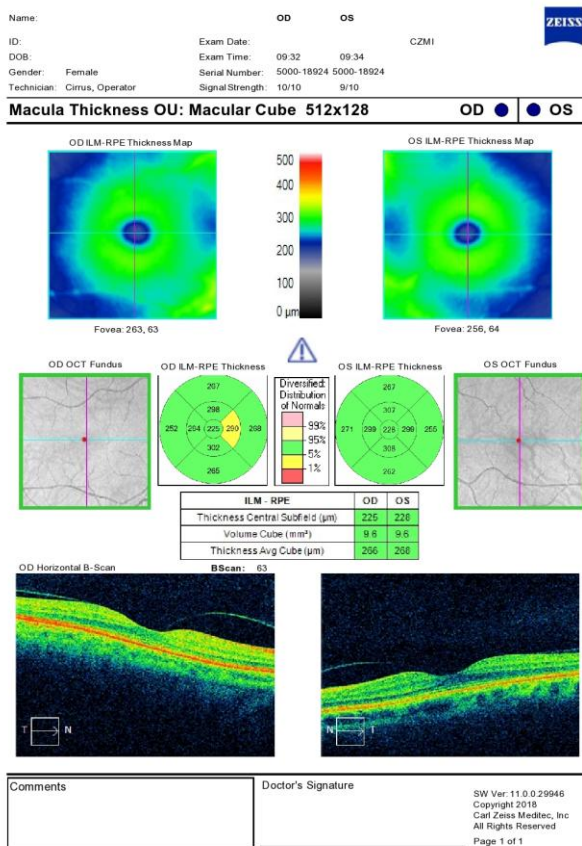
Фигура 3. Протокол „Optic disc cube 200x200”

Скенирацията протокол "Angiography 6x6 mm" използва специални алгоритми за отчитане на декорелационни сигнали (контраст, свързан с движението на кръвта в кръвоносните съдове). Скенира се зона 6 mm/6mm/6mm, като за да се изобрази кръвен ток, се използват разликите в отделните характеристики между няколко последователни В-скена на една и съща позиция. Отчита се времевата разлика в контрастта между всяка динамична (с променлив контраст) и статична (с постоянен контраст) структура. Технологията FastTrac коригира движенията на очите между отделните скенове.

6.3.3.3 Описание на анализните протоколи на Zeiss Cirrus 5000 HD-OCT, използвани в проучването

Анализните протоколи, използвани в изследването, бяха „Macula thickness analysis”, „Ganglion cell Analysis”, „ONH and RNFL analysis” и “Angiography Analysis”

Въз основа на куб за скениране в обем 6 мм x 6 мм, заснет с разделителна способност 512x128 пиксела, протоколът "Macula thickness analysis" (фигура 4) осигури качествена и количествена оценка на ретината. На протокола беше визуализирано изображение от линейния сканиращ офталмоскоп (LSO) с наслагване на карта на дебелина на ретината от вътрешната гранична мембрана до ретиналния пигментен епител (ILM-RPE). ETDRS решетка (9 области, дефинирани в проучването за ранно лечение на диабетна ретинопатия) бе автоматично центрирана върху фовеята с Fovea Finder™. Показани бяха стойностите на дебелината на ретината, от ILM до RPE, в микрометри.

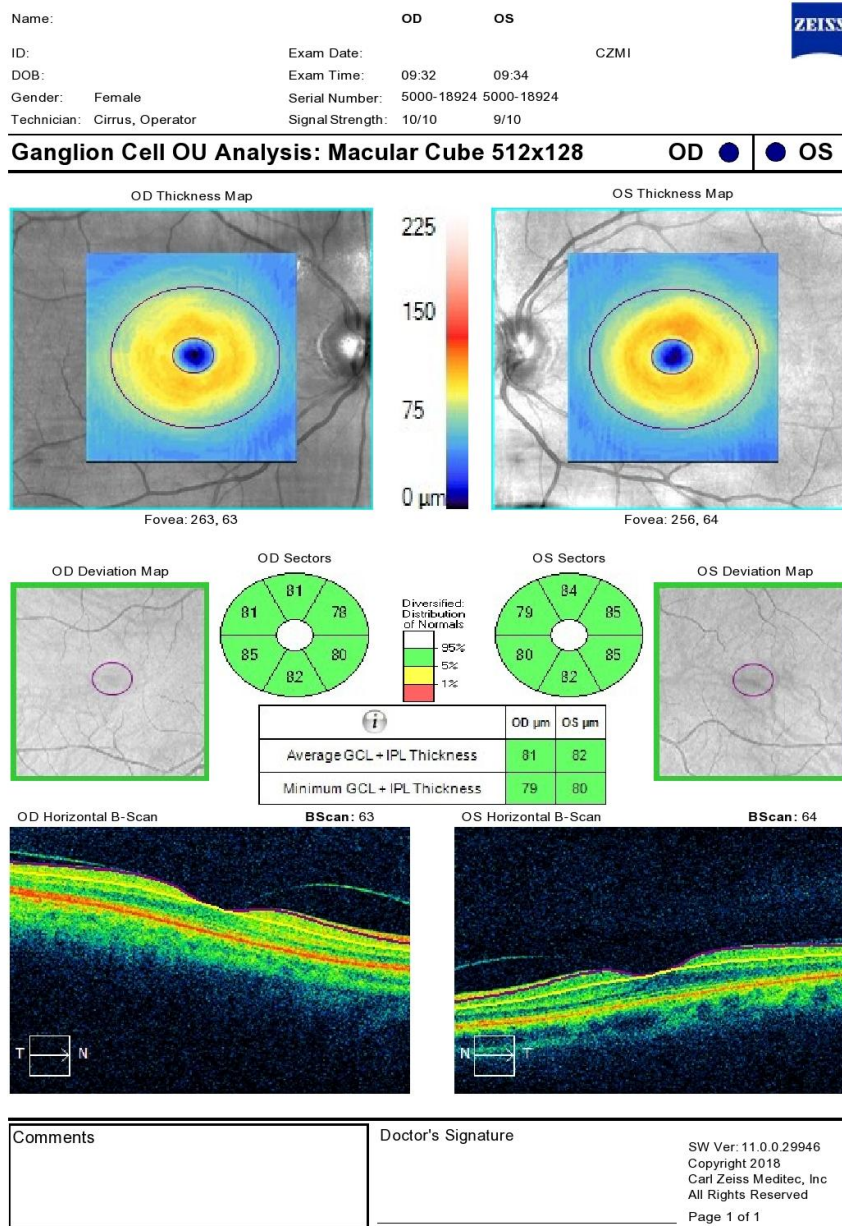


Фигура 4. Анализен протокол “Macular thickness analysis” за две очи

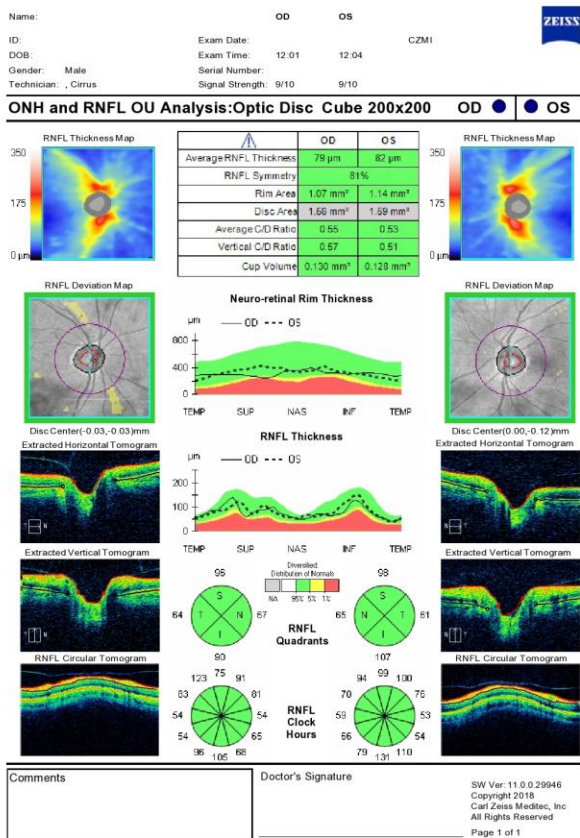
Дебелината на слоя ганглийни клетки и вътрешният плексиформен слой (GCL+ IPL) се измери с помощта на протокол „Ganglion cell Analysis” (фигура 5) с куб на сканиране в обем 6,0 x 6,0 мм, разделителна способност на сканиране 512x128 пиксела. Картите за GCL+ IPL дебелини бяха наложени върху изображение на очното дъно. Показан бе и елипсовидният измервателен пръстен, съсредоточен около фовеята. Таблицата за дебелините показва средна и минимална дебелина в рамките на елипсовидният пръстен.

Протоколът „RNFL and ONH Analysis” (фигура 6) се основава на куб за скениране в обем 6 мм x 6 мм, уловен от 200x200 пиксела скен на оптичния диск. Протоколът осъществява оценка на RNFL и ONH за двете очи. Карта на дебелината перипапилерния слой нервни влакна представлява топографско изображение на RNFL- формата на пясъчен часовник, образувана от жълти и червени цветове и е характерна за нормалните очи. Основните параметри на

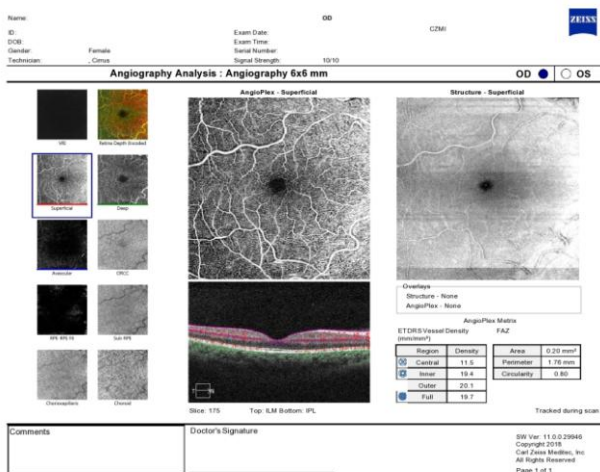
RNFL и ONH в сравнение с нормативните данни се показват във формата на таблици и диаграми.



Фигура 5. Протокол „Ganglion cell analysis” за две очи



Фигура 6. Протокол „RNFL and ONH Analysis” за две очи



Фигура 7. Анализен протокол “Angiography Analysis”

Анализният протокол “Angiography Analysis” (фигура 7) бе използван за анализ на скенираният протокол “Angiography 6x6 mm”. Този протокол изобразява предварително зададени 9 ангиографски среза в ен-фас равнина (9 С-скена).

6.3.8. Подложени на анализ ОСТ и ОСТ-А данни

Данните от ОСТ и ОСТ-А, анализирани в това проучване са общи за двете групи изследвани пациенти- I контролна група (зdravi лица без наличие на ЗД), II група- лица с наличие на ЗД (II А подгрупа: болни от ЗД, без ДР и II В подгрупа: болни от ЗД, с лека НПДР):

- ILM-RPE Thickness- дебелината на ретината от вътрешната гранична мембрана до ретиналния пигментен епител (ILM- RPE) в макулата
- Thickness central subfield (μm)- дебелина на ретината в централното подполе на макулата
- Volume cube (mm^3)- обем на макулния куб
- Thickness Avg Cube(μm)- средна дебелина в макулния куб
- Average GCL+IPL Thickness- средната дебелина на слоя на ганглийните клетки и вътрешния плексиформен слой (GCL+IPL) в макулата
- Minimum GCL+IPL Thickness- минимална дебелина на слоя на ганглийните клетки и вътрешния плексиформен слой (GCL+IPL) в макулата
- Average RNFL Thickness Optic disc- средна дебелина на слоя нервни влакна около диска на зрителния нерв
- ✓ Superior- горен квадрант
- ✓ Inferior- долен квадрант
- ✓ Nasal- назален квадрант
- ✓ Temporal – темпорален квадрант
- FAZ - AngioPlex Superficial- Фовеоларна аваскуларна зона, измерена в повърхностния съдов плексус на ретината
- ✓ Area- площ на FAZ
- ✓ Perimeter- периметър на FAZ
- ✓ Circularity- кръгообразна форма на FAZ

- ETDRS Vessel Density- плътността на съдовете във ETDRS полетата в повърхностният ретинален съдов плексус
 - ✓ Central- централно поле
 - ✓ Inner – вътрешно поле
 - ✓ Outer- външно поле
 - ✓ Full- в цялата площ
- ETDRS Perfusion density- перфузионната плътност е променлива, изобразяваща общата площ на перфузирана васкулатура на единица площ в област на интерес.
 - ✓ Central- централно поле
 - ✓ Inner – вътрешно поле
 - ✓ Outer- външно поле
 - ✓ Full- в цялата площ

6.4. Статистически методи

За обработка на емпиричните данни от проведените изследвания в дисертацията са приложени последователно подходящи статистически методи. Изпълнението на всички статистически методи в дисертацията е проведено с помощта на статистически софтуерен пакет SPSS 20.0.0., MedCalc 11.6. и Statistica 5.0.

6.4.1. Анализ на емпирични разпределения

Чрез анализа на емпиричните разпределения се достига до оценки на основните характеристики на разпределенията на изследваните лица по основни демографски показатели като средна, модална и медианна възраст, вариация във възрастта на лицата със захарен диабет и контролната група. Същият анализ е използван и по отношение на всички серумни изследвания, както и тези свързани с оценка на количествено измерими показатели.

6.4.2 Тест на Колмогоров- Смирнов

Тестът на Колмогоров- Смирнов се използва за да се определи разпределението на извадките и да се провери дали то съответства на нормалното равномерно разпределение.

6.4.3 Корелационен анализ

Корелационният анализ се използва за изследване на зависимости между количествени променливи. При наличие на праволинейна зависимост използваният индекс е коефициентът на корелация на Пийърсън – единичен, резюмиран индекс на степента, в която две променливи са линейно свързани или зависими една от друга.

6.4.4 Методи за статистическа проверка на хипотези

В дисертацията са използвани и методите за статистическа проверка на хипотези. Всички статистически проверки на хипотези (СПХ) са осъществявани при равнище на значимост $\alpha \leq 0,05$. В проучването са използвани параметрични и непараметрични методи за СПХ, съобразно обема на съвкупностите, вида на показателите, както и вида на вероятностното разпределение на изследваните единици по значенията (или определенията) на изследваните показатели.

6.4.5 Logit- модели

За оценка на факторни влияния за развитие на някои усложнения, свързани със захарния диабет, както и отражението им върху развитието на ДР са използвани възможностите на вероятностните модели с ограничена зависима променлива, по специално използвани са възможностите на Logit-моделите.

Logit-моделите представляват специфични регресионни модели, при които резултативното явление е представено на дихотомна скала.

Конкретно в дисертацията резултативното явление в логистичните модели отразява вероятността лице да развие диабетна ретинопатия, или други усложнения в зависимост от различни демографски и здравословни факторни влияния.

Забележка: Статистическият анализ на получените резултати е извършен от гл. ас. д-р Мариана Кънева, Катедра „Статистика и приложна математика“, Икономически университет – Варна

7.РЕЗУЛТАТИ

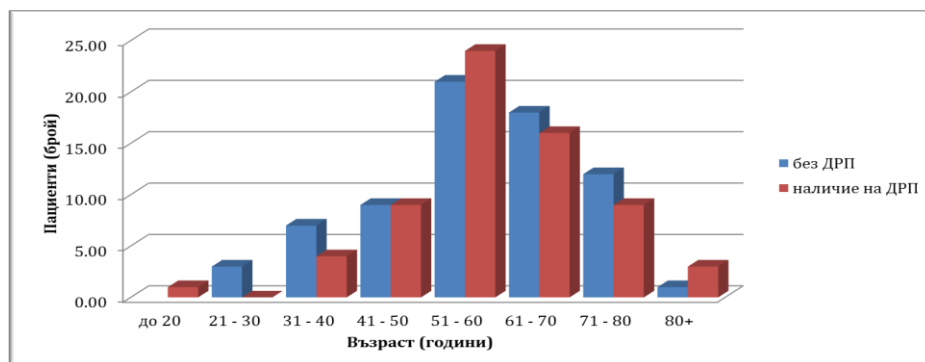
7.1 Демографски резултати

Разпределението на изследваните 212 лица по основни демографски характеристики и здравен статус е поместено в таблица 1.

Таблица 1. Разпределение на пациенти по възраст, пол и здравен статус

Възраст (години)	Пациенти		Общо	Наличие на ЗД			Здрави (без ЗД)		
	от тях			от тях		Общо	от тях		Общо
	Мъже	Жени		Мъже	Жени		Мъже	Жени	
до 20	1		1	1		1			
21 - 30	5	9	14	1	2	3	4	7	11
31 - 40	10	6	16	5	6	11	5		5
41 - 50	8	25	33	6	12	18	2	13	15
51 - 60	28	33	61	21	24	45	7	9	16
61 - 70	28	23	51	19	15	34	9	8	17
71 - 80	8	22	30	4	17	21	4	5	9
80+	4	2	6	3	1	4	1	1	2
Общо	92	120	212	60	77	137	32	43	75

Средната възраст на пациентите с наличие на ЗД (II група) е 58 години с отклонение ± 16 години (16,46 г.). Медианната възраст е 59 години, а най-често срещана възраст при диабетиците в извадката е 60 години. Разпределението на диабетиците по възраст (от извадката) се характеризира с умерена отрицателна асиметрия, т.е. в съвкупността от пациенти с наличие на ЗД преобладават тези, които са на по-висока възраст от средната (58 г.) (фигура 8).



Фиг.8 Разпределение на пациенти с наличие на ЗД, по възраст

7.2 Ретинални микроструктурни характеристики, установени с ОСТ в двете изследвани групи

7.2.1 Ретинални микроструктурни характеристики, установени с ОСТ в група I – здрави очи.

Получените резултати са представени на таблица 2.

Таблица 2. Ретинални дебелини в макулата в група I – здрави очи.

ПОКАЗАТЕЛИ	avgGCL+IPL Thickness	minGCL+IPL Thickness	avgILM-RPE thickness centr. subfield	ILM-RPE VolCube	ILM-RPE Thickness Avg Cube
мярка	µm	µm	µm	mm ³	µm
Mean (Средна аритметична)	81.0733	78.1800	260.2133	10.1393	281.6067
Median (Медиана)	82.0000	79.5000	261.0000	10.1500	282.0000
Mode (Мода)	83.0000	79.5000	230.0000	10.1500	283.0000
Standard Deviation (Ст. Отклонение)	7.1748	8.2861	20.4185	0.4438	12.3393

В група I също така бяха изследвани ОСТ параметри на папилата на зрителния нерв, а именно - средната дебелина на слоя нервни влакна на диска на зрителния нерв, както и дебелината на този слой в горен, долен, темпорален и назален квадрант. Получените резултати са представени в таблица 3.

Таблица 3. Ретинни дебелини около папилата на зрителния нерв в група I – здрави очи

ПОКАЗАТЕЛИ	AvgRNFL Disc	AvgRNFL Superior	AvgRNFL Inferior	AvgRNFL Nasal	AvgRNFL Temporal
мярка	µm	µm	µm	µm	µm
Mean (Средна аритметична)	93.9718	117.3082	121.0479	71.9863	65.5411
Median (Медиана)	94.0000	116.5000	122.0000	71.0000	65.0000
Mode (Мода)	94.0000	120.0000	112.0000	73.5000	67.5000
Standard Deviation (Ст. Отклонение)	9.7056	15.7501	15.4606	11.4579	10.0360

Дебелината на слоя на ганглийните клетки в макулата, средната ретинална дебелина в макулата, обема на макулния куб, както и средната дебелина на слоя нервни влакна около диска на зрителния нерв и тази на горният и долният папиларен квадрант намаляват с напредване на възрастта. При дебелината на ретината в централното макулно подполе се установи положителна зависимост с възрастта, която обаче не е статистически значима (таблица 4).

Таблица 4. Корелация на възрастта с измерените ОСТ параметри в група I. (представени са статистическата значимост-p; Коефициент на корелация-Pearson correlation)

Параметър	Коефициент на корелация	Равнище на значимост (p-level)
avgGCL+IPL Thickness	-0.426	0.000*
minGCL+IPL Thickness	-0.372	0.001*
avgILM-RPE thickness centr. subfield	0.156	0.181
ILM-RPE VolCube	-0.375	0.001*
ILM-RPE Thickness Avg Cube	-0.376	0.001*
AvgRNFL Disc	-0.395	0.001*
AvgRNFL Superior	-0.459	0.000*
AvgRNFL Inferior	-0.329	0.005*
AvgRNFL Nasal	-0.213	0.071
AvgRNFL Temporal	-0.078	0.512

7.2.2 Ретинални микроструктурни характеристики, установени с ОСТ в подгрупа II А – пациенти, болни от ЗД, без ДР.

Групата на пациенти диабетици без настъпило усложнение ДР включва 71 болни (140 очи). След ОСТ изследване, получихме представените в таблица 5 стойности на наблюдаваните микроструктурни параметри.

Таблица 5. Ретинални дебелини в макулата в подгрупа II А- пациенти, болни от ЗД без ДР

ПОКАЗАТЕЛИ	avgGCL+IPL Thickness	minGCL+IPL Thickness	avgILM-RPE thickness centr. subfield	ILM-RPE VolCube	ILM-RPE Thickness Avg Cube
мярка	µm	µm	µm	mm ³	µm
Mean (Средна аритметична)	80.6338	77.7324	255.5493	10.0014	278.1761
Median (Медиана)	81.0000	78.0000	255.5000	9.9500	276.5000
Mode (Мода)	89.0000	86.0000	275.5000	9.7000	269.0000
Standard Deviation (Ст. Отклонение)	7.5913	8.5435	22.4027	0.5452	14.6082

Изследваната с ОСТ средна дебелина на слоя нервни влакна на диска на зрителния нерв в групата на лица, болни от ЗД, но без установена ДР, беше 91.4993 µm. Както и при групата здрави лица, най-голяма дебелина на RNFL се установи в долен квадрант- 118.7486 µm, следван от горен и назален квадрант, съответно- 112.5000 µm и 71.6338 µm. Най- тънък беше слой на нервните влакна в темпоралния квадрант на папилата на зрителния нерв- 63.4648 µm.

7.2.3 Ретинални микроструктурни характеристики, установени с ОСТ в подгрупа II В – пациенти, болни от ЗД, с ДР.

В подгрупа II В – пациенти, болни от ЗД с ДР, попаднаха 66 болни (108 очи). При изследването на микроструктурно ниво с ОСТ, получихме представените в таблица 6 резултати за тази група.

Таблица 6. Ретинални дебелини в макулата в подгрупа II В- пациенти, болни от ЗД с ДР

ПОКАЗАТЕЛИ	avgGCL+IPL Thickness	minGCL+IPL Thickness	avgILM-RPE thickness centr. subfield	ILM-RPE VolCube	ILM-RPE Thickness Avg Cube
мярка	µm	µm	µm	mm ³	µm
Mean (Средна аритметична)	75.4923	69.4769	260.1000	10.1308	281.3846
Median (Медиана)	78.0000	73.5000	258.0000	9.9000	276.0000
Mode (Мода)	78.0000	90.0000	256.0000	9.6500	273.0000
Standard Deviation (Ст. Отклонение)	13.1670	15.6271	30.1801	0.6971	19.4436

Средната дебелина на RNFL на папилата на зрителния нерв бе измерена 92.7143 µm. И в тази група се спази тенденцията долният квадрант на диска да е с най- голяма дебелина на слоя нервни влакна- 117.4773 µm, а темпоралният да е с най- тънък слой нервни влакна- 66.3864 µm. В горният и назалният квадрант дебелината на RNFL се измери съответно- 113.0758 µm и 72.1742 µm.

7.2.4 Сравнение между трите групи на база OCT измерените параметри

7.2.4.1 Показател ILM-RPE Thickness Avg Cube

Установи се, че разпределението на лицата от трите изследвани групи според показателя ILM-RPE Thickness Avg Cube може да се приеме за нормално.

В група I – здрави очи средната дебелина в макулния куб измерихме 281,61µm и стандартно отклонение ±12,34µm.

В подгрупа II А – пациенти, болни от ЗД, без ДР средната стойност на дебелината на ретината в макулния куб беше 278,18µm при стандартно отклонение ±14,61µm.

В подгрупа II В - пациенти със ЗД с наличие на ДР средната дебелина в макулния куб се измери 281,385µm и стандартно отклонение от ±19,444µm.

Ние не установяваме статистически значима разлика в дебелината на ретината от вътрешната гранична мембрана до ретиналния пигментен епител средно в макулния куб в трите изследвани групи пациенти.

7.2.4.2 Показател avgILM-RPE thickness centr. subfield

Разпределението на лицата от трите изследвани групи според показателя avgILM-RPE thickness centr. subfield не се различава значително от нормалното разпределение.

В група I – здрави очи средната стойност на дебелината на ретината в централното подполе на макулата от вътрешната гранична мембрана до ретиналния пигментен епител беше измерена 260,21 μ m и стандартно отклонение \pm 20,42 μ m

В подгрупа II A – пациенти, болни от ЗД, без ДР установихме средна стойност на ретината в централното подполе на макулата от 255,55 μ m при стандартно отклонение \pm 22,40 μ m.

В подгрупа II B - пациенти със ЗД с наличие на ДР се измери средна стойност на изследвания показател 260,1 μ m при стандартно отклонение \pm 30,18 μ m.

За изследвания показател не се открива статистически значима разлика в средните му стойности между трите изследвани групи пациенти.

7.2.4.3 Показател ILM-RPE VolCube

Разпределението на пациентите от трите изследвани групи спрямо показател ILM-RPE VolCube се приема за нормално.

В група I – здрави очи средният обем на макулния куб измерихме 10,14мм³, със стандартно отклонение \pm 0,44мм³.

В подгрупа II A – пациенти, болни от ЗД, без ДР установихме среден обем на макулния куб от 10мм³ и стандартно отклонение \pm 0,55мм³.

В подгрупа II B - пациенти със ЗД с наличие на ДР се измери средна стойност на обема на макулния куб от 10,131мм³ и стандартно отклонение \pm 0,697мм³.

При направената статистическа обработка на данните не се установи статистически значима разлика в средните стойности на обема на макулния куб в трите изследвани групи пациенти.

7.2.4.4 Показател average GCL+IPL Thickness

Установи се, че разпределението на лицата от трите изследвани групи според показателя avgGCL+IPL Thickness може да се приеме за нормално.

В група I – здрави очи се установи средна стойност на дебелината на слоя 81,07 μm , и стандартно отклонение $\pm 7,17\mu\text{m}$.

В подгрупа II A – пациенти, болни от ЗД, без ДР се установи средна стойност на дебелината на слоя - 80.63 μm и стандартно отклонение $\pm 7.59\mu\text{m}$.

При групата на пациенти със ЗД с наличие на ДР (подгрупа II B) намерихме средна стойност на дебелината на слоя 75,492 μm при стандартно отклонение $\pm 13,167\mu\text{m}$.

Разликата в средните стойности на показателя в различните групи е видна. Резултатите от теста на Крускал-Уолис (KW-test) показват, че средните дебелини на слоя ганглийни клетки, заедно с вътрешния плексиформен слой в отделните групи съществено се различават. Изследвана е разликата в дебелините на слоя между отделните групи на принципа всяка с всяка. Статистически значима разлика в показател avgGCL+IPL дебелина установихме между група I и група II B, както и между група II A и група II B. Не намерихме статистическа значимост между средните стойности на слоя в група I и група II A ($p=0.009$).

7.2.4.5 Показател minGCL+IPL Thickness

Разпределението на лицата от трите изследвани групи според показателя minGCL+IPL Thickness се приема за нормално.

В група I – здрави очи се установи средна стойност на минималната дебелината на слоя ганглийни клетки и вътрешния плексиформен слой в макулата от 78,18 μm , и стандартно отклонение $\pm 8,29\mu\text{m}$.

В подгрупа II A – пациенти, болни от ЗД, без ДР се установи средна стойност на минималната дебелина на слоевете – 77,73 μm и стандартно отклонение $\pm 8,54\mu\text{m}$.

При групата на пациенти със ЗД с наличие на ДР (подгрупа II B) се установи средна стойност на изследвания показател 69,477 μm при стандартно отклонение $\pm 15,627\mu\text{m}$.

За минималната дебелина на слоя ганглийни клетки и вътрешния плексиформен слой установихме, че тя е статистически значимо по-ниска в група II B спрямо група I и група II A ($p=0.0006$).

Не се открива статистически значима разлика в минималната дебелина на слоевете между група I и група II A.

7.2.4.6 OCT параметри на папилата на зрителния нерв

Разпределението на пациентите по отношение на параметри Average RNFL Thickness Optic disc, Superior/Inferior/Nasal/Temporal RNFL Thickness Optic disc в трите изследвани групи може да бъде счетено за нормално.

Сравнение на средните стойности и стандартното отклонение в трите групи на посочените параметри са представени в таблица 7.

Таблица 7. Сравнение на средни стойности и стандартно отклонение на дебелината на перипапилерния RNFL слой в трите изследвани групи.

Група	AvgRNFL Disc	AvgRNFL Superior	AvgRNFL Inferior	AvgRNFL Nasal	AvgRNFL Temporal
I група- здрави	93,97 μm $\pm 9,71\mu\text{m}$	117,31 $\pm 15,75\mu\text{m}$	121,05 μm $\pm 15,46\mu\text{m}$	71,99 μm $\pm 11,46\mu\text{m}$	65,54 μm $\pm 10,04\mu\text{m}$
II A група- болни от ЗД без ДР	91,50 μm \pm 11,39 μm	112,50 μm \pm 15,81 μm	118,75 μm \pm 17,82 μm	71,63 μm \pm 9,60 μm	63,46 μm \pm 9,64 μm
II B група- болни от ЗД с ДР	92,714 μm \pm 11,744 μm	113,076 μm \pm 17,369 μm	117,477 μm \pm 19,583 μm	72,174 μm \pm 11,918 μm	66,386 μm \pm 11,047 μm

При направеното сравнение на всички параметри на папилата на зрителния нерв в трите групи изследвани пациенти на принципа всяка с всяка не бяха

открити статистически значими разлики между стойностите в отделните групи.

7.3 Макулни микроструктурни характеристики, установени с OCT-A в двете изследвани групи

7.3.1 Макулни микроструктурни характеристики, установени с OCT-A в група I – здрави очи.

Получените резултати за стойностите на изследваните OCT-A параметри в групата на здравите лица са представени в таблица 8.

Таблица 8. Макулни микроструктурни характеристики, наблюдавани с OCT-A в група I – здрави очи.

Параметър	Mean (Средна аритметична)	Median (Медиана)	Mode (Мода)	Standard Deviation (Ст. Отклонение)
FAZ area, мм ²	0.2431	0.2500	0.2500	0.0869
FAZ perimeter, мм	2.0341	2.0425	2.1200	0.4267
FAZ Circularity	0.8119	0.7350	0.7350	0.7971
Vessel Density central, мм ⁻¹	9.325	9.2000	8.0000	2.7171
Vessel Density Inner, мм ⁻¹	17.0345	17.8750	18.8500	2.2270
Vessel Density Outer, мм ⁻¹	17.4534	17.9500	17.8500	1.6529
Vessel Density Full, мм ⁻¹	17.1899	17.7750	18.2500	1.6458
Perfusion Density Central, %	20.9939	21.2000	13.6000	6.4416
Perfusion Density Inner, %	40.7608	42.8500	44.2500	5.6951
Perfusion Density Outer, %	43.3932	44.4750	44.5500	4.0687
Perfusion Density Full, %	42.2439	43.7000	43.8000	4.2520

Съдовата плътност в централното, вътрешното и външното ETDRS поле, както и в цялата площ на макулата, намалява с нарастването на възрастта. Също така процента перфузионна плътност във цялата площ на макулата, както и в централната и външната ETDRS зона на здрави очи значимо намалява с напредване на възрастта. (таблица 9)

Таблица 9. Корелация на възрастта с измерените OCT-A параметри в група I.
(представени са статистическата значимост-р; Коефициент на корелация-
Pearson correlation)

Параметър	Коефициент на корелация	Равнище на значимост (p-value)
FAZ area	-0,074	0,529
FAZ perimeter	-0,039	0,743
FAZ Circularity	0,121	0,306
Vessel Density central	-0,231	0,047*
Vessel Density Inner	-0,259	0,026*
Vessel Density Outer	-0,332	0,004*
Vessel Density Full	-0,303	0,009*
Perfusion Density Central	-0,239	0,040*
Perfusion Density Inner	-0,225	0,054
Perfusion Density Outer	-0,284	0,014*
Perfusion Density Full	-0,277	0,017*

7.3.2 Макулни микроструктурни характеристики, наблюдавани с OCT-A в подгрупа II A – пациенти, болни от ЗД без ДР.

При проведеното изследване с OCT-A в групата на пациентите, болни от ЗД, без да имат усложнение ДР, се установиха следните резултати, представени в таблица 10.

Таблица 10. Макулни микроструктурни характеристики, наблюдавани с OCT-A в подгрупа II A – пациенти, болни от ЗД без ДР

Параметър	Mean (Средна аритметична)	Median (Медиана)	Mode (Мода)	Standard Deviation (Ст. Отклонение)
FAZ area, мм ²	0,2213	0,2150	0,2150	0,0916
FAZ perimeter, мм	1,9564	1,9650	1,7150	0,4626
FAZ Circularity	0,7006	0,7100	0,7100	0,0728
Vessel Density central, мм ⁻¹	8,8986	9,4500	10,3500	3,3905
Vessel Density Inner, мм ⁻¹	16,3845	17,3000	18,6000	2,7757
Vessel Density Outer, мм ⁻¹	16,8810	17,2500	17,7000	2,0879
Vessel Density Full, мм ⁻¹	16,4901	17,1500	16,5500	2,2468
Perfusion Density Central, %	20,1472	21,5000	21,9000	7,9638
Perfusion Density Inner, %	39,7007	42,0500	44,4000	6,9407
Perfusion Density Outer, %	41,9514	43,1000	42,4500	5,4868
Perfusion Density Full, %	40,8366	42,3000	37,2000	5,6840

7.3.3 Макулни микроструктурни характеристики, наблюдавани с ОСТ-А в подгрупа II В – пациенти, болни от ЗД с ДР.

Наблюдаваните от нас микроструктурни характеристики в ретината на пациенти със ЗД с лека НПДР са представени в таблица 11.

Таблица 11. Макулни микроструктурни характеристики, наблюдавани с ОСТ-А в подгрупа II В – пациенти, болни от ЗД с ДР

Параметър	Mean (Средна аритметична)	Median (Медиана)	Mode (Мода)	Standard Deviation (Ст. Отклонение)
FAZ area, мм ²	0,2269	0,2200	0,2000	0,0962
FAZ perimeter, мм	2,0309	2,0600	1,5900	0,4509
FAZ Circularity	0,7956	0,6650	0,7900	1,0599
Vessel Density central, мм ⁻¹	8,5278	8,5500	8,7000	3,1273
Vessel Density Inner, мм ⁻¹	16,1341	16,6500	17,2000	2,0318
Vessel Density Outer, мм ⁻¹	16,2484	16,4000	18,2000	1,9243
Vessel Density Full, мм ⁻¹	16,0032	16,2000	17,2000	1,9172
Perfusion Density Central, %	19,1929	19,0500	17,2000	7,9214
Perfusion Density Inner, %	39,2698	40,0000	43,3000	5,2905
Perfusion Density Outer, %	40,6214	40,9500	40,9500	4,9962
Perfusion Density Full, %	39,7246	40,5000	43,7000	4,9539

7.3.4 Сравнение между трите групи на база ОСТ-А измерените параметри

7.3.4.1 Показатели FAZ area, FAZ perimeter, FAZ Circularity

Статистическите методи показаха значима разлика единствено за FAZ circularity между групата на здравите контролни лица и групата на диабетиците, страдащи от ДР (p=0.029). В група I FAZ Circularity има стойност от 0.8119, докато в група II В тази стойност е 0,7956. Това говори за значимо по-добре изразена кръгообразна форма на фовеоларната безсъдова зона на здрави очи, в сравнение с очи, страдащи от ДР.

7.3.4.2 Показатели ETDRS Vessel Density-Central, Inner, Outer, Full

Разпределението на изследваните лица от трите групи по отношение на съдовата плътност в ETDRS зоните (централно, вътрешно, външно поле и цяла площ) не във всеки случай може да бъде прието за нормално. От сравнението на трите обособени групи с непараметричен метод на принципа всяка с всяка установихме:

- Няма статистически значима разлика в стойностите на Vessel Density Central, получени за трите изследвани групи
- По отношение на Vessel Density- Inner, Outer, Full – съдовата плътност във вътрешното, външното поле на аваскуларната зона и цялата ѝ площ е статистически значимо по-ниска в група II B, сравнено с група I ($p=0.0032$; $p=0.0004$; $p=0.0003$).

Vessel Density Inner в група II B е $16,1341 \text{ мм}^{-1}$, а в група I- 17.0345 мм^{-1}

Vessel Density Outer в група II B е $16,2484 \text{ мм}^{-1}$, а в група I- 17.4534 мм^{-1}

Vessel Density Full в група II B е $16,0032 \text{ мм}^{-1}$, а в група I- 17.1899 мм^{-1}

Няма статистически значима разлика в стойностите на тези параметри между група I и група II A, нито между група II B и група II A.

7.3.4.3 Показател ETDRS Perfusion density- Central, Full, Outer, Inner

Разпределението на изследваните лица от трите обособени групи по отношение на процент перфузионна плътност в ETDRS полетата на макулата (централно, вътрешно, външно поле и цяла площ) не навсякъде се приема за нормално. Използвайки непараметричният метод на Крускал- Уолис, сравнихме трите групи всяка с всяка по отношение на посочените параметри. Получихме следните резултати:

- Няма статистически значима разлика в стойностите на Perfusion Density Central, получени за трите изследвани групи
- По отношение на Perfusion Density- Inner, Outer, Full – процента перфузионна плътност във вътрешното, външното поле на макулата в и цялата ѝ площ е статистически значимо по-нисък в група II B, сравнено с група I ($p=0.05$; $p=0.0027$; $p=0.0036$).

Perfusion Density Inner в група II В е 39,2698% , а в група I- 40.7608%
 Perfusion Density Outer в група II В е 40,6214% , а в група I- 43.3932%
 Perfusion Density Full в група II В е 39,7246 % , а в група I- 42.2439%

- Няма статистически значима разлика в стойностите на тези параметри между група I и група II А , нито между група II В и група II А.

7.4 Влияние на рисков фактори

4.4.1 Влияние на рисков фактори върху шанса за поява на ДР

4.4.1.1 Влияние на фактор „давност на ЗД”

Разпределението на пациентите със ЗД според давността на заболяването е представено в таблица 12.

Таблица 12. Разпределение на пациенти със ЗД по фактор „давност на ЗД”

Давност на ЗД в години	II група- болни от ЗД		Общо Брой (%)
	II А подгрупа- болни от ЗД без ДР Брой (%)	II В подгрупа- болни от ЗД с ДР Брой (%)	
До 5	22 (31,0%)	12 (18,0%)	34 (25,0%)
6 – 10	25 (35,0%)	20 (30,0%)	45 (33,0%)
11 – 15	18 (25,0%)	15 (23,0%)	33 (24,0%)
16 – 20	5 (7,0%)	13 (20,0%)	18 (13,0%)
Над 20	1 (2,0%)	6 (9,0%)	7 (5,0%)
Общо брой (%)	71 (100,0%)	66 (100,0%)	137 (100,0%)

В съвкупността от изследвани лица се установи, че има съществена, статистически значима разлика от близо 4 години в давността на доказан захарен диабет при лицата с ДР и лицата без ДР. При пациентите, при които е установена ДР, средната давност на ЗД е 12,43 г. при отклонение ± 8 години, докато при пациенти без ДР средната давност на диабета е 8,78 г. при отклонение от $\pm 5,72$ г.

С помощта на logit регресията количествено е оценено влиянието, което оказва давността на захарния диабет при развитие на диабетна ретинопатия. За лицата с наличие на захарен диабет шансът за развитие на ДР се увеличава от 8,3% до 14,4% с всяка година.

7.4.1.2 Влияние на фактор „тип на ЗД”

В таблица 13 е представено разпределението на пациентите със ЗД спрямо фактора „тип на ЗД”.

Таблица 13. Бройно и процентно разпределение на пациентите, болни от ЗД (II група) спрямо фактора „тип на ЗД”

Тип на ЗД	II група- болни от ЗД		Общо Брой (%)
	II А подгрупа- болни от ЗД без ДР Брой (%)	II В подгрупа- болни от ЗД с ДР Брой(%)	
Тип 1 ЗД	10(14,1%)	16(24,2%)	26(19,0%)
Тип 2 ЗД	61(85,9%)	50(75,8%)	111(81,0%)
Общо	71(100,0%)	66(100,0%)	137(100,0%)

С помощта на статистически методи не успяхме да установим наличие на съществено значимо влияние на типа на ЗД върху шанса за поява на ДР.

7.4.1.3 Влияние на фактор „инсулинозависимост”

В таблица 14 е представено разпределението по абсолютни бройки и по проценти на болните със ЗД според фактора „инсулинозависимост”.

Таблица 14. Бройно и процентно разпределение на пациентите със ЗД (II група) според вида на прилаганото им лечение.

Тип лечение на ЗД	II група- болни от ЗД		Общо Брой(%)
	II А подгрупа- болни от ЗД без ДР Брой (%)	II В подгрупа- болни от ЗД с ДР Брой(%)	
Без лечение	3 (4,2%)	2(3,0%)	5(3,6%)
Перорално	48(67,6%)	25(37,9%)	73(53,3%)
Инсулин	15(21,1%)	35(53,0%)	50(36,5%)
Перорално+инсулин	5(7,0%)	4(6,1%)	9(6,6%)
Общо	71(100,0%)	66(100,0%)	137(100,0%)

В съвкупността от изследвани лица със ЗД е установено, че 66 от тях са с наличие на ДР, а при 71 такава не е открита. В групата на лицата с ДР е установено, че 53% от тях (35 случая) са на лечение с инсулин, още 4 случая – 6,1% са на лечение както с инсулин, така и перорално лечение. Общият

брой на хората, които приемат инсулин в съвкупността е 39. Интерес представлява влиянието на приема на инсулин върху развитието на ДР. За оценка на изолираното, самостоятелно влияние на инсулина върху развитието на ДР е получен Logit-модел, резултатите от който показват, че вероятността за развитие на ДР при лицата, които приемат инсулин е по-висока спрямо тези, които не приемат инсулин. Шансът за развитие на ДР при инсулинозависимите пациенти е по-висок с 2,71% (до 5,54%) спрямо същия при лицата, които са на перорално лечение на ЗД.

7.4.1.4 Влияние на фактор „фамилна обремененост”

В таблица 15 са представени пациентите от група II, разпределени според фактора „фамилна обремененост”.

Таблица 15. Процентно и по абсолютни бройки разпределение на пациентите със ЗД (II група) според наличието на фамилна обремененост.

Фамилна обремененост със ЗД	II група- болни от ЗД		Общо Брой (%)
	II А подгрупа- болни от ЗД без ДР Брой (%)	II В подгрупа- болни от ЗД с ДР Брой (%)	
НЕ	39 (54,9%)	38 (57,6%)	77 (56,2%)
ДА	32 (45,1%)	28 (42,4%)	60 (43,8%)
Общо	71 (100,0%)	66 (100,0%)	137 (100,0%)

Изследвано е влиянието на фамилната обремененост със ЗД върху развитието на ДР в съвкупността от пациенти със ЗД. Установено бе, чрез възможностите на logit-регресията, че изолираното, самостоятелно въздействие на фамилната обремененост не може да се приема като причина за развитие на ДР. Данните от конкретното изследване не потвърждават тезата, че наличието на фамилна обремененост със ЗД може да се приема като причина за развитие на ДР.

7.4.1.5 Влияние на фактор „артериална хипертония”

На таблица 16 са представени бройното и процентно разпределение на пациентите от група II, според фактора „артериална хипертония”.

Таблица 16. Бройно и процентно разпределение на пациентите със ЗД (II група) според наличието или не на артериална хипертония.

Наличие на артериална хипертония	II група- болни от ЗД		Общо Брой (%)
	II А подгрупа- болни от ЗД без ДР Брой (%)	II В подгрупа- болни от ЗД с ДР Брой(%)	
НЕ	16(22.5%)	17(25.8%)	33(24.1%)
ДА	55(77.5%)	49(74.2%)	104(75.9%)
Общо	71(100.0%)	66(100.0%)	137(100.0%)

Не бе установена зависимост между изследваните признаци- ДР и наличието на артериална хипертония при изследваните лица.

7.4.1.6 Влияние на фактор „тютюнопушене”

Разпределението на пациентите със ЗД спрямо фактор „тютюнопушене” са изобразени в таблица 17.

Таблица 17. Разпределение по абсолютни бройки и по проценти на пациентите със ЗД (II група) според употребата на цигари.

Тютюнопушене	II група- болни от ЗД		Общо Брой(%)
	II А подгрупа- болни от ЗД без ДР Брой(%)	II В подгрупа- болни от ЗД с ДР Брой (%)	
НЕ	32(45.1%)	22(33.3%)	54(39.4%)
ДА	19(26.8%)	15(22.7%)	34(24.8%)
Бивш пушач	20(28.2%)	29(43.9%)	49(35.8%)
Общо	71(100.0%)	66(100.0%)	137(100.0%)

Не бе установена зависимост между изследваните признаци- ДР и тютюнопушене.

7.4.1.7 Влияние на фактор „гликиран хемоглобин”

По препоръки на Американската диабетна асоциация таргетните нива на HbA1c при болните от ЗД са < 7%.(6) Съобразно с това ние разпределяме

нашите пациенти на такива със ЗД и HbA1c<7% и такива със ЗД и HbA1c>7% (таблица 18).

Таблица 18. Процентно и по абсолютни бройки разпределение на пациентите със ЗД (II група) според серумните нива на гликиран хемоглобин

HbA1c	II група- болни от ЗД		Общо Брой (%)
	II A подгрупа- болни от ЗД без ДР Брой (%)	II A подгрупа- болни от ЗД с ДР Брой (%)	
до 7,0 %	48(67.6%)	19(29.2%)	67(49.3%)
над 7,0 %	23(32.4%)	46(70.8%)	69(50.7%)
Общо	71(100.0%)	65(100.0%)	136(100.0%)

При един от включените в проучването пациенти липсваха лабораторни данни за HbA1c, поради което общият брой пациенти, разпределени според този фактор са 136.

За оценка на факторното влияние, което оказват нивата на гликирания хемоглобин е оценен единичен логистичен. Резултатите от изследването показват, че при 1% увеличение на гликирания хемоглобин „шанса“ за развитие на диабетна ретинопатия се увеличава почти два пъти (Exp(B)=1,713).

Относно влиянието на гликирания хемоглобин върху развитието на ДР оценихме още един модел, в който независимата (факторна) променлива представихме като дихотомна. Нейните стойности са „1-ца“ за лица които са поддържали нива на гликиран хемоглобин над 7% и „0“ – за лица, чиито нива на гликиран хемоглобин са под 7%. Резултатите са притеснителни. Установихме, че шансът за развитие на ДР при лицата, които имат гликиран хемоглобин над 7% е между 5 и 10 пъти по-висок, спрямо лицата, които поддържат стойности под 7% .

7.4.1.8 Влияние на фактор „кръвна захар”

Отново според най- съвременните гайдлайни препоръките на Американската диабетна асоциация за нивата на кръвната глюкоза при диабетици са следните (б):

<4,4 mmol/l - ниски стойности

4,4-7,2 mmol/l- оптимални стойности

>7,2 mmol/l- високи стойности

Според тези стойности са разпределени и нашите пациенти със ЗД. (таблица 19)

Таблица 19. Разпределение на пациентите със ЗД (II група) според нивата на кръвната глюкоза по абсолютни бройки и по проценти

Нива на кръвната глюкоза [mmol/L]	II група- болни от ЗД		Общо Брой (%)
	II А подгрупа- болни от ЗД без ДР Брой(%)	II В подгрупа- болни от ЗД с ДР Брой (%)	
<4,4	2(2.8%)	1(1.5%)	3(2.2%)
4,4 - 7,2	36(50.7%)	17(25.8%)	53(38.7%)
>7,2	33(46.5%)	48(72.7%)	81(59.1%)
Общо	71(100.0%)	66(100.0%)	137(100.0%)

Резултатите показват, че при увеличение на кръвната захар с 1-ца mmol/L шанса за развитие на диабетна ретинопатия се увеличава от 1,13 до 1,24 пъти. За целите на анализа се наложи прегрупиране на пациентите със ЗД, според нивата на кръвна захар, съобразно референтните стойности на две групи (до 7,2) и над 7,2– лица със ЗД и нива на кръвна захар в референтни граници и група лица със ЗД с нива на кръвна захар над референтните граници. В резултат на това прегрупиране се установи, че при лицата, чиито нива са над референтните граници шансът за развитие на ДР се увеличава от 2,74 пъти до 5,38 пъти спрямо лицата при които кръвната захар е в референтни граници.

7.4.1.9 Влияние на фактор „хиперхолестеролемия“

Според гайдлайните (7) за откриване, оценка и лечение на хиперхолестеролемия при възрастни хора, стойностите на общия холестерол са следните:

< 5,17 mmol/l - оптимални стойности

5,17 - 6,20 mmol/l- гранично високи стойности

>6,21 mmol/l -високи стойности

Броят на пациентите със ЗД, при които имаше лабораторни данни за нивата на общия холестерол в кръвта, беше 90. Тяхното разпределение по групи, съобразено с вече описаните стойности, е представено в таблица 20.

Таблица 20. Процентно и бройно разпределение на пациентите със ЗД (II група) според нивата на общия холестерол в кръвта.

Общ холестерол [mmol/L]	II група- болни от ЗД		Общо Брой (%)
	II A подгрупа- болни от ЗД без ДР Брой (%)	II A подгрупа- болни от ЗД с ДР Брой (%)	
< 5,17	32(69.6%)	17(38.6%)	49(54.4%)
5,17 - 6,20	13(28.3%)	23(52.3%)	36(40.0%)
>6,21	1(2.1%)	4(9.1%)	5(5.6%)
Общо	46(100.0%)	44(100.0%)	90(100.0%)

Резултатите от регресионният модел за оценка на влиянието, което оказва холестерола показват, че при увеличаване на общият холестерол има силно положително въздействие върху шанса за развитие на ДР при пациенти със захарен диабет. При 1-ца увеличение на общия холестерол [$\mu\text{mol/L}$] (при равни други условия) шансът за развитие на ДР се увеличава над 2 пъти.

7.4.1.10 Множествен логистичен модел

Изследвахме факторното влияние на другите участващи променливи включени в анкетната карта върху развитието на диабетна ретинопатия. Множествен модел, със статистически значими параметри и адекватен по форма е този, в който са включени показателите „възраст (години), „давност на ЗД (год); и „гликиран хемоглобин. Резултатите от изчисленията са, че трите включени в модела показатели оказват положително въздействие върху шанса за развитие на ДР. Най-силно е влиянието, което оказва гликирания хемоглобин. От 5,75 до 12,65 пъти се увеличава шанса за развитие на ДР в комбинация със напредването на възрастта и давността на захарния диабет.

7.4.2 Влияние на най-важните рискови фактори върху на OCT показателите във II група

Average GCL+IPL Thickness, Minimum GCL+IPL Thickness, ILM-RPE Thickness- Thickness Avg Cube, Thickness central subfield, Volume cube, RNFL Thickness Optic disc- average, superior, inferior, nasal, temporal- не се влияят от давността на диабета, стойностите на HbA1c, нивата на общия холестерол.

Изследването на зависимости между рисковите фактори и OCT- показателите установи, че зависимостта на коефициентите е много ниска и единствено и само отделните рискови фактори не могат да се приемат като причина за промяната на средните стойности на въпросните показатели.

Проведеният дисперсионен анализ между фактор инсулинозависимост и OCT-показателите показва противоречив характер. Смятаме, че не е целесъобразно тези резултати да бъдат коментирани.

7.4.3 Влияние на най-важните рискови фактори върху OCT- A показателите във II група

FAZ AngioPlex Superficial-Area, Perimeter, Circularity, ETDRS Vessel Density- Central, Inner, Outer, Full, ETDRS Perfusion density- Central, Full, Outer, Inner- не се влияят от давността на ЗД, стойностите на HbA1c, нивата на общия холестерол

Изследването на зависимости между рисковите фактори и OCT-A показателите установи, че зависимостта на коефициентите е много ниска и единствено и само отделните рискови фактори не може да се приемат като причина за промяната на средните стойности на въпросните показатели.

Проведеният дисперсионен анализ между фактор инсулинозависимост и OCT-A показателите показва противоречив характер. Смятаме, че не е целесъобразно тези резултати да бъдат коментирани.

8.ОБСЪЖДАНЕ

8.1 Ретинални микроструктурни характеристики, наблюдавани с OCT в здрави очи.

Установената средна стойност на ретиналната дебелина в макулната област от нас е $281.6067 \pm 12,3393 \mu\text{m}$. Почти идентични с нашите резултати получават Liu et al., изследвайки ретините на 192 здрави очи. Използванията от тях апарат е Cirrus HD-OCT, софтуер версия 3.0 (Carl Zeiss Meditec, Дъблин, СА). Стойностите за средната дебелина на ретината в макулата, докладвани от тях, са $281.36 \pm 14.5 \mu\text{m}$. Авторите също така установяват, че тази дебелина намалява с възрастта, което отново съответства на резултатите от нашето изследване. Според Liu и съавтори спада на средната дебелина на ретината в макулата е с $0,33 \text{ mm/годишно}$.(8) Съществува хипотеза по темата, която предполага, че цялостното изтъняване на макулата с възрастта се дължи на доказаното изтъняване на слоя на ретиналните нервни влакна в макулата с възрастта.(9) Още няколко проучвания докладват измервания, вариращи от 258 до $300 \mu\text{m}$ на изследваната дебелина.(10),(11). В контраст, значително по-голяма дебелина на ретината в макулата, докладват авторите Pokharel et al., които са изследвали 63 здрави индивида от Непал (126 очи). Получените от тях резултати за макуларната дебелина са средно $305.60 \pm 12.45 \mu\text{m}$ за десни и $306.18 \pm 11.87 \mu\text{m}$ за леви очи.(12) Разбирането на авторите за тази разлика е, че етническата принадлежност влияе върху дебелината на макулата. Допълнителна причина, според нас, би могло да бъде използването на различен OCT апарат за целта на изследването. В пручването на Pokharel и колектив сканирането е направено със SD-OCT Spectralis HRA+OCT. Алгоритъмът за сегментиране на Cirrus HD- OCT използва границата на външният сегмент на фоторецепторите и ретиналният пигментен епител (RPE) като външна граница на ретината.(8) Spectralis SD-OCT, от друга страна, включва останалата част външния сегмент на фоторецепторите и комплекса RPE – мембрана на Брух – хориокапиларис като част от измерването на дебелината на ретината.(13) Следователно, само използването на Spectralis SD-OCT допринася за увеличената ретинална дебелина от поне $20 \mu\text{m}$.

Възможностите на OCT технологията ни позволи да измерим и дебелината на централното макулно подполе, още известна като фовеоларна дебелина, в здрави очи. Полученият от нас резултат е $260.2133 \pm 20.4185 \mu\text{m}$. Отново много близка до измерената от нас дебелина докладват авторите Liu et al. - $262.46 \pm 22.8 \mu\text{m}$. Също така авторите не намират статистически значима връзка между възрастта и средната фовеоларна дебелина, което съответства и на нашите резултати.(8) Обяснение на това може да даде факта, че фовеолата е лишена от слой ретинални нервни влакна, поради което централната фовеална област не намалява дебелината си с възрастта. По-ниски средни стойности на CST докладват Pokharel et al. ($247.71 \pm 19.92 \mu\text{m}$ за десни очи, $249.32 \pm 21.98 \mu\text{m}$ за леви очи) и Poh et al. ($246.1 \pm 21.5 \mu\text{m}$). (12) (14) В първото от тези две проучвания авторите не намират статистически значима корелация на фовеоларната дебелина с възрастта, което отново е в съответствие с нашите резултати. Във второто, от двете публикувани проучвания, не е изследвана връзката на CST с напредването на възрастта. Съществуват и предходни публикации, представящи резултати на по-голяма фовеоларна дебелина, от получената от нас, на изследваната група здрави хора.(15) (16) Нанпо и колектив публикуват средна фовеоларна дебелина от $265.9 \pm 21.4 \mu\text{m}$, както и интересното наблюдение, че дебелината на ретината във фовеята е нелинейно свързана с възрастта, като постепенно се увеличава до максимум до 60 години, последвано от стръмен спад след тази възраст.(15) Обяснение на намалената CST при най-възрастните пациенти са вероятни атрофични възрастови промени, докато удебеляването на фовеята в по-ниските възрасти би могло да отразява други процеси на стареене, евентуално натрупване на извънклетъчни или вътреклетъчни отпадни продукти.(17) (18)

Полученият от нас резултат за обема на макулния куб е $10.1393 \pm 0.4438 \text{mm}^3$ и тази стойност намалява с напредване на възрастта. В по-голяма част от предходно публикувани проучвания този обем е между 7.107mm^3 и 8.49mm^3 .(19) (12) (15). Liu et al. се доближават максимално до измерените от нас стойности за обема на макулата - $10.16 \pm 0.6 \text{mm}^3$. Pokharel и съавтори наблюдават увеличаване на обема на макулата с увеличаване на аксиалната дължина на очната ябълка.(12) За разлика от тях, в друго проучване се докладва, че увеличението на аксиалната дължина е свързано с намаляване на

обема на макулата.(20) Следователно, нашето разбиране е, че налична аметропия в изследваните извадки (преобладаваща хиперметропия при едни и миопия при други) , би могла да обясни различните резултати за обема на макулния куб в различните проучвания.

Тъй като патогенезата на диабетната ретинопатия включва дегенерация на клетки, е важно да се изследват ганглийният клетъчен слой и вътрешният плексиформен слой (GCL+IPL) в макулата, в които се разполагат ганглийните клетки и съответно техните дендрити. В нашето проучване измерихме минималната и средната дебелина на слоя ганглийни клетки и вътрешният плексиформен слой в макулата. Получените от нас резултати са $81.0733 \pm 7.1748 \mu\text{m}$ за средната GCL+IPL и $78.1800 \pm 8.2861 \mu\text{m}$ за минималната GCL+IPL дебелини. Нашите стойности на изследваните слоеве се доближават до тези в публикувани до момента проучвания по темата, където average GCL+IPL thickness варира между $80.4 \pm 7.1 \mu\text{m}$ и $83.0 \pm 6.0 \mu\text{m}$, а minimum GCL+IPL thickness е между $76.71 \pm 10.37 \mu\text{m}$ и $80.0 \pm 6.0 \mu\text{m}$.(14) (21) (22) (23) (24) (25) Откритата от нас значима отрицателна корелация на слоя ганглийни клетки в ретината и вътрешният плексиформен слой с възрастта на изследваните лица се припокрива с резултатите на хистологични проучвания, изследващи възрастовите промени в трупна човешка ретина. Те откриват линейна връзка между по-тънкия ретинален слой ганглийни клетки и нарастването на възрастта.(26) (27). Все пак има и публикувани литературни данни, които са в конфликт с нашите резултати и гласят, че няма изтъняване на GCL+IPL с напредване на възрастта.(28) (29)

Използвайки OCT технологията ние измерихме средната дебелина на слоя нервни влакна на диска на зрителния нерв, както и дебелината на този слой в горен, долен, темпорален и назален квадрант при здрави индивиди. Получените резултати в нашето проучване са $93.9718 \pm 9.7056 \mu\text{m}$ за average RNFL Disc и $121.0479 \pm 15.4606 \mu\text{m}$, $117.3082 \pm 15.7501 \mu\text{m}$, $71.9863 \pm 11.4579 \mu\text{m}$ и $65.5411 \pm 10.0360 \mu\text{m}$ съответно за inferior, superior, nasal, temporal квадрант. Докладваните от нас стойности са малко по-ниски от тези в по-голямата част публикувани проучвания по темата, където средната RNFL дебелина около диска на зрителния нерв варира от $95.21 \pm 12.45 \mu\text{m}$ до $132.7 \pm 14.4 \mu\text{m}$, а средната RNFL дебелина по квадранти е в границите: долен квадрант $124.04 \pm 22.51 \mu\text{m}$ - $159.8 \pm 18.9 \mu\text{m}$, горен квадрант $119.73 \pm 18.22 \mu\text{m}$ - $157.7 \pm 17.8 \mu\text{m}$,

назален квадрант $70.21 \pm 11.53 \mu\text{m}$ - $109.3 \pm 19.1 \mu\text{m}$, темпорален квадрант - $67.08 \pm 9.6 \mu\text{m}$ - $102.5 \pm 19.0 \mu\text{m}$.(30) (31) (32) (33) (34) Различни са факторите, които могат да бъдат отговорни за тези несъответствия, като най-вероятното обяснение се крие в алгоритмите, използвани за да се определи външната граница на RNFL. Разумно е да се предположи, че различните OCT апарати имат различно сегментиране и възможности за обработка на изображенията; тази информация обаче не е достъпна от производителите. Например, Savini и колектив правят сравнение на дебелината на перипапилерния RNFL в здрави очи, измервайки я чрез Cirrus-HD OCT и RTVue и стигат до извода, че в получените стойности има значителни разлики, които правят самите измервания невзаимозаменяеми.(31) Също така трябва да се внимава, когато се обобщават абсолютните измервания на RNFL дебелината в различни етнически групи. Няколко изследвания са показали расово-етнически различия в параметрите на диска на зрителния нерв.(35) (36) Още повече-хистологични проучвания съобщават, че съществува значителна индивидуална вариабилност в броят на оптичните нервни влакна, дори сред индивиди от едно и също поколение, както и че вариациите в дебелината на RNFL в нормалната популация могат да се дължат на индивидуални промени в пренаталната регресия на ганглийните ретинални клетки.(37) (38) Според нашите резултати перипапиларният слой нервни влакна е най-дебел в долният и горният квадрант и по-тънък в назалният и темпоралният квадрант. Това е в съответствие с предишни проучвания((39) (40)) и хистологични находки, в които е установено, че профилът на перипапиларната дебелина на RNFL е с конфигурация на „двойна гърбица“.(41) Ние установихме, че дебелината на RNFL в темпоралният квадрант е по-малка от тази в назалният квадрант. Тези наблюдения също са подкрепени от хистологични данни.(42) Откритата от нас негативна корелация между възрастта и AvgRNFL Disc, AvgRNFL Superior, AvgRNFL Inferior, AvgRNFL Nasal и AvgRNFL Temporal, която има статистическа значимост във всички квадранти, освен в назален и темпорален, се потвърждава от повечето проучвания в областта. (43) (32) (33)

8.2 Сравнение между групите изследвани пациенти на база OCT измерените параметри

Ние приемаме хипотезата, че структурната цялост на макулата може да бъде компрометирана при захарен диабет, не е ясно обаче дали промените в дебелината на макулата съществуват при диабетици без макулен оток и с лека степен на непролиферативна ДР. Ние не установяваме статистически значима разлика в средната дебелина на ретината от вътрешната гранична мембрана до ретиналния пигментен епител в макулния куб между здравите контроли, диабетиците без ДР и диабетиците с лека степен на НПДР. Предходни проучвания също демонстрират липса на статистически значими разлики в макулната ретинна дебелина между здрави лица и лица болни от ЗД без ДР или с лека степен ДР.(44) (45) Сред публикуваната литература по темата, откриваме и противоречиви на нашите твърдения. Rodrigues et al., например, през 2015 година, провеждат проучване сред три групи пациенти: без диабет, с тип 2 ЗД без ДР и пациенти със ЗД с лека ДР. Резултатите им, в контраст с нашите, са следните: съществува статистически значимо намаляване на средната дебелина на ретината в макулата при групата пациенти с лека степен ДР ($P = 0,032$) в сравнение с контролната група.(46)

Много по-многобройни са проучванията, търсещи разлики във фовеалната дебелина на ретината между очите на здрави хора и на диабетици. По-голямата част от тях отричат наличието на статистически значимо задебеляване или изтъняване на тази област при хора със ЗД (без или с лека форма на ДР) в сравнение със здрави контроли.(47), (46), (45), (48), (44) Аналогично на тях, ние също не наблюдаваме значителни разлики в дебелината на централната зона в изследваните от нас групи пациенти. Това обаче е в контраст с няколко други проучвания, които са установили променена дебелина на фовеята при субекти с диабет, но без ретинопатия.(49),(50), (51) Установената намалена дебелина на ретината във фовеята при индивиди със ЗД без ДР много вероятно отразява невродегенеративни промени, като загуба или дегенерация на ганглийни клетки, в диабетните ретини. Интересно е, че съществуват и проучвания, които установяват увеличена дебелина на ретината при пациенти със ЗД, но без ДР, в сравнение със здрави лица.(52), (53)

Когато сравнихме здрави хора, пациенти диабетици без ДР и пациенти с лека ДР, не открихме значителна промяна на обема на макулата (ILM-RPE VolCube). Тези резултати се различават от публикуваните от Yeung et al.- при

сравнение на пациенти без ДР и пациенти с НПДР, в подгрупата с НПДР са наблюдавани значителни увеличения на обема макулата.(54)

Цел на настоящата дисертация е да се провери на практика концепцията, че ранната ДР включва невродегенеративна компонента. За постигането на тази цел ние проверихме дали в ранните етапи на ДР, преди микроваскуларните промени, настъпват структурни невродегенеративни изменения. Получените резултати са следните- средните и минималните дебелини на слоя ганглийни клетки, заедно с вътрешния плексиформен слой съществено се различават в отделните изследвани в нашето проучване групи. Статистически значима разлика в показателите ние установяваме между здравите лица и болните от ЗД с лека ДР, както и между диабетиците без ДР и диабетиците с лека ДР. Подобни са резултатите от публикуваните изследвания по темата. Голяма част от тях откриват значително изтъняване на ретиналните ганглийноклетъчни ядра и дендрити (т.е. GCL+IPL) в макулите на очите на пациенти със ЗД и лека степен ДР в сравнение със здрави индивиди.(55), (56), (57), (58). По- малобройни са проведените проучвания, докладващи липса или незначителна загуба на GCL+IPL при пациенти със ЗД и лека ДР. (59) В противоречие с нашите резултати е едно проучване на Carbonell и съавтори от 2019 година, в което се наблюдава значително изтъняване на ганглийноклетъчния слой при пациенти с диабет тип 1, в сравнение с контролните субекти, но тази промяна е от статистическо значение само за напреднала ДР, не и за лека степен ДР.(60) Относно разликата в дебелините на макулната GCL+IPL между отделни групи пациенти със ЗД и липса или наличие на някаква степен ДР, съществуват малко данни в публикуваната литература, но екипа на Chhablani, например, установяват сходно GCL+IPL изтъняване сред пациенти без ДР, с лека степен ДР или с ПДР.(55)

В нашето изследване не открихме статистическа значимост в разликата между средните и минималните стойности на дебелината на слоя ганглийни клетки и вътрешният плексиформен слой в групата на здравите контроли и групата на пациентите, болни от ЗД без ДР. В няколко проучвания обаче е установена намалена дебелината на GCL+IPL, както при педиатрични пациенти със ЗД тип 1 без ДР, така и при възрастни със ЗД тип 2 без ДР. Авторите допускат, че наличието на хронична хипергликемия може да има ранен невродегенеративен ефект върху ганглийните клетки на ретината, дори

когато съдови увреждания все още не са налице.(61), (62), (63), (64), (65) Всички те предполагат, че невродегенеративните и съдовите промени настъпват независимо едни от други, тъй като невродегенеративни промени са налице при липса на съдови промени в очното дъно. Според нас съществува взаимовръзка между двата процеса, главно защото ретината представлява нервно-съдова единица, в която неврони, глиални и микроглиални клетки и кръвоносни съдове са подготвени заедно да се адаптират към различни условия.(66) В подкрепа на нашите резултати, за липса на статистически значима разлика в дебелините на GCL+IPL между групата на здравите лица и групата на лицата със ЗД без ДР, можем да споменем проучвания като тези на Ferreira et al. (67), Toprak et al. (68), Kołodziej et al. (69) Ferreira и екип дори откриват тенденция към по-дебел ганглийноклетъчен слой при диабетни ретини в сравнение със здрави хора, но това наблюдение не достига статистическа значимост.(67) Доста противоречиви са резултатите от проучването на Gerendas и колектив, публикувано през 2019 година.(70) В него са изследвани 150 пациента със ЗД и са сравнени със 150 здрави лица. Авторите докладват сигнификантно удебеляване на GCL+IPL дебелината при пациентите със ЗД и екипът на Gerendas предполага, че изтъняването на слоя ганглийни клетки и вътрешният плексиформен слой в макулата в други проучвания се дължи на хиперлипидемия и удебеляването на GCL+IPL е маскирано. Друга хипотеза на колектива е, че удебеляването на GCL+IPL е по-голямо при пациентите, които развиват ДМЕ на по-късен етап и GCL+IPL остава непроменен при пациенти, които не развиват диабетен оток на макулата. Друга вероятна теория, която авторите дават за своите резултати е следната: два пътя е възможно да бъдат наблюдавани в промените на GCL+IPL слоевете на болни от ЗД без или с лека ДР спрямо здрави контроли- невродегенеративният път, където да е налице бавно изтъняване на GCL+IPL до атрофия на невроните и съдовият път, където удебеляване на GCL+IPL да е ранна индикация за по-късното развитие на ДМЕ. Според нас има малка вероятност, измервайки комплекса ганглийноклетъчен слой+ вътрешен плексиформен слой, тъй като сегментацията е по-лесна, резултатите на Gerendas et al. да се дължат на това, че докато GCL изтънява IPL се удебелява. Това наше предположение би следвало да се докаже с бъдещи търсения по въпроса, тъй като ние открихме

само едно проучване в публикуваната литература, подкрепящо теорията ни.(71)

В нашето проучване се направи оценка на невродегенерацията в перипапиларната зона на пациенти със ЗД тип 2 без ДР и на пациенти с лека степен ДР, сравнявайки промените в дебелините на RNFL при тези хора спрямо здрави контроли. При направеното сравнение на Average RNFL Thickness Optic disc, Superior/Inferior/Nasal/Temporal RNFL Thickness Optic disc в трите групи изследвани пациенти, на принципа всяка с всяка, ние не откриваме статистически значими разлики между стойностите в отделните групи. Kołodziej et al. (69), както и Pekel et al., в две последователни техни проучвания (72), (63), подкрепят нашите резултати за липса на статистически значима разлика в дебелините на перипапиларния слой нервни влакна между здравите лица и лицата със ЗД. По-голямата част от литературните данни обаче са в противовес с нашите резултати, а именно- дебелините на перипапиларния RNFL намаляват, когато се сравняват субекти със ЗД (без или с лека ДР) с контролни здрави лица.(64),(65), (60), (73), (74) Тенденция за изтъняване на перипапиларния RNFL в посока от здравите лица към болните от ЗД с лека ДР ние наблюдаваме единствено при дебелината на RNFL в долният квадрант, но тя не достига статистическа значимост. Takis и сътрудници също докладват, че средната секторна RNFL дебелина в долен квадрант е по-ниска при пациенти със ЗД без или с лека ретинопатия в сравнение с тази на здравите очи.(75)

Анализирайки получените от нас данни, ние приемаме за най-вярна теорията, че промените в невросензорната ретина и ретиналните кръвоносни съдове са взаимосвързани и двата процеса протичат успоредно, влияейки се един от друг. Нашите резултати ни дават основание да поддържаме схващането, че ЗД причинява дезинтеграция на ретиналното невровакуларно единство, а диабетната ретинопатия може да се разглежда като невровакуларна дегенерация.

Подкрепяме и предположението за съществуването на два фенотипа: пациенти със ДР, при които съществува невродегенерация без микровакуларно увреждане и друга група от пациенти с микроангиопатия, но без невродегенерация. Тази идея за пръв път е споделена в проучването

EUROCONDOR, в което част от пациентите без ДР показват SD-OCT доказателства за невродегенерация, докато част от изследваните лица с тежка непролиферативна ДР не показват SD-OCT доказателства за невродегенерация.(76)

8.3 Ретинални микроструктурни характеристики, установени с OCT-A в здрави очи.

Оценката на васкулатурата на ретината е изключително информативна за нейното състояние

Ние измерихме средна големина на FAZ area в повърхностният капилярен плексус от 0,2431мм². Тези стойности се приближават до публикуваните в проучванията на Tan et al., Takase et al., Gomez-Ulla et al., където те са съответно 0.24 мм² , 0,250мм² , 0.275мм². (77),(78), (79) В литературата се срещат и по- високи от представените стойности за площта на FAZ в SCP, вариращи от 0.280мм² до 0.377мм². (80), (81), (82), (83) Видно е, че размера на FAZ в повърхностният плексус сред нормалните индивиди силно варира. Тези вариации трябва да се имат предвид, тъй като представляват значително предизвикателство за преценката дали дадено разширяване на площта на FAZ е физиологично или патологично и се случва в условията на ретинално заболяване. Поради това, че големините на FAZ площта се различават значително сред здравите индивиди, от сериозно значение е да се разберат демографски фактори, като възраст, които биха могли потенциално да ги повлияят. Свързаните с възрастта анатомични промени в областта на макулата логично протичат едновременно с промени в ретиналната васкулатура в района на FAZ; публикуваните до момента проучвания, докладващи за влиянието на възрастта върху размера на FAZ, са противоречиви. Голяма част от тях не установяват връзка между възрастта и размера на FAZ в здрави очи ((77), (82), (81),(84)). Можем да приемем, че получените от нас данни съвпадат с тези от мнозинството публикувани изследвания, тъй като ние открихме отрицателна връзка между площта на фовеоларната аваскуларна зона и възрастта на здравите пациенти, която обаче не достигна статистическа значимост. В контраст с това Park и сътрудници през 2020 година съобщават, че площта на FAZ се различава значително между различни възрастови групи- по- възрастните хора са имали

по-голяма FAZ площ, отколкото по-младите; авторите намират статистически значима разлика между пациенти под 20 годишна възраст и лица над 60 годишна възраст.(85) В своят дисертационен труд Ставрев В., изследвайки количествени показатели на фовеоларната аваскуларна зона при здрави очи под 55 години и такива над 55 години установява, че разделени по групи резултатите не достигат сигнификантна корелация между възрастта и площта на FAZ. Но, при обединяване на двете групи здрави индивиди в една обща група от 116 лица, размерът на FAZ показва статистическа значима разлика с възрастта. Заключение на автора е, че при обхващане на по-голяма група от изследвани лица и по-широк диапазон на възрастта, статистическата обработка носи по-достоверни резултати.(86) В напълно противоречие с изложеното до тук са представените от проучване на Coscas et. al. данни – те наблюдават площ на FAZ в повърхностният плексус значително по-малка при по-възрастните субекти. (80)

При изследване на периметъра на FAZ, подобни на нашите резултати (FAZ perimeter= 2.0341 ± 0.4267 мм) са регистрирани и при предишни проучвания. Shiihara и колектив отчитат средна стойност на периметъра на FAZ в здрави очи от 2.279 ± 0.418 мм, а Choi и екип- 2.32 ± 0.36 мм.(87), (88) Малко по- ниски от нас резултати за този параметър при здрави хора докладват Lupidi et al.- 1.85 ± 0.37 мм.(89)

FAZ area и perimeter са показатели, свързани с размера на фовеоларната аваскуларна зона. Съществуват доказателства, че параметрите, свързани с размера на FAZ, имат по-големи вариации от тези, свързани с формата на FAZ. Параметрите, свързани с размера на FAZ, значително се влияят от аксиалната дължина, но формата на FAZ не се повлиява. Тези находки показват, че формата на FAZ може да бъде по-добър параметър за оценка на състоянието на FAZ. (87) Като се има предвид, че параметрите, свързани с формата на FAZ са с по-малко вариации от размера на FAZ в нормални очи, възможно е морфологичният параметър на FAZ циркулярност да се окаже по-добър вариант за диагностични цели. В потвърждение на това съществуват данни, че кръгообразната форма на аваскуларната зона във фовеята се променя значително повече в очите с диабетна ретинопатия, отколкото размера на FAZ.(90), (91) Ако измерванията на формата на FAZ са доказано взаимозаменяеми между различните OCT апарати, те биха били много по-

добри от параметрите на размера на FAZ за оценка за наличието на ретинално заболяване.

Индексът на кръгообразност (FAZ circularity index) е мярка за компактност на дадена форма спрямо кръг. Индекса на циркулярност на кръг е 1,0. По този начин съотношението по-близо до 0 показва неправилна форма на фовеоларната аваскуларна зона и това по-близо до 1.0 показва по-близка до кръглата форма. Индексът на кръгообразност се изчислява като функция от периметъра и площта на зоната.

$$\text{Circularity index} = \frac{4\pi \times \text{area}}{\text{perimeter}^2}$$

Нашата хипотеза за интегриране на индекса на кръгообразност на FAZ в дисертационния анализ е, че ако се наруши парафовеалната капилярна мрежа, например при ДР, формата на FAZ би била по-малко вероятно с перфектна кръгла форма, което може да доведе до намаляване на индекса на кръгообразност на FAZ. FAZ circularity index, измерен от нас в повърхностният капилярен плексус на макулата, е 0.8119 ± 0.7971 , което е в синрхон с публикуваната литература, където този показател в здрави очи варира от 0.67 ± 0.08 до 0.81 ± 0.07 . (92), (87), (88), (77) Според нашите резултати индексът на циркулярност на аваскуларната зона във фовеята на здрави хора не се влияе със статистическо значение от възрастта на изследваните. Това се потвърждава и от предишни проучвания на влиянието на различни фактори върху параметри на формата на FAZ.(87)

В нашето проучване средната плътност на съдовете на цялата макула е $17,1899 \pm 1.6458 \text{ мм}^{-1}$. В своето проучване Mayss Al-Sheikh et al., определяйки повторемостта на получаваните стойности при автоматизирани измервания на съдовата плътност в повърхностния слой на ретината и дълбокия слой на ретината с OCT-A при здрави индивиди, получават резултати в първата и втората сесия от $19.43 \pm 3.10 \text{ мм}^{-1}$ и $19.72 \pm 3.78 \text{ мм}^{-1}$ за SRL. (93) Ние измерихме и средната перфузионна плътност на съдовете в макулата. Както е описано от Durbin et. al., перфузионната плътност е променлива, изобразяваща общата площ на перфузирана васкулатура на единица площ в област на интерес. Те публикуват резултат от 42% за средна перфузионна

плътност на макулата в SRL, което до голяма степен отговаря на резултатите от нашето проучване (Perfusion density full= 42.2439%).(94) Измерената от нас съдова плътност на макулата в групата на здравите очи е най- ниска в централното поле и най- висока във външното поле на зоната. Логично на това изчислихме в най- нисък процент перфузионна плътност на макулата също в централното ETDRS поле и най- висок във външното ETDRS поле. Това се обяснява с анатомията на ретината, като се има предвид, че във фовеята няма RNFL и се очаква подобно разпределение на съдовите структури, снабдяващи с кръв тези региони. От извършеният от нас статистически анализ стана ясно, че съдовата плътност в централното, вътрешното и външното ETDRS поле на макулата, както и в цялата ѝ площ, намалява с нарастването на възрастта. Също така процента перфузионна плътност във цялата площ на макулата, както и в централното и външното ETDRS поле на здрави очи значимо намалява с напредване на възрастта. Единствено сравнението на Perfusion Density Inner с възрастта на здравите контроли от нашето изследване не достигна статистическа значимост. Към настоящият момент проучванията в публикуваната литература за двата количествени индекса- Vessel density и Perfusion density в повърхностния съдов плексус на ретината сред българската популация са твърде малко. В своята дисертационен труд Ставрев В. приема за достоверен резултат, според който с увеличаване на възрастта в години плътността на кръвоносните съдове в ретината намалява.(86) По подобие на нашето и неговото проучване Shahlaee и колектив (95), както и Iafe и екип (96) изследват влиянието на възрастта върху плътността на съдовете в ретината. Авторите и на двете изследвания регистрират тенденция за редуциране на съдовете в повърхностния плексус на ретината при здрави лица с напредване на възрастта.

8.4 Сравнение между групите изследвани пациенти на база OCT-A измерените параметри

Известно е, че морфологията на FAZ е свързана с много патологични състояния на очната ябълка. Доказано е, че размерът и кръгообразната форма на FAZ са едновременно с диагностична и прогностична стойност при заболявания на ретината, като диабетна ретинопатия и оклузия на ретинални вени.(97), (98), (99) Също така е известно, че разпадането на съдовите аркади

не само увеличава максималния диаметър на FAZ, но също така променя формата на FAZ при диабетна ретинопатия.(100) Предполагайки, че фокалната загуба на парафовеална капилярна мрежа променя размера и формата на FAZ при ДР, решихме да анализираме ролята на големината на FAZ площта и периметъра, както и индекса на циркулярност в диабетни очи, тъй като тези параметри вероятно отразяват състоянието на макулната съдова перфузия.

В редица проучвания авторите, използвайки OCT-A, предполагат преобладаващо и ранно разширяване на FAZ в повърхностният капилярен сплит при пациенти със ЗД (без или с лека степен ДР), в сравнение със здрави хора ((78),(97), (100), (101)). Други, като Kostic и съавтори твърдят, че няма значителни разлики в групата на болните от ЗД без ДР в сравнение със здравата група, докато групата на болните от ЗД с лека ДР има значително по-висока площ и периметър на FAZ в сравнение със здравите контроли и диабетиците без ДР.(102) Трети, по-малко на брой изследвания, съобщават за липса на каквито и да е значими разлики в големините на фовеоларната безсъдова зона между здрави и диабетни очи без ДР или с лека степен на заболяването.(103), (104), (105) Интересна хипотеза предлага екипът на Noriaki Takase в резултат на своето изследване, в което открива значимо уголемена площ на FAZ в очите на пациенти със ЗД, но без ДР, в сравнение със очите на здрави хора.(78) Хипотезата е, че това уголемяване на площта на зоната може би е обратимо и се основава на предишни предположения, че механизмът на разширяването на FAZ при ДР е свързан с оклузия на ретиналните капиляри.(106), (107), (108) Съобщава се, че в ранните етапи на ЗД левкоцити участват в развитието на ДР. (109), (107) Miyamoto et al.(107) показват, че в тези ранни стадий на развитие на ЗД се наблюдава временна левкоцитна агрегация в капилярните съдове. Доказателствата за ранна преходна оклузия на ретинални капиляри при ЗД дават основание на Takase и екип да предположат обратимият характер на разширяването на FAZ при пациенти с диабет без ДР. В дисертационният труд решихме да разгледаме тази хипотеза: дали абсолютните стойности на площта и периметъра на FAZ са добър критерий за ранно откриване на ДР? За да бъде постигнато това се провери за статистически значима разлика в средните стойности на показателите в три групи пациенти- здрави лица, диабетици без ДР и

диабетици с лека ДР. Не се откри такава между трите изследвани групи относно FAZ area и FAZ perimeter.

В литературата е документирана висока вариабилност в размерът на FAZ при здрави очи, влияеща се от индивидуални характеристики, като например различна аксиална дължина.(110) Според нас тази висока вариабилност по всяка вероятност води до припокриване на размера на FAZ между здрави хора и диабетици, като това не позволява да сме категорични дали FAZ е „нормална“ или „патологична“ при пациенти със ЗД, когато се съди само по нейният размер. Въпреки, че не откриваме статистически значима разлика между трите изследвани групи в нашето проучване относно FAZ area и FAZ perimeter, ние получаваме значимо по-добре изразена кръгообразна форма на фовеоларната безсъдова зона на здрави очи, в сравнение с очи, страдащи от лека ДР. Като вземем в предвид тези наши резултати, както и високата вариабилност на размера на FAZ, стигаме до предположението, че индекса на циркулярност на FAZ корелира по-надеждно с микроциркулаторните увреждания при ДР. Предходни проучвания качествено демонстрират тази корелация и предполагат, че FAZ става по-ациркулярна в очите с ДР.(111), (112), (113) Редица други автори подкрепят твърдението, че нарушената кръгла форма на FAZ може да бъде добър показател за появата и прогресията на ДР. (102), (114), (90), (100)

Направихме сравнение и на двата количествени индекса- Vessel density и Perfusion density в повърхностния съдов плексус на ретината в трите обособени групи в нашето проучване. Резултатите са: по отношение на съдовата плътност във вътрешното, външното ETDRS поле на макулата и в цялата ѝ площ тя е статистически значимо по-ниска в групата на болните от ЗД с ДР, сравнено с групата на здравите лица; По отношение на процента перфузионна плътност във вътрешното, външното ETDRS поле на макулата и в цялата ѝ площ той е статистически значимо по-нисък в групата на диабетиците с лека ДР, в сравнение с контролната група; Няма статистически значима разлика в стойностите на Vessel Density Central, както и на Perfusion Density Central, получени за трите изследвани групи. Няма статистически значима разлика в стойностите на тези параметри между групата на здравите лица и групата на болните от ЗД без ДР, нито между групата на болните с лека ДР и групата на диабетиците без ДР. Доста ограничен брой са OCT-A

анализите в достъпната литература, сравняващи съдовата и перфузионната плътност в SCP в макулата в здрави и диабетни очи. El- Magid et al. сравняват здрави очи и очите на диабетици без ДР, като средната стойност на Vessel density в контролната група е била $20,40 \pm 1,56 \text{ мм}^{-1}$, а в диабетната група, средната стойност на показателя е бил статистически значимо по-ниска- $17,65 \pm 2,87 \text{ мм}^{-1}$. Относно показателят Perfusion Density авторите отчитат 36% при здрави пациенти и 33% в групата на пациентите с диабет, като също се наблюдава статистически значима разлика между двете групи.(101) Kim и съавтори докладват значимо по-ниска плътност на съдовете и индекс на перфузия в парафовеята и перифовеята в очите на пациенти, болни от ЗД без ДР или с лека до умерена степен на ДР спрямо очите на здрави лица.(114) Agemy и екип откриват статистически значимо намаляване на плътността на перфузия в повърхностният и дълбок капилярен сплит на ретината между всички изследвани стадий на ДР (лека, умерена, тежка НПДР и ПДР) и контролите. Въпреки, че се докладват минимални статистически значими разлики между различните етапи на ДР, анализът на общия линеен модел в проучването показва значителна тенденция за намаляване на Vessel и Perfusion density с напредване на заболяването в повърхностният и дълбокият капилярен плексус на ретината.(115) Liu et al. също стигат до извода, че плътността на съдовете в макулата показва силна корелация с тежестта на ДР.(116) Nesper и сътрудници пък съобщават, че не откриват разлика в съдовата плътност (SCP или DCP) между здрави контролни очи и очите на пациенти със ЗД без ДР. (117) Нашето разбиране е, че Vessel/ Perfusion density се оказват важен биомаркер за появата на ДР при пациентите със ЗД. Намаляване на съдовата и перфузионната плътност, според нашите резултати, не предхожда появата на клинични белези на ДР, като това се отнася за изследваните показатели само в повърхностният капилярен плексус на ретината.

8.5 Влияние на рискови фактори за ДР

Продължителността на ЗД и появата на ДР са тясно свързани и това е доказано в редица предишни проучвания.(118), (119), (120), (121), (122) Давността на ЗД е важен предиктор за ДР, тъй като определя времето на експозиция на други рискови фактори. В настоящата дисертационна работа за лицата с наличие на ЗД шансът за развитие на ДР се увеличава от 8,3% до

14,4% с всяка година. Тази корелация с продължителността на диабета е демонстрирана за първи път в епидемиологичното проучване на диабетната ретинопатия в Уисконсин (WESDR- The Wisconsin Epidemiologic Study of Diabetic Retinopathy), с нарастващо проявление на ДР от 25, 60 и 80% за съответно 5, 10 и 15 години еволюция на ЗД. (123)

Ние не установяваме наличие на съществено значимо влияние на типа на ЗД върху шанса за поява на ДР. По подобен начин в многоцентрово проучване в Кувейт, Al Sarraf et al. не намират значими резултати при сравняване на същите променливи.(124) В голяма част от публикуваните проучвания по темата обаче тип 1 ЗД се счита за рисков фактор за развитие на ДР. (125), (126), (123), (127). В WESDR, след 25 годишно проследяване на пациенти със ЗД тип 1, се демонстрира кумулативна честота от 97% за развитие на ДР при тези болни.(126) Ние допускаме, че липсата на асоциация между типа на ЗД и появата на ДР би могла да възникне поради малък брой индивиди със 1 тип ЗД в извадката на нашето изследване.

Резултатите от нашият анализ показват, че вероятността за развитие на ДР при инсулинозависимите диабетици е по- висока отколкото при неинсулинозависимите болни от ЗД. Шансът за развитие на ДР при пациенти, болни от ЗД , които имат нужда от прием на инсулин, е по-висок с 2,71% (до 5,54%) спрямо същия при лицата, които са на перорално лечение. В предходни проучвания също се съобщава, че приемът на инсулин е рисков фактор за развитието на ДР, може би поради това, че той индикира по-голямата тежест на заболяването.(128), (129), (130). Все пак съществуват изследователи, като Ballard и екип, които след подробен стратифициран анализ категорично предполагат, че инсулинозависимостта не е независим рисков фактор за развитие на ретинопатия.(131)

Съществува генетичен принос за развитието на съдови усложнения при ЗД.(132) (133) Редица проучвания, изследващи фамилната обремененост със ЗД, предполагат налично влияние на генетичния фактор върху появата на ДР или върху нейната тежест.(134), (135), (136) В литературата се откриват резултати за наследственост на ДР, вариращи от 27-52% както за диабет тип 1, така и за тип 2.(133), (137), (138) От друга страна, в проучване на Khalilian et al., няма връзка между ретинопатията и фамилната обремененост със

ЗД.(139) Данните от нашето изследване също не потвърждават тезата, че наличието на фамилна обремененост със ЗД може да се приема като причина за развитие на ДР.

Ние не установяваме зависимост между изследваните признаци- ДР и наличието на артериална хипертония при изследваните лица. Въпреки, че още няколко епидемиологични проучвания не са открили повишеното кръвно налягане да бъде постоянен рисков фактор за честотата на проява и прогресията на ДР ((140), (141), (142)), множество рандомизирано-контролирани проучвания са показали строгия контрол на кръвното налягане като основен модифицируем фактор за честотата и прогресията на ДР.(143), (126), (144) Въпреки противоречивите резултати, докладвани за ефекта на АХ върху честотата и прогресията на ДР, от решаващо значение е кръвното налягане да бъде следено и контролирано при пациентите със ЗД, за да бъдат предотвратени усложнения в дългосрочен план.

Предходни научни публикации, търсеци корелация между пушенето на цигари и честотата и прогресията на диабетната ретинопатия, са дали непоследователни резултати. В подкрепа на твърдението, че няма съществено въздействие на тютюнопушенето върху развитието на ДР са публикувани редица проучвания, които не успяват да открият статистически значима връзка между тютюнопушенето и риска за поява на ДР. (145), (146),(147) Нашите резултати също подкрепят това твърдение. Други автори, в противоречие с нашите резултати, публикуват, че леката степен непролиферативна ДР е по-често срещана сред настоящите пушачи отколкото сред бивши пушачи (28,4% срещу 13,0%; $p = 0,038$) и предполагат, че тютюнопушенето е свързано с ранните форми на ДР.(148). Неочаквани резултати представя проучването UKPDS 50, като демонстрира протективен ефект на тютюнопушенето, спрямо ДР - настоящите пушачи са имали намалена честота на ДР, както и забавена прогресия на заболяването, в сравнение с непушачите.(144)

Въпросът за връзката между дългосрочният контрол на плазмената глюкоза и развитието на ДР се задава от медицинските специалисти откакто инсулинолечението значително подобрява преживяемостта на инсулинозависимите болни от ЗД. През 1993 година, Проучването за контрол

на ЗД и неговите усложненията (Diabetes Control and Complications Trial-DCCT) демонстрира, че интензивният гликемичен контрол намалява риска от микросъдови усложнения при пациенти със ЗД тип 1. Авторите доказват, че добрият контрол на нивата на глюкоза в кръвта намалява риска за поява на ДР със 76%. При пациентите с лека НПДР, интензивният гликемичен контрол намалява риска от прогресия на ретинопатията с 54%. (149) В нашето проучване направихме анализ на риска от развитие на ДР според моментните нива на кръвната глюкоза при диабетиците- при увеличение на кръвната захар с 1-ца mmol/L шанса за развитие на ДР се увеличава от 1,13 до 1,24 пъти. Установихме, че при лицата, чиито нива са над референтните граници на кръвната захар (над 7,2 mmol/l) шансът за развитие на ДР се увеличава от 2,74 пъти до 5,38 пъти спрямо лицата при които кръвната захар е в референтни граници (до 7,2 mmol/l). Тъй като нивата на кръвната захар са много лабилни при пациенти със ЗД, винаги е трудно да се прецени точно качеството на дългосрочният контрол на глюкозата. Възможността за проследяване на гликирания хемоглобин е чудесна алтернатива, тъй като всяко отделно измерване е осреднено за временните нива на плазмената глюкоза през предходните 7-8 седмици - приблизителният полуживот на еритроцитите.(150) Машабно проспективно проучване за ЗД (UKPDS 33) показва, че всеки процент намаляване на хемоглобина A1c (HbA1c) при индивиди с диабет тип 2 е свързано с 35% намаляване на относителния риск за развитие на микроваскуларни усложнения.(151) Съществуват още редица силни доказателства, че адекватен гликемичен контрол, поддържащ нива на HbA1c $\leq 7\%$ намалява риска за развитие на ДР, както при ЗД тип 1, така и при ЗД тип 2. (152), (153), (122), (154) При оценка на факторното влияние, което оказват нивата на гликирания хемоглобин, резултатите в настоящата дисертация показват, че при 1% увеличение на HbA1c шанса за развитие на ДР се увеличава почти два пъти. Установихме също, че шансът за развитие на ДР при лицата, които имат HbA1c над 7% е между 5 и 10 пъти по-висок, спрямо лицата, които поддържат стойности под 7%. От всички изследвани от нас рискови фактори HbA1c, заедно с продължителността на ЗД, имат най-силно въздействие върху шанса за развитие на ДР.

Възможно е хиперхолестеролемията да играе роля в патогенезата на ДР, но констатациите от популационни и клинични проучвания са противоречиви.

Така например, общият холестерол е независим рисков фактор за ДР в епидемиологично проучване в град Ченай (Chennai Urban Rural Epidemiology Study- CURES) (155), но се явява протективен фактор за ДР в изследваната популацията в проучване, проведено в Сингапур (Singapore Malay Eye Study population). (156) Не е докладвана връзка между общия холестерол и ДР и в мултиетническо изследване на атеросклерозата (Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis- MESA)(157) Още доста изследвания съобщават за противоречиви резултати за ефектът на липидите върху развитието и прогресията на ДР и ДМЕ.(158), (128), (159) Резултатите анализа, който ние извършихме показват, че при 1-ца увеличение на общия холестерол [$\mu\text{mol/L}$] (при равни други условия) шансът за развитие на ДР се увеличава над 2 пъти. Следователно нашето становище е, че увеличаването на общият холестерол има силно положително въздействие върху шанса за развитие на ДР при пациенти със ЗД. Ние подкрепяме хипотезата, че повишените нива на общият холестерол в кръвта представляват рисков фактор за поява на ДР при диабетици.

При разработеният от нас множествен логистичен модел със статистически значими параметри са включени показателите „възраст (години)”, „давност на ЗД (години)” и „гликиран хемоглобин“. И трите включени в модела показатели увеличават риска за развитие на ДР, а в най-голяма степен положително влияние върху този шанс оказва HbA1c. От 5,75 до 12,65 пъти се увеличава шанса за развитие на ДР в комбинация със напредването на възрастта и давността на захарния диабет.

Фактът, че дългосрочният контрол на кръвната глюкоза, продължителността на ЗД, инсулинозависимостта, хиперхолестеролемията, оказват влияние върху шанса за поява на ДР при болните от ЗД, води до заключението, че усилията за превенция на очните усложнения от заболяването трябва да бъдат насочени основно към контрола на тези фактори.

8.6 Влияние на рискови фактори върху ОСТ показателите в групата на болните от ЗД

В процеса на нашето изследване се оказа, че нивото на HbA1c, давността на ЗД, зависимостта от инсулин и хиперхолестеролемията са важни фактори,

свързани с появата и прогресията на ДР. За по-нататъшно проучване на потенциалният им ефект решихме да проверим тяхното влияние върху дебелините на ретината в макулата, както и перипапиларно.

Ние не наблюдаваме значима връзка между дебелината на ретината в макулата и моментните нива на кръвната захар или стойностите на HbA1c при диабетици без ДР или с лека ДР. Липса на статистически значима корелация между макулната дебелина и нивата на HbA1c докладват авторите и на още две проучвания.(47),(44) Липсата на значима връзка между нивата на HbA1c и дебелината на ретината при диабетици може да се обясни със смесеното въздействие на гликемичния контрол върху ретината. Известно е, че по-високите нива на гликемия са свързани с развитието и прогресията на ДР (149), (126), но съществуват и доказателства за влошаване на ДР при бързо и рязко намаляване на нивата на гликирания хемоглобин.(160) В противоречие с нашите резултати, Moon et al. предполагат, че високите изходни нива на HbA1c и рязкото намаляване на HbA1c са рискови фактори за увеличаване на дебелината на макулата.(161) В друго проучване се предполага, че нивото на HbA1c положително корелира с дебелината на макулата при пациенти с диабет тип 1 и тип 2 с давност 10 или повече години без диабетен макулен оток.(54) Chou и съавтори свързват нивото на HbA1c от 8% или повече с увеличаване на дебелината на макулата при пациенти със ЗД и ДР.(162) От друга страна в публикуваната литература срещнахме и твърдения за обратна корелация между дебелината на ретината и HbA1c нивата. Jiang et al. например установяват изтъняване на ретината в областта на темпоралната периферия, което е свързано с повишена HbA1c стойност > 8,7%. Авторите предлагат апоптозата на ганглийни клетки, в условията на хипоксия, причинена от високия афинитет на HbA1c към кислорода, за най-вероятен патологичен механизъм.(51) Независимо от противоречивите резултати в предходни проучвания, получената от нас липса на значима връзка между HbA1c и дебелината на макулата ни подсказва, че е необходим по-задълбочен анализ на рисковите фактори за ДР, за да се разберат промените на микроструктурно ниво в ретината при това заболяване.

Относно дебелината на макулата и продължителността на ЗД в настоящият дисертационен труд се докладва отрицателна корелационна връзка, която обаче не достигна статистическа значимост. В проучването на Jiang и

съавтори дебелината на темпоралните перифовеални области показва тенденция към изтъняване с увеличаване продължителността на диабета, но разликите също не са статистически значими.(51) Статистическа значимост придобива обратната връзка между давността на ЗД и дебелината на макулата при пациенти без или с лека ДР в изследването на Asefzadeh и колектив.(44)

Почти не открихме проучвания, занимаващи се с връзката между инсулинозависимостта и дебелината на ретината в макулата. Единствено в едно изследване се докладва липса на значителни разлики в дебелината на централната ретина между група болни от ЗД без ДР и група, болни от ЗД с лека ДР, когато приема на инсулин се вземе под внимание.(44) Нашите резултати са противоречиви и не можем да изразим категорично мнение по този въпрос.

Предполагаме, че серумните липиди и в частност общият холестерол в кръвта имат силно влияние само при по-тежките форми на диабетна микроваскуларна увреда на ретината. В подкрепа на това, нашите данни показват, че тоталният холестерол не е свързан с дебелината и обема на макулата в изследваната от нас извадка. В подкрепа на нашето твърдение, Sasaki и съавтори, както и Venarous и съавтори, съобщават липса на значима връзка между общият холестерол и ретиналната дебелина в централното макулно подполе и макулния обем.(163), (164)

Влиянието на гликемичния контрол, изразен като HbA1c, върху невроретината още не е напълно изяснено. Част от задачите на настоящото проучване беше да изследва въздействието на HbA1c върху микроструктурните промени на невросензорната ретина при лица със ЗД тип 1 и ЗД тип 2, без признаци на ДР или с признаци на лека непролиферативна ДР. Нашите резултати посочват, че гликираният хемоглобин не е в статистически значима корелация нито с изтъняване на GCL+IPL слоят в макулата, нито с изтъняване на RNFL слоят около папилата. Резултатите от проучванията на редица автори, като Kim et al., Araszkiwicz et al., El-Fayoumi et al., Gundogan et al. съответстват на нашето становище, че не може да се намери връзка между дебелините на слоят ганглийни клетки и вътрешният плексиформен слой в макулата от една страна и гликираният

хемоглобин от друга.(165), (56), (65), (64) Araszkievicz et al., El-Fayoumi et al. докладват и липса на корелация между перипапилерния RNFL слой и гликемичния контрол.(56), (65) Възможно е обаче HbA1c да отразява само средните стойности на кръвната захар от последните 3 месеца, без да се отчитат колебанията на глюкозата и това да го прави не идеален определящ фактор за добър метаболитен контрол.(166) Публикувани са и проучвания по темата, чиито резултати са в контраст с нашите. Относно ганглийноклетъчният комплекс в макулата, например, Kołodziej и екип откриват тенденция към по- малка средна дебелина на GCL+IPL слоя с увеличаване стойностите на HbA1c, както и отбелязват отрицателна връзка между дебелината на RNFL в долен перипапилерен квадрант и HbA1c.(69) Още голям брой автори докладват за негативна корелация на гликемичния контрол и слойт неврофибрилерни влакна около папилата, достигаща статистическа значимост основно за долен и горен перипапилерен квадрант. (167), (68), (73)

Изглежда, че дегенерацията на нервните и ганглийните клетки в ретината е постепенен процес, който се случва с течение на времето. Докато предишни проучвания подчертават ролята на продължителността на ЗД за настъпването на промени в невроретината ((56), (167), (168)), ние не можахме да открием такава находка. Според нашият анализ единствено и само давността на ЗД не може да се приеме като причина за промяната на средните стойности на показатели като Average GCL+IPL Thickness, Minimum GCL+IPL Thickness/Average RNFL Thickness Optic disc-superior, inferior, nasal, temporal. Това становище е солидно подкрепено от предходни изследвания. (169),(55), (73), (65), (68), (69)

Относно инсулинозависимостта и невродегенерацията в ретината, трябва да се отбележат очевидните патофизиологични разлики между двата вида ЗД. Пациентите с диабет тип 1 имат по-ниска концентрация на плазмен инсулин, в сравнение с пациенти с хиперинсулинемия и тип 2 ЗД- разлики, които налагат различен терапевтичен подход към двата типа ЗД. Този факт би могъл сам по себе си да доведе до изкривени резултати относно изследваната зависимост в нашето проучване, тъй като в групата на болните от ЗД ние сме включили пациенти както с тип 1, така и с тип 2. От една страна в ретината инсулиновото действие стимулира развитието на диференциацията, растежа

и оцеляването на невроните. Апоптозата на невроретинални клетки може да бъде спряна чрез системна инсулинова терапия, тъй като инсулинът осигурява трофична подкрепа за невроните на ретината.(170), (171), (172) Още повече- инсулинът се разглежда като невропротективен фактор и се твърди, че доставката му локално в ретината може да защити невроните в условията на диабетна ретина.(173) От друга страна, лечението с инсулин на един диабетик тип 2 или по- високата доза инсулинова терапия при диабетик тип 1 означават по- тежко и трудно контролируемо протичане на заболяването, което пък води до по- вероятно настъпване на невродегенеративни промени в ретината. Въпреки риска от изкривени резултати относно рисковият фактор „инсулинозависимост” и невродегенеративните ретинални изменения, ние проверихме за такава зависимост, но получихме противоречиви данни, които не ни дават възможност да формуираме мнение по въпроса.

Когато става въпрос за зависимост между дебелините на ганглийноклетъчният комплекс в макулата/ перипапилерният слой неврофибрилерни влакна и общият серумен холестерол, ние не откриваме такава. Оскъдните сведения в публикуваната литература подкрепят нашите резултати.(165), (167) Все пак откриваме публикувани доказателства за протективна роля на липидопонижаващи агенти, които забавят прогресията на ДР и намаляват честотата на лазерното лечение на ретината при пациенти със ЗД.(174) Въз основа на тези данни ние предполагахме, че контролиране на нивата на общият холестерол и други серумни липиди може да бъде полезно за предотвратяване на невродегенерация на ретината.

8.7 Влияние на рискови фактори върху на ОСТ-А показателите в групата на болните от ЗД

Takase et al., изследвайки 63 възрастни със ЗД без ДР или с лека НПДР не откриват корелация между площта на FAZ и продължителност на заболяването.(78) Tang et al. също твърдят, че демографски фактори (като възраст и продължителност на ЗД) не повлияват ОСТ-А показателите, изследвани в тяхното проучване. (91) Резултатите от нашия анализ показват липса на значима корелация между FAZ- Area,Perimeter,Circularity, ETDRS

Vessel Density-Central, Inner, Outer, Full, ETDRS Perfusion density- Central, Full, Outer, Inner и давността на ЗД.

В настоящият дисертационен труд OCT-A показателите FAZ - Area, Perimeter, Circularity, ETDRS Vessel Density-Central, Inner, Outer, Full, ETDRS Perfusion density- Central, Full, Outer, Inner- не се влияят от гликирания хемоглобин и единствено и само нивата на HbA1c не могат да се приемат като причина за промяната на средните стойности на показателите. В предходни проучвания асоциациите между HbA1C и параметрите на микроциркулацията в макулата дават непоследователни резултати. Níestrata-Ortiz et al. също докладват липса на значима връзка между FAZ и последно измерения HbA1c.(175) Тяхното изследване обаче разглежда деца без ДР и е възможно реакцията на ретиналната микроваскулатура към нивата на кръвната глюкоза при деца да се различава от тази при възрастни индивиди. Нашите резултати се потвърждават и от проучване сред възрастни болни от ЗД, в което не се открива значима корелация между нивата на гликирания хемоглобин и параметрите на FAZ нито в повърхностния, нито в дълбокия съдов плексус на макулата.(78) В тотален противовес с нашите резултати са тези на Gozlan и екип.(176) Те констатираат положителна връзка между HbA1c и площта на FAZ повърхността при диабетици с различна тежест на непролиферативна диабетна ретинопатия.(176)

Не успяхме да открием проучвания, търсещи наличието на статистически значима корелация между показатели, отнасящи се за фовеоларната аваскуларна зона и наличието на инсулинозависимост при болните от ЗД. Нашите резултати са противоречиви и нямат добра информативна стойност.

Относно стойностите на общия холестерол и FAZ , Опое и съавтори, в съвсем скорошно изследване от 2020 година, установяват липса на връзка между тях и площта на аваскуларната зона.(177) В настоящото изследване също не се открива такава, а в допълнение ние не намираме и корелация между стойностите на общия холестерол и периметъра на FAZ, нейната циркулярност, както и съдовата и перфузионната плътност в макулата.

9.ОБОБЩЕНИЕ

В настоящият дисертационен труд бяха изследвани микроструктурните характеристики на ретините на здрави лица, както и на лица, болни от ЗД (без или с лека степен НПДР). В проучването бяха включени 212 лица, разпределени в две основни групи: контролна група здрави лица (75 човека) и група на болните от захарен диабет (137 човека). Групата на болни от ЗД пациенти беше разделена на две подгрупи, а именно: болни от ЗД без ДР (71 човека) и болни от ЗД с лека НПДР (66 човека). Изследването беше проведено с апарат ZEISS Cirrus HD OCT. Изследваните с OCT микроструктурни показатели бяха дебелина на ретината от вътрешната гранична мембрана до ретиналния пигментен епител и дебелина на слоя ганглийни клетки и вътрешният плексиформен слой в макулата, както и дебелина на слоя нервни влакна около диска на зрителния нерв (RNFL). Използваният от нас апарат предостави възможност и за провеждането на OCT- ангиография. Изследваните с OCT-А микроструктурни показатели бяха площ, периметър и кръгообразна форма на фовеоларната аваскуларна зона в повърхностният съдов плексус на макулата, както и съдовата и перфузионна плътност в макулата.

Резултатите от изследването на ретините на здрави лица показаха намаляване на средната стойност на ретиналната дебелина от вътрешната гранична мембрана до ретиналния пигментен епител в макулата, както и обемът на макулният куб с напредване на възрастта. Установи се също, че фовеолата не намалява с напредване на възрастта. Открихме статистически значима отрицателна връзка между минималните и средните стойности на слоя ганглийни клетки+ вътрешен плексиформен слой в макулата, и възрастта при здрави лица. От изследването на перипапилерните микроструктурни характеристики в здрави очи се установи, че слой нервни влакна е най-дебел в долния и горния квадрант и по-тънък в назалния и темпоралния квадрант. Открихме значително изтъняване на слоя нервни влакна перипапилерно във всички квадранти с напредване на възрастта при здрави хора.

С помощта на OCT-А установихме, че площта на FAZ в повърхностния плексус на макулата сред здрави хора силно варира, както и че не съществува връзка между възрастта и размера на FAZ в здрави очи. Индексът на

циркулярност на аваскуларната зона във фовеята на здрави хора няма статистически значима връзка с възрастта на изследваните. Съдовата плътност и перфузионната плътност във ETDRS полетата в очите на здравите индивиди бяха най-ниски в централното поле и най-високи във външното поле на макулата. Съдовата и перфузионната плътност в макулата значимо намаляват с напредване на възрастта.

След проведеното сравнение между групите изследвани пациенти на база OCT измерените параметри установихме липса на статистически значима разлика в средната дебелина на ретината от вътрешната гранична мембрана до ретиналния пигментен епител в макулата между здравите контроли, диабетиците без ДР и диабетиците с лека степен НПДР. В нашето изследване не открихме субклинични промени в макулната дебелина в очите на диабетици без ДР или с лека НПДР в сравнение със здрави контролни очи. Установихме липса на статистически значимо задебеляване или изтъняване на фовеоларната дебелина при болни със ЗД без или с лека форма на ДР в сравнение със здрави контроли. В настоящото проучване не открихме статистически значима разлика в обема на макулата между здрави лица и болни от ЗД.

Важно откритие беше съществуването на статистически значимо изтъняване на слоя ганглийни клетки и вътрешният плексиформен слой при болните от ЗД с лека ДР спрямо здравите лица, както и при болните от ЗД с лека ДР спрямо болните от ЗД без ДР. Не установихме статистически значимо изтъняване на тези слоеве при пациенти със ЗД без ДР спрямо здрави лица. Не открихме и статистически значима разлика в средната дебелина на перипапилерния слой нервни влакна, както и на дебелината на RNFL в горен, долен, назален и темпорален квадрант, между здравите лица и лицата със ЗД (без и с лека ДР). Така получените резултати не ни дадоха основание да потвърдим хипотезата, че невродегенеративните промени в диабетната ретина настъпват преди наличието на микросъдови увреждания и приехме за вярна теорията, че промените в невросензорната ретина и ретиналните кръвоносни съдове са взаимосвързани и протичат успоредно, влияейки се един от друг.

При проведеното сравнение на база ОСТ-А измерените параметри между изследваните групи пациенти не открихме статистически значима разлика между здравите контроли, диабетиците без ДР и диабетиците с лека НПДР относно FAZ area и FAZ perimeter. Наблюдавахме значимо по-добре изразена кръгообразна форма на фовеоларната безсъдова зона в здрави очи, в сравнение с очи с установена лека ДР. Установихме още, че индексът на циркулярност на FAZ корелира по-надеждно с микроциркулаторните увреждания при ДР, отколкото показателите, свързани с размера на фовеоларната аваскуларна зона- FAZ area и perimeter. Относно перфузионната и съдова плътност в макулата установихме статистически значимо по-ниски стойности в групата на болните от ЗД с ДР, в сравнение с контролната група, и в същото време не открихме статистически значима разлика в стойностите на тези параметри между групата на здравите лица и групата на болните от ЗД без ДР, нито между групата на болните с лека ДР и групата на диабетиците без ДР. На база на гореизложените резултати стигнахме до извода, че Vessel density и Perfusion density в повърхостния капилярен плексус на ретината представляват важен биомаркер за появата на ДР при болни от ЗД, но намаляването на техните стойности не предхожда появата на клинични белези на ДР.

Част от задачите в дисертационната работа беше да се потърси връзка между рискови фактори и вероятността за поява на ДР, както и между тези фактори и микроструктурните характеристики на ретината при болни с диагностицирана диабетна ретинопатия. Установихме, че продължителността на ЗД, качеството на гликемичния контрол, инсулинозависимостта и хиперхолестеролемията са най-значимите рискови фактори за поява на ДР. От друга страна типа на ЗД, фамилната обремененост със ЗД, наличието на АХ и тютюнопушенето и тяхното изолирано и самостоятелно въздействие не биха могли да се приемат като причина за развитие на ДР. Не открихме статистически значими корелации между микроструктурните характеристики на ретината, наблюдавани с ОСТ и ОСТ-А и най-значимите рискови фактори за поява на ДР.

Необходими са още проучвания свързани с невродегенеративните промени в ретината, настъпващи при болни с диабет и диабетна ретинопатия в различен стадий.

10. ИЗВОДИ

1. В здрави очи средната стойност на ретиналната дебелина и обем в макулата, дебелината на слоя на ганглийните клетки+вътрешният плексиформен слой в макулата, и дебелината на перипапиларният RNFL намаляват с напредване на възрастта, докато дебелината на ретината в централното макулно подполе остава стабилна през целия живот.
2. Липсва статистически значима разлика в дебелината и обема на ретината в макулата, както и в дебелината на перипапиларния слой нервни влакна в здрави очи, диабетици без ДР и диабетици с лека степен на НПДР. Установява се статистически значимо изтъняване на слоя на ганглийни клетки и вътрешен плексиформен слой при болните от ЗД с лека степен на НПДР спрямо здравите лица, както и спрямо болните от ЗД без ДР. Липсва статистически значимо изтъняване на тези слоеве при пациенти със ЗД без ДР спрямо здрави лица.
3. В здрави очи площта на FAZ в повърхностният плексус варира силно, като не се установява връзка между нея и възрастта. Индексът на циркулярност на FAZ също не се влияе значимо от възрастта, докато тоталните съдова и перфузионна плътност в повърхностния капилярен плексус в макулата намаляват статистически значимо с напредване на възрастта.
4. Липсата на статистически значима разлика в площта и периметъра на FAZ при здрави хора, диабетици без ДР и диабетици с лека НПДР и наблюдаваната значимо по-добре изразена кръгообразна форма на фовеоларната безсъдова зона в здрави очи, в сравнение с очи с лека НПДР води до заключението, че индексът на циркулярност на FAZ корелира по-надеждно с микроциркулаторните увреждания при ДР, отколкото показателите, свързани с размера на фовеоларната аваскуларна зона..
5. Съдовата и перфузионната плътност в повърхностния капилярен плексус на макулата са статистически значимо по-ниски в очите с лека НПДР, отколкото в здравите очи. Те са важен биомаркер за появата на ДР, но намаляването им не предхожда появата на клинични белези на ДР.

6. Най-значимите рискови фактори за развитие на ДР са продължителността на ЗД и качеството на гликемичния контрол, последвани от инсулинозависимостта и хиперхолестеролията.

7. Не се установи статистически значима връзка между дебелината на GCL+IPL, перипапилерния RNFL, площта, периметъра, индекса на циркулярност на FAZ, съдовата и перфузионната плътност в макулата от една страна и HbA1c, давността на ЗД, инсулинозависимостта и нивата на общия серумен холестерол от друга.

11. ПРИНОСИ

1. Приноси с познавателен характер

1.1. Направен е задълбочен и аналитичен обзор на достъпната литература, посветена на съвременните аспекти в патогенезата и диагностиката на диабетната ретинопатия, като е обърнато специално внимание на социалното значение на това заболяване.

1.2. Обстойно е разгледана концепцията за диабетната ретинопатия като невровакуларно заболяване. Направен е задълбочен литературен обзор на изследванията, извършени с помощта на ОСТ, подкрепящи или отхвърлящи хипотезата за наличието на невродегенеративни промени в ретината, предхождащи съдовите, при болни със захарен диабет.

2. Приноси с научно- приложен характер

2.1. За пръв път в България е проведено сравнително изследване на ретиналната дебелина и обем в макулата, дебелината на слоя на ганглийните клетки и вътрешния плексиформен слой в макулата, и дебелината на перипапиларния неврофибриларен слой при здрави лица, болни от ЗД без ДР и болни от ЗД с лека НПДР.

2.2. За пръв път в България са изследвани и анализирани диагностичните възможности на ОСТ-А за ранно откриване на патологични промени във фовеоларната аваскуларна зона и повърхностния капилярен плексус при болни от ЗД без ДР и такива с лека НПДР.

2.3. Отхвърли се хипотезата, че невродегенеративните промени в ретината при ЗД настъпват преди микровакуларните изменения. Потвърди се теорията, че двете събития са взаимосвързани и настъпват успоредно.

2.4. Направи се задълбочен анализ на рисковите фактори за поява на ДР и се идентифицираха най- важните от тях. За пръв път в страната се проучи как най-вероятните рискови фактори за поява на ДР оказват влияние върху изследваните с ОСТ и ОСТ-А параметри.

3. Приноси с потвърдителен характер

3.1. Доказа се, че индексът на циркулярност на фовеоларната аваскуларна зона, следван от съдовата и перфузионна плътност в повърхностният капилярен плексус са най-надеждните OCT-A показатели за ранни микроциркулаторни увреждания при диабетна ретинопатия.

3.2. Потвърди се, че давността на захарния диабет и качеството на гликемичния контрол са най-значимите рискови фактори за поява на диабетна ретинопатия.

12.ПУБЛИКАЦИИ И НАУЧНИ СЪОБЩЕНИЯ, СВЪРЗАНИ С ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

Публикации

1. Косева Д., Златарова З. Невродегенерация на ретината- първа проява в развитието на диабетната ретинопатия. Български форум глаукома 2018; бр 1
- 2.Косева Д, Златарова З. Микроструктурен анализ на ретиналните дебелина и васкулатура в макулата на здрави очи с оптична кохерентна томография (ОСТ) и ОСТ-Ангиография. Български офталмологичен преглед 2019; бр. 2 (24-33)
- 3.Косева Д, Златарова З. Диабетната ретинопатия като социален проблем. GP News 2020; бр.7 (9-11)
4. Косева Д, Златарова З, Кънева М Диабетна ретинопатия и тютюнопушене- има ли връзка? Известия на съюза на учените- Варна, серия медицина и екология 2020;25(2):12-18

Научни съобщения

- 1.Косева Д., Златарова З. Микроструктурен анализ на ретиналните дебелина и васкулатура в макулата на здрави очи с оптична кохерентна томография (ОСТ) и ОСТ-Ангиография. Среца на Съюза на очните лекари в България, с тема на научния форум "Право на зрение 2020", проведена 12-14.04.2019 г., гр.Пловдив. Сборник с резюмета.
- 2.Косева Д., Златарова З. Ранно откриване на микроваскуларни ретинални лезии при пациенти с диабет тип 1 с помощта на ОСТ-Ангиография. XIII-ти Конгрес на Българското дружество по офталмология, проведено 24-27.10.2019г., гр. Боровец . Сборник с резюмета.