



**Медицински университет -Варна
„Проф. Д-р Параскев Стоянов”**

**Факултет „Медицина“
Катедра „Очни болести и зрителни науки“**

д-р Валери Шехеров

**ПРОМЕНИ В ПРЕДЕН ОЧЕН СЕГМЕНТ
ПРИ ПАЦИЕНТИ С ДИАБЕТ**

АВТОРЕФЕРАТ

**на дисертационен труд за придобиване на
образователна и научна степен „ДОКТОР“**

Научен ръководител:

**Проф. д-р Христина Николова Групчева, д.м.н, FEBO,
FICO (Hon), FBCLA, FIACLE**

Варна, 2020 г.

Дисертационният труд съдържа 157 страници, включително 68 фигури, 19 таблици и 2 приложения. Използваната литература от 156 заглавия, от които 2 на кирилица и 154 на латиница.

Дисертационният труд е обсъден и предложен за защита на катедрен съвет на Катедрата по Очни болести и зрителни науки при МУ „Проф. д-р Параскев Стоянов“ – Варна на

Научно жури в състав:

Председател: Проф. д-р Христина Николова Групчева ,
д.м.н, FEBO, FICO, FBCLA

Членове:

1. Проф. д-р Ива Тодорова Петкова, д.м.
2. Проф. д-р Цветомир Иванов Димитров, д.м.
3. Проф.д-р Мариета Иванова Конарева-Костянева, д.м.
4. Доц.д-р Бинна Николаева Ненчева, д.м.

Официалната защита на дисертационния труд ще се състои на от ч. в аудитория на, на открито заседание на Научното жури. Материалите по защитата са на разположение в Научен отдел на МУ – Варна и са публикувани на страницата на МУ – Варна.

СЪДЪРЖАНИЕ

УВОД	5
ЦЕЛ И ЗАДАЧИ	6
МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ	7
РЕЗУЛТАТИ	18
ДИСКУСИЯ	60
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	72
ИЗВОДИ	76
ПРИНОСИ	77
ПУБЛИКАЦИИ СВЪРЗАНИ С	78
ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД	

ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ

ДНК	дезоксирибонуклеиновата киселина
ДО	дясно око
ЛО	ляво око
СЗО	Световна здравна организация
ХЕ	хематоксилин - еозин
ЦНС	централна нервна система
BCVA	най-добре коригирана зрителна острота
ETDRS	Early Treatment Diabetic Retinopathy Study
GAD	декарбоксилазата на глутаминова киселина
HRT	Heidelberg Retina Tomograph
IAA	автоантитела към инсулина
IGFBP	Insulin-like growth factor-binding protein
LSCM	лазер сканиращ конфокален микроскоп
NaCl	Натриев хлорид, физиологична сол
NBD	плътност на разклоненията
NFD	плътност на нервните фибри
NFL	дължина на корнеалните нерви
NGF	неврален растежен фактор
RCM	Rostock Corneal Module
SSCM	слит сканиращ конфокален микроскоп
TSCM	тандем сканиращ конфокален микроскоп

УВОД

Диабетът съпътства развитието на цивилизацията над три хилядолетия. Благодарение на достиженията в естествените науки и техническият прогрес, много от препятствията пред медицината, свързани с диагностиката и лечението на заболяването са намерили решение, давайки шанс на страдащите от заболяването да станат част от обществото и да водят активен живот. Новите предизвикателства пред медицината са свързани с тежките системни усложнения от заболяването и качеството на живот.

Водеща роля сред усложненията в окоото безспорно има диабетната ретинопатия, но за качеството на живот на пациентите значение имат и промените в предният очен сегмент.

Роговицата, заедно със слъзния филм участват в оптичната система на окоото. Роговицата е основната статична пречупваща среда на оптичната система на окоото, ключова за качеството на зрението, изразено не само чрез зрителната острота, а и чрез контрастната чувствителност и финото цветно зрение.

Здравата роговица е определяща за добрия резултат при рефрактивна катарактална хирургия.

Роговицата и конюктивата имат защитна функция и предпазват окоото от заплахите на външната среда.

Ранното установяване на промените, настъпващи в роговицата на пациенти с диабет, може да подпомогне оптимизирането на контрола над заболяването и предотвратяване на появата на нови усложнения. Роговицата има сложна асферична форма, което затруднява осигуряването на прецизна качествена и количествена информация за нея.

Появата на *in vivo* конфокалната микроскопия е своеобразна революция в тази насока, тъй като методиката позволява получаване на изображения на тъканите в реално време, на живо, като по този начин се осъществява детайлен микроструктурен анализ на всеки един роговичен слой във възможно най-физиологични условия

Цел на настоящата научна работа е сравняване на микроструктурните характеристики на роговица в норма и при пациенти с диабет, като се използват съвременни технологични методики за микроструктурен анализ.

ЦЕЛ И ЗАДАЧИ

1. Цел

Определяне на микроструктурните характеристики в преден очен сегмент при пациентите с диабет, с помощта на съвременните методи за микроструктурен анализ и сравняване на промените с характеристиките на здравата роговица.

2. Задачи

- 1) Установяване на клинична разлика между роговиците на здрави индивиди и пациенти с диабет.
- 2) Установяване на разлика в сетивността на роговицата при пациенти с диабет и сравняване със стойностите при здрави индивиди.
- 3) Извършване на модифицирана техника на конфокална микроскопия на здрави индивиди и пациенти с диабет.
- 4) Микроструктурен анализ на роговицата при здрави индивиди и пациенти с диабет.

- 5) Определяне на качеството на живот на пациенти с диабет чрез попълване на анкетна карта, определяща дискомфорта от преден очен сегмент

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

1. Обект и обхват на изследването

Проучването е проведено в Катедрата по очни болести и зрителни науки към Медицински университет – Варна и Специализирана очна болница за активно лечение – Варна за период от шест години 2012-2018.

Пациентите са разпределени в три групи.

Първата, контролна група включва 60 пациенти /120 очи/ без клинични и лабораторни данни за диабет (33 са жени и 27 са мъже на средна възраст $45,5 \pm 13,8$ год., между 22 – 70-годишна възраст). Контролната група е разделена на 3 подгрупи в зависимост от възрастта.

Критериите за включване в проучването са:

- да са в добро общо здраве, без данни за системни заболявания
- без предхождащо очно хирургично или лазерно лечение.
- без промени в слъзния филм

Всички пациенти, които имат метаболитни нарушения или анамнестични данни за носене на контактни лещи или очна травма, са изключени от първа група.

Втората група пациенти са със захарен диабет с давност по-малка от 10 години и без клинични данни за диабетна ретинопатия и системна невропатия. Включени са 30 субекти /60 очи /, (17 жени и 13 мъже на средна възраст $47,8 \pm 11,9$ години, между 18 – 69 -годишна възраст).

Третата група пациенти са с диабет с давност над 10 години и непролиферативна диабетна ретинопатия – 30 субекти

/60 очи (16 жени, 14 мъже; средна възраст $55,8 \pm 13,4$ години, между 29 – 77-годишна възраст).

Всеки пациент в тази научна разработка е изследван двучно с Heidelberg Retinal Tomograph III с Rostock Cornea Module (HRT3-RCM) от Heidelberg engineering GmbH, Heidelberg, Germany.

Всеки участник от всяка група е информиран подробно за целта на проучването.

2. Алгоритъм на изследването:

1. Анамнеза по установен въпросник
2. Изследване на зрителната острота за близо и далеч
3. Оглед на преден очен сегмент: клепачи, конюнктива, слъзен филм, роговица, ирис и леща.
4. Офталмоскопия с 90D леща.
5. Изследване на роговична чувствителност
6. Попълване на въпросници
7. Микроструктурно изследване на роговица с лазер сканиращ конфокален микроскоп Heidelberg Retinal Tomograph 3 с Rostock Cornea Module (HRT3-RCM)

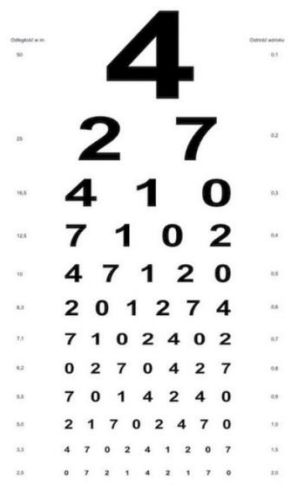
АЛГОРИТЪМ

Анамнеза

Всеки участник в проучването е детайлно разпитан за субективните и обективните оплаквания от страна на очите и техните придатъци, предхождащи заболявания и тяхното медикаментозно или хирургично лечение. Също така са разпитани за наличието на захарен диабет и други системни заболявания и тяхната давност, в следствие на което са разделени в три групи.

Изследване на зрителна острота

Зрителната острота на всеки участник се определя за всяко око поотделно с помощта на зрителна таблица на Snellen (Фиг 1, Табл. 1).



Фиг 1. Таблица на Snellen

Табл. 1. Стойности на зрителната острота чрез различни методики

Височина на оптичната	Зрителна острота в проценти	Десетична зрителна острота	В метри	Във футове
4,4 mm	200%	2,0	6/3	20/10
6,5 mm	133%	1,33	6/4,5	20/15
8,7 mm	100%	1,0	6/6	20/20
13,1 mm	67%	0,67	6/9	20/30
17,5 mm	50%	0,5	6/12	20/40
21,8 mm	40%	0,4	6/15	20/50
43,5 mm	20%	0,2	6/30	20/100
87,3 mm	10%	0,1	6/60	20/200
174,5 mm	5%	0,05	6/120	20/400

Тя се състои от определени знаци – оптофизи, чрез които се определя количествено зрителната острота. Помещението трябва да е добре осветено и трябва да е спазено предварително зададеното разстояние на пациента от таблицата. Пациентът е в седнало положение. Зрителната острота се изследва за всяко око поотделно, като неизследваното око трябва да бъде закрито с плътен оклудер.

Зрителната острота е изследвана първо монокулярно и без корекция, а в последствие със съответната корекция за далеч и близо. За стандартна зрителна острота е приета 1.0.

Оглед на преден очен сегмент

Всички пациенти са изследвани с биомикроскоп тип Хааг Щрайг. Търсени са промени в преден очен сегмент, които ще попречат на участник да отговори на изискванията за здрави контроли . При пациентите с диабет са търсени възможни изменения от заболяването в предните отдели на окото.

Офталмоскопия

Всички участници са подложени на директна офталмоскопия, за потвърждаване статуса на контролите и пациентите с диабет и изключване на настъпили промени в състоянието на диабетната ретинопатия.

Въпросници

Всички пациенти с диабет попълват въпросник, чрез който се събраха данни за типа и давността на диабета, осведомеността на пациентите за контрола на заболяването , неговите усложнения. С помоща на въпросника се набави информация относно промените в качеството на зрението и очния комфорт след диагностицирането на заболяването (Приложение 1).

National Eye Institute Visual Function Questionnaire (NEI VFQ-25). VFQ-25 се състои от 25 въпроса, насочени към оценка на зрението, с 11 подсказки, свързани с зрението, плюс допълнителен въпрос за оценка на общото здравословно състояние.

Специфичните за зрението подсказки са следните: 1) общо зрение, 2) зрение за близо, 3) зрение за далече, 4) очна болка, 5) социално функциониране, 6) психично здраве, 7) трудности с изпълняване на задълженията, 8) зависимост от други хора, 9) шофиране, 10) цветно виждане и 11) периферно зрение.

Всички подсказки се оценяват от 0 до 100, където високата оценка представлява по-добро функциониране. (Приложение 2)

Роговична чувствителност

Роговичната чувствителност на всички пациенти е изследвана с естезиометър на Cochet-Bonnet. За оценка на роговицата при пациенти с диабет се направи анализ на субекти, разделени в три групи.

Методика на конфокалната микроскопия

Корнеална конфокална микроскопия е неинвазивна клинична техника, която осигурява *in vivo* изображение на роговичните нервни влакна.

Основното предимство на лазер сканиращия конфокален микроскоп (Heidelberg Retina томограф II Роцок роговицата Module (HRTII) (Heidelberg, Германия) е способността за изображения на тънки слоеве (до 10 μm) от роговицата.

Предимството на лазерния конфокален микроскоп е, че дава по-голяма резолюция на скана, не зависи от прозрачността на роговицата и се ползва както при норма, така и при

патологични промени. По-компактен е, има прецизна Z-локализация. Може да се използва за визуализация на малки полета. Използва се за описание и диференциация на наблюдаваните структури. Масово навлиза в практиката за уточняване на диагнозата и оценка на прогнозата. Дава възможност за проследяване във времето на различните клинични случаи и тяхното динамично сравнение.

Катедра „Очни болести и зрителни науки“ към МУ-Варна разполага с първия в България ин виво лазер сканиращ конфокален микроскоп Heidelberg Retinal Tomograph 3 с Rostock Cornea Module (HRT3-RCM) от Heidelberg Engineering. HRT3-RCM лазер сканиращата система се състои от точково сканиращ диоден лазер с дължина на вълната 670 nm с хоризонтално поставена оптика за осигуряване на достъп до роговицата на субект в седнало положение. Лещите на обектива са имерсионни с висока цифрена апертура – 63x/0.95 NA, Zeiss, върху които се поставя стерилна пластмасова шапка Томо-Сар. Между Томо-Сар и обектива се поставя имерсионен гел (Corneregel, Bausch&Lomb GmbH, Germany) с подходящ рефрактивен индекс.

Другите технически характеристики включват:

1. Увеличение на екрана: 300X
2. Размер на снимката: 384 x 384 pixels, еквивалентно на 400 X 400 μm
3. Оптична разделителна способност: странична 2 μm , дълбочина 4 μm
4. Трансверзална резолюция: приблизително 1 $\mu\text{m}/\text{pixel}$
5. Време за заснемане: 24 msec.

Всяко изследване с конфокална микроскопия на живо се състои от един или няколко скана, като всеки скан представлява 100 последователни изображения, получени с избрана скорост – от 1 до 30 кадъра в секунда (frames/sec).

По време на сканирането (което продължава от 3.3 до 100 секунди) изследващият мануално наглася позицията на обектива в референтна равнина, паралелна на роговичната повърхност. Допълнително екзаминаторът ръчно променя и дълбочината на фокуса в аксиална посока. Диапазонът на дълбочина е приблизително 1200 μm , достатъчно широк за изследване на човешката роговица в цялата дебелина. По този начин е възможно да се изобрази на живо целият обем на роговицата.

На практика достъпът до периферните участъци на роговицата се осъществява чрез ръчно поставяне на подвижна светлинна фиксираща марка, към която пациентът е инструктиран да гледа. Получените изображения представляват зрително поле с размери 300 x 300 μm или 400 x 400 μm в зависимост от параметрите на избраната сменяема леща на обектива. Латералната резолюция е около 1 – 2 μm , но може да е и субмикронна, в зависимост от контраста. Аксиалната резолюция е около 4 μm . Всяко изследване се осъществява след топикална анестезия с една капка Alcain (проксиметакаинов хидрохлорид 0,5% Алкон България ЕООД, България) и използване на карбомер, като имерсия корнерегел 5% (Притежател на разрешението за употреба: Dr. Gerhard Mann Chem.-Phar. Fabrik GmbH, Brunsbütteler Damm 165– 173,13581 Berlin, Germany) между чашка TomoCap за еднократна употреба и наконечник. TomoCap® е направен полиметилметакрилат (PMMA) и се използва за еднократно приложение с цел протекция от инфекции. Като PMMA материал има висок рефрактивен индекс $n_1 = 1.490$, което като се насложи над рефрактивния индекс на корнеята, по законите на Снелиус ще увеличи резолюцията и подобри контраста, и намалява рефлексите от интерфейса. Точното перпендикулярно положение на роговицата се контролира от цветна камера.

Конфокалният микроскоп има компактна структура, което улеснява използването му. Изследователят има възможност ръчно да прецизира позицията на лазерния рефлекс чрез вертикална и хоризонтална корекция. В резултат на това се визуализират само клетките в една равнина, успоредни на повърхността. Контактната техника гарантира фиксирана дистанция роговица-микроскоп и прецизност при анализ на клетките в еднаква дълбочина.

Пациентът се наглася срещу апарата така, че брадата и челото му да са позиционирани в съответните опорни точки на апарата. Камерата се ориентира към пациента с помощта на компютърната настройка. Обективът на микроскопа се доближава до окото, докато постигне контакт с очната повърхност. Позицията на окото се наблюдава чрез страничната камера. Пациентът се инструктира да се фиксира върху външната фиксационна представка с окото, което не се изследва в момента.

Компактният размер на микроскопската глава позволява контралатералното око на индивида да не се закрива и възпрепятства погледът. Камерата се премества към пациента на разстояние 5 – 10 мм от роговицата. С помощта на ръкохватките за фина настройка на микроскопа обективът се поставя в централната част на роговицата или върху друго поле, обект на наблюдение. На този етап може да се провери дали червената светлина от лазера е точно в центъра на роговицата, или да се наблюдава отражението на лазерния лъч от роговицата, което се вижда в образа на страничната камера. По аналогичен начин се осъществява и фокусиране върху друга област от предния очен сегмент, която представлява обект на интерес.

Извършват се до 20 скана на всяко око (до 2000 единични изображения за едно око), като всяко изследване продължава от 5 до 15 минути. Пациентът не изпитва болка, а за

дискомфорт се съобщава изключително рядко. Обичайно се прилага скорост на заснемане от 8 изображения в секунда. Клетките на роговицата може да бъдат анализирани количествено с полуавтоматичния вграден софтуер на апарата. Методиката е неинвазивна, контактна и позволява за 30 секунди да се заснемат 300 последователни изображения, което дава възможност за детайлизиран микроструктурен анализ на роговицата във всичките ѝ клетъчни слоеве, включително епителни клетки (повърхностни, в средните слоеве и базален епител), нервен плексус, стромата в различна дълбочина и типизация на различните видове кератоцити, ендотелни клетки и клетки на имунната система.

За прецизен анализ на резултатите е създаването на стандарт за оценка – базиран на големината на изображението и дълбочината на отделните сканове. Площта на полетата при количествения анализ също може да е причина за по-голямо стандартно отклонение.

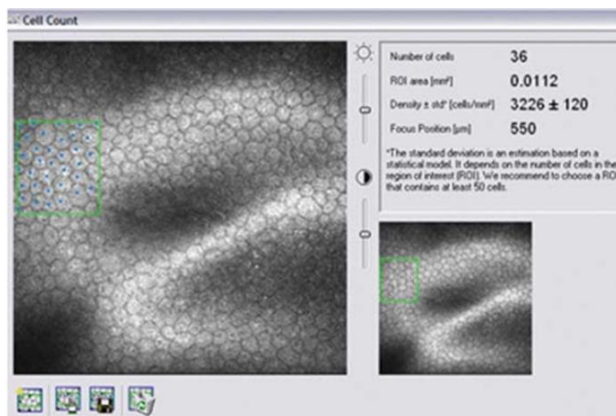
За да се избегне значителна статистическа грешка, се разработи стандарт за площ на полето. За оразмеряване на изображенията и намаляване до минимум на грешките се задават предварителна големина на площта на полето, в което се извършва последващият морфометричен микроструктурен анализ.

Качествените снимки (без артефакти от движение и компресионни линии) от различните роговични слоеве са селектирани за последващ качествен и количествен анализ. За целите на количествения анализ клетките са преброени с помощта на вградения софтуер на апарата. Изчислена е гъстотата на клетките от следните роговични слоеве: базален епител, предна, средна и задна строма, ендотел, както и дендритни клетки. Данните са представени като гъстота на клетките ($\text{кл}/\text{mm}^2$) \pm SD.

За изображение на предната строма са приети първите три ясни снимки на стромални кератоцити, които са получени непосредствено след визуализирането на Баумановия слой на роговицата. Задната строма е дефинирана като първите три ясни и качествени снимки на строма, получени непосредствено пред Десцетовата мембрана. За средна строма се приемат поредица от три чисти изображения на стромата на еднакво разстояние зад Баумановата и пред Десцетовата мембрана при изследване на цялата дебелина на роговицата.

Z-дистанцията (вертикалното разстояние) между трите снимки от серия е средно 2 μm . Средната плътност на клетките е изчислена като $\text{кл}/\text{mm}^2$, а не като обемна плътност ($\text{кл}/\text{mm}^3$), тъй като се търси клетъчна плътност на определена дълбочина на слоя.

След като е определена подходящата дълбочина на изследване, се определя и желаната таргетна зона. Не е възможно да бъдат изброени всички клетки от дадено изображение, затова при последващия количествен анализ се подбира срединна зона от снимката с възможно най-малко артефакти – ROI (region of interest) и следва мануално изброяване на клетки с „point-and-click“ софтуер. Не се маркират клетки, чиито стени се докосват до долната и до лявата стена на таргетното поле (за да се избегне хиперпреброяване и грешка при изчисляване на плътността). Маркират се всички останали цели клетки, както и половинки, прилежащи към горната и дясната стена на ROI-полето. За по-голяма достоверност на резултатите е препоръчително броят на изброените клетки от таргетната зона ROI да надвишава 50. При необходимост се използват техники за обработка на изображението с усиляване или намаляване на контраста или осветеността с цел подобряване визуализирането на границите на клетките и улесняване на маркирането им.



Фиг. 2. Поле избрано за мануално изброяване на клетки с помощта на с „point-and-click“ софтуер

3. Статистически анализ

Статистическият анализ се направи с Excel Microsoft Excel, версия 2003, (Microsoft Inc, Redmond WA) и стандартна програма за статистически анализ със стандартно отклонение. Като статистически значими са приети всички стойности с $P < 0,05$. Морфометричната оценка на клетките се извърши посредством качествен и количествен анализ.

За анализ и интерпретация на експерименталните данни с оглед разкриване същността на наблюдаваните явления, обект на настоящото проучване, използвахме:

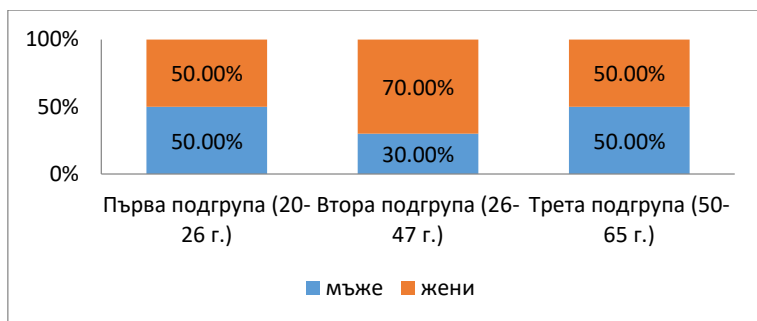
- o Дисперсионен анализ;
- o Вариационен анализ;
- o Корелационен анализ;
- o Регресионен анализ;
- o Сравнителен анализ (оценка на хипотези);
- o Графичен и табличен метод на изобразяване на получените резултати

РЕЗУЛТАТИ

1. Изследване на нормална роговица

Роговичната микроструктура в норма беше оценена с помощта на лазер сканиращата конфокална микроскопия на живо, Heidelberg Retina Tomograph III Rostock Cornea Module (HRT3-RCM). Бяха изследвани роговиците на 60 възрастни здрави индивиди, всеки изследван двучно, общо 120 очи. Средната възраст на участниците е $35,5 \pm 13,8$ год., като 33 са жени със средна възраст $37 \pm 3,2$ и 27 са мъже – 35 ± 3 години.

Контролната група е разделена на 3 подгрупи в зависимост от възрастта (Фиг. 3).



Фиг. 3. Разпределение на контролната група на подгрупи в зависимост от възрастта

Втората група пациенти са с диабет с давност по-малка от 10 години, но без клинични данни за диабетна ретинопатия и невропатия – 30 субекти /60 очи /, (16 жени и 14 мъже на средна възраст $47,8 \pm 11,9$ години, между 18 – 69-годишна възраст).

Табл. 2. Характеристики на субектите, включени в проучването

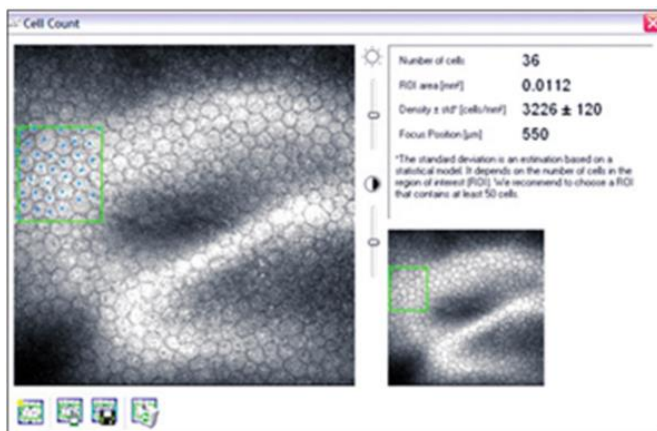
Показател		Контролна група	Втора група (давност на диабета под 10 г.)	Трета група (давност на заболяването над 10 г.)
Възраст (години)	mean±SD	35.5 ± 13.8	47.8 ± 11.9	55.8 ± 13.4
Пол (брой)	Мъже	27	13	14
	Жени	33	17	16
Етническа принадлежност (брой)	Българи	49	20	22
	Етническо малцинство	11	10	8

Третата група пациенти са с диабет над 10 години и непролиферативна диабетна ретинопатия – 30 субекти /60 очи (16 жени, 14 мъже; средна възраст 55,8±13.4 години, между 29 – 77-годишна възраст) (Табл. 2).

За всички пациенти, оценката на базалния епител се направи при средна площ 0.0254±11 mm² и дълбочина 80 µm. Стромата се раздели на предна, средна и задна строма. Със средна големина съответно предна строма 100 – 150 µm и големина на полето 0.0382±32 mm², средна строма 250 – 300 µm и големина на полето 0.0415±10 mm² и задна строма 450 – 500µm и поле с размер 0.0355±11mm². Средната дълбочина за визуализиране на ендотела при изследваните субекти е 550 – 670 µm и анализът се извърши при площ на полето 0.0149±12 mm², както се вижда на табл. 3 и фиг. 4.

Табл. 3. Стандартизация – морфометричен анализ на корнея, дълбочина на скан/площ на поле

Местоположение в роговицата	Дълбочина на скана	Площ на полето
Епител	80 μm	0.0254 \pm 11 mm^2
Предна строма	100 – 150 μm	0.0382 \pm 32 mm^2
Средна строма	250 – 300 μm	0.0415 \pm 10 mm^2
Задна строма	450 – 500 μm	0.0355 \pm 11 mm^2
Ендотел	550 – 670 μm	0.0149 \pm 12 mm^2



Фиг. 4. Площ на поле и методика за количествен анализ на изображенията

Епител

Качественият анализ на роговичния епител показва наличие на три вида клетки – повърхностни, криловидни и клетки на базалния епител.

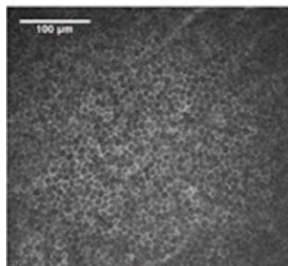
Повърхностните клетки са с добре очертани светли граници и малки тъмни заоблени ядра и тъмна цитоплазма.

Формата им е полигонална. В дълбочина клетките загубват ясните граници на ядрата си и постепенно стават невидими.

Клетките, на които предстои десквамация, се характеризират с високорефлексивна цитоплазма, в центъра на която има светло сегментирано ядро с тъмен перинуклеарен пръстен.

Криловидните клетки се намират в средните отдели на епитела. Те се характеризират със светли граници и тъмна цитоплазма. Трудно се различават ядра.

Базалните клетки се визуализират като многоъгълни клетки, със светли граници и с тъмна цитоплазма. За разлика от повърхностните клетки, тук ядра не се визуализират. Както при криловидните клетки, и тук вариации се наблюдават в размера и формата (Фиг. 5).



Фиг. 5. Клетки на базалния епител в контролната група

Квантитативният анализ на роговичния епител дава възможност да се определи броя на клетките в дадено поле, големината на клетките и техния диаметър. Направен е количествен анализ на повърхностния епител и базалния епител. Големината на повърхностните епителни клетки е средно 40 – 50 μm в диаметър и около 5 μm дебелина. Анализът установи, че броят на повърхностните клетки в корнеалния епител средно е 2241 ± 224 кл/ mm^2 . Анализът на базалния епител установи, че средният брой на клетките е 6040 ± 33 кл/ mm^2 на дълбочина 50

µm в централната част на роговицата. Не се наблюдават статистически значими разлики в отделните възрастови подгрупи.

Баумановият слой

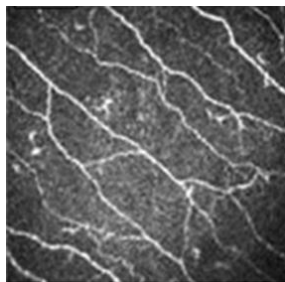
Баумановият слой не се визуализира в нормална корнея с конфокален микроскоп на живо.

Нервни влакна в суббазалния процес

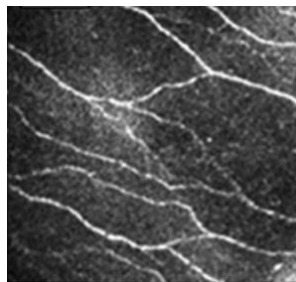
При конфокалната микроскопия нервните влакна се визуализира като плътни хиперрефлексивни структури. Суббазалните роговични нерви прилежат към базалния епител и са със средно изразена рефлексивност, като обикновено имат прав ход. Ясно видими са и имат добре отграничени граници. На конфокална микроскопия на живо при картографиране на нервите от суббазалния нервен плексус може да се формира картината на „завихряне“, което има центростремителни характеристики.

В предната строма, непосредствено под Баумановия слой, нервните влакна се разграничават на три различни подвида. Част от тях не преминават Баумановия слой, а се разполагат под него и образуват субепителния слой. Други, следвайки перпендикулярен курс, пенетрират Баумановия слой, като дават клончета точно преди да инвазират слоя. След пенетрацията тези снопчета отново променят посоката си на 90 градуса и се насочват към базалния епителен слой, формирайки базален епителен плексус, като дават множество клончета за корнеална повърхност. Те обикновено се разполагат паралелно един на друг и оформят У- или Т-форма. Често те имат грануляции, които наподобяват низ от перли и по-рядко се наблюдава гладка повърхност. Възможно е да се наблюдава разклонение на едно по-плътното влакно на две по-тънки, които

след време отново се събират в едно влакно. Наблюдавани са и фини влакна, като връзка между отделните клончета (Фиг. 6).



Мъж на 22 г.



Мъж на 59 г.

Фиг. 6. Изображение на суббазален нервен плексус при 2-ма мъже различни възрасти с *in vivo* конфокален микроскоп

Оценката на суббазалния нервен плексус се направи посредством поредица от изображения с конфокален микроскоп на централната роговица в една равнина.

Количествената оценката на суббазалния нервен плексус включва:

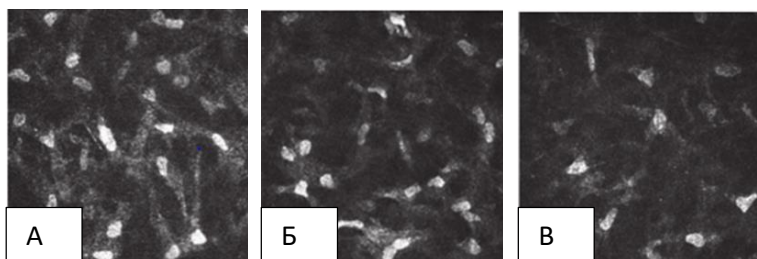
- дължина на корнеалните нерви (NFL)
- плътност на нервните фибри (NFD)
- плътност на разклоненията (NBD)

При контролната група средната дължина на корнеалните нерви е $45.60 \pm 4.47 \text{ mm/mm}^2$, като се измери различна плътност на нервните фибри и техните разклонения, съответно $25.38 \pm 2.99 \text{ P mm/mm}^2$ и $11.21 \pm 0.88 \text{ mm/mm}^2$.

Строма

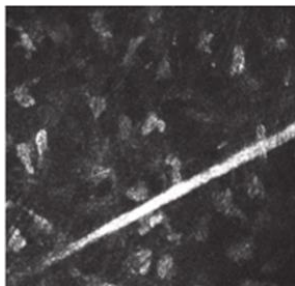
При качествения анализ на стромата се различават три нива – предна, средна и задна строма, които имат различни характеристики.

Ядрата на кератоцитите се визуализират като разнородни морфологични структури с изразена хиперрефлексивност на тъмен фон. Кератоцитите от предна и задна строма имат различен вид на конфокална микроскопия: ядрата на предностромалните кератоцити са по-малки в сравнение със задностромалните. Освен това те имат леко елиптична форма и стават по-издължени към периферията (Фиг. 7). Стромалните роговични нерви също се визуализират като хиперрефлексивни структури с ясни граници и прав ход (Фиг. 8).



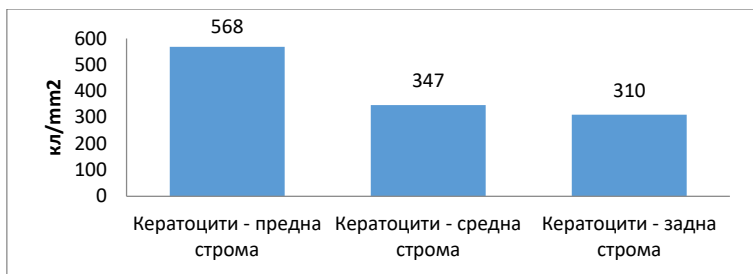
Фиг.7. Конфокална микроскопия на роговична строма– А) предна, Б) средна, В) задна

Плътноста на кератоцитите се изчисли, като роговичната строма се раздели на три части – предна, средна и задна. Средната плътност на кератоцитите в предната строма е 568 ± 23 кл/ mm^2 . При оценка на средната строма за всички субекти се взе под внимание еднаква дълбочина на срез 250–300 μm . Плътноста на кератоцитите в средната строма – 347 ± 18 кл/ mm^2 . Броят на кератоцитите в задната строма е 310 ± 27 кл/ mm^2 .



**Фиг.8 . Конфокална
микроскопия на стромални
роговични нерви**

Броят на кератоцитите е различен в различните слоеве на роговицата, като в дълбочина броят им намалява. Установи се статистически значима разлика в средната плътност на кератоцитите в предна и средна строма ($p < 0.05$), както и в предна и задна строма ($p < 0.05$) (Фиг. 9).



Фиг.9. Плътност на кератоцитите на роговиците (кк/мм²) на здравите субекти – намаляване на кератоцитната гъстота от предна към задна строма

Десцетова мембрана

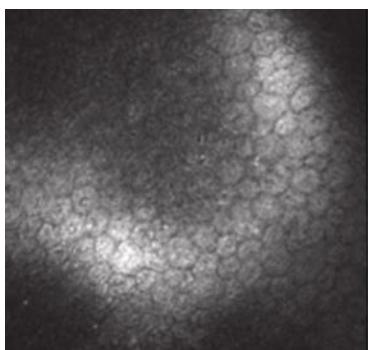
Десцетовата мембрана не се визуализира при нормални роговици.

Ендотел

На конфокалната микроскопия ендотелът се визуализира като мозайка от хексагонални светли клетки с тъмни граници (Фиг. 10). Клетъчни ядра не се наблюдават.

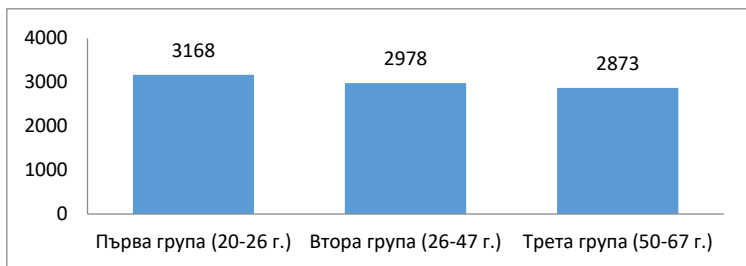
При количествения анализ на ендотелните клетки на роговицата при здрави субекти се установи, че средният брой клетки за популацията е 2996 ± 34 кл/ mm^2 .

При субекти на възраст между 20 – 26 години средната плътност на ендотелните клетки е 3168 ± 19 кл/ mm^2 .



Фиг. 10. Конфокална микроскопия на роговичен ендотел

При втората група на възраст между 26 – 47 години броят на клетките е 2978 ± 22 кл/ mm^2 , докато при групата със субекти на възраст между 50 – 67 години броят на ендотелните клетки е 2873 ± 32 кл/ mm^2 (Фиг. 11). Анализът показва, че с напредване на възрастта броят на клетките прогресивно намалява, като се установява значителна разлика между ендотелната плътност в първата и третата възрастова подгрупа на здравите индивиди.

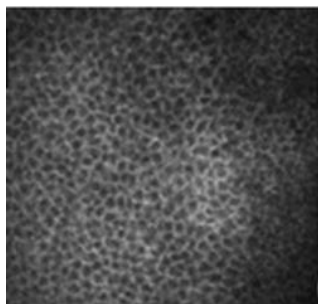


Фиг. 11. Среден брой на клетки в ендотела при отделните възрастови подгрупи

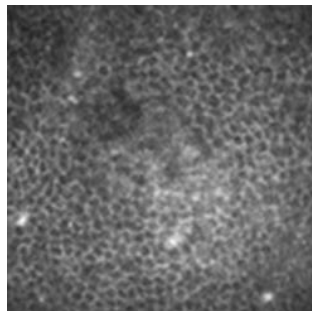
2. Изследване на роговицата при пациенти с диабет

Епител

При пациентите с диабет се наблюдава по-изразена полиморфност на базалния епител, като се наблюдава корелация между тежестта на диабета и клетъчния атипизъм (Фиг. 12).



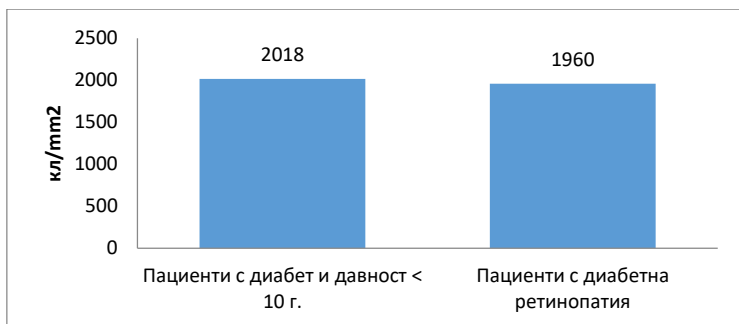
Субекти с диабет без усложнения



Субекти с диабет и непролиферативна диабетна ретинопатия

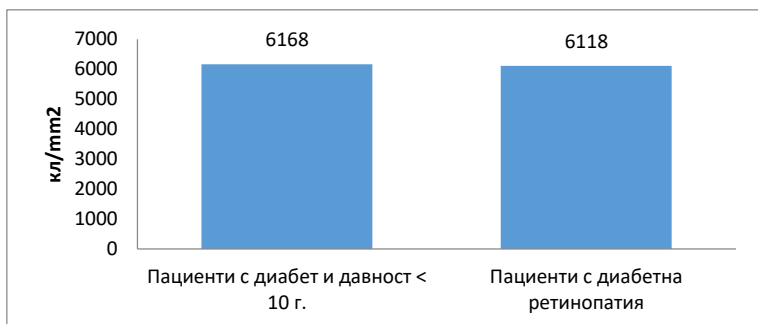
Фиг.12 . Конфокална микроскопия на базален епител на роговица

При субекти от втората група с диабет с давност, по-малка от 10 години, но без клинични данни за диабетна ретинопатия и невропатия – 30 субекти/60 очи (17 жени и 13 мъже) средната плътност на повърхностните епителни клетки е 2018 ± 106 кл./ mm^2 . При третата група пациенти с диабетна ретинопатия – 30 субекти/60 очи (16 жени, 14 мъже) средната плътност на повърхностните епителни клетки е 1960 ± 104 кл./ mm^2 . Беше установена съществена разлика в средния брой на повърхностните епителни клетки при лицата в контролната група и пациентите с диабет (втора и трета група) ($p < 0.05$) (Фиг. 13).



Фиг. 13. Количествен анализ на повърхностните епителни клетки

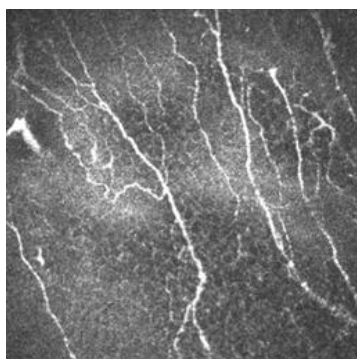
При субектите от втората група плътността е 6168 ± 24 кл./ mm^2 . При третата група пациенти с диабетна ретинопатия – 6118 ± 12 кл./ mm^2 (Фиг. 14).



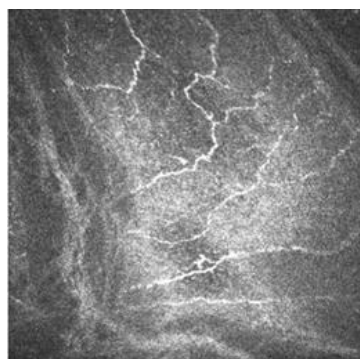
Фиг. 14. Количествен анализ на базалните клетки при субекти с диабет с/без диабетна невропатия/ретинопатия

Суббазален нервен плексус

Суббазалният нервен плексус се визуализира като хиперрефлекторни линейни изображения, които са с по-голям диаметър от контролната група.



Субекти с диабет без усложнения



Субекти с диабет и непролиферативна диабетна ретинопатия

Фиг.15 . Конфокална микроскопия на суббазален нервен плексус

При оценката на суббазалния нервен плексус се сравниха дължината на корнеалните нерви (NFL), плътността на нервните фибри (NFD) и плътността на разклоненията (NBD) при контролната група, като се наблюдава значителна редукция и на трите характеристики при субекти с диабет с обратна пропорционална зависимост на резултатите с давността на диабет (Табл. 4).

Табл. 4. Количествена оценка на суббазалния нервен плексус

Характеристики на суббазален нервен плексус	Втора група	Трета група	p
дължина на корнеалните нерви (NFL)	31.63±2.33 mm/mm ²	18.57±3.63 mm/mm ²	< 0.001
плътност на нервните фибри (NFD)	17.42±2.02 mm/mm ²	5.63±1.33 mm/mm ²	< 0.001
плътност на разклоненията (NBD)	8.05±0.71 mm/ mm ²	3.01±0.39 mm/mm ²	< 0.001

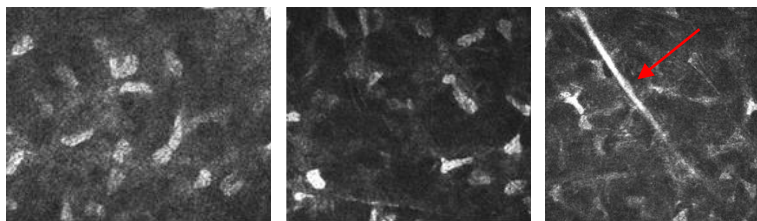
Значителна промяна се наблюдава при пациентите с диабет и диабетна ретинопатия – NFL е 18.57±3.63 mm/mm², NFD е 5.63±1.33 mm/ mm² и NBD е 3.01±0.39 mm/mm².

Строма

При качествения анализ на стромата не се откриват морфологични разлики в кератоцитите в отделните групи субекти, които са включени в изследването.

Плътността на кератоцитите се изчисли, като роговичната строма се раздели на три части – предна, средна и задна. Броят на кератоцитите е различен в различните слоеве на роговицата, като в дълбочина броят им намалява пропорционално.

Не се наблюдават статистически значими разлики в броя на клетките на трите нива в стромата между двете групи субекти с диабет.

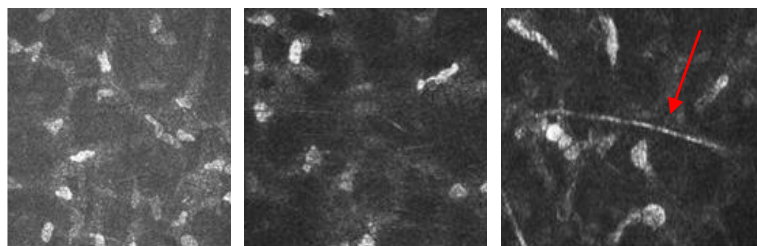


Предна строма

Задна строма

Стромален нерв

Фиг.16. Конфокална микроскопия на строма при пациенти с диабет без усложнения



Предна строма

Задна строма

Стромален нерв

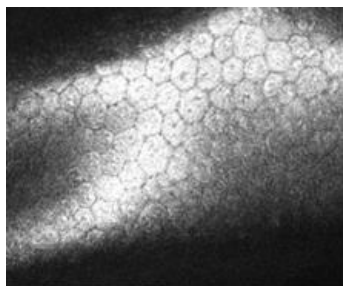
Фиг.17. Конфокална микроскопия на строма при пациенти с диабет и непролиферативна диабетна ретинопатия

Табл. 5. Количествен анализ на кератоцити в предната, средната и задната строма

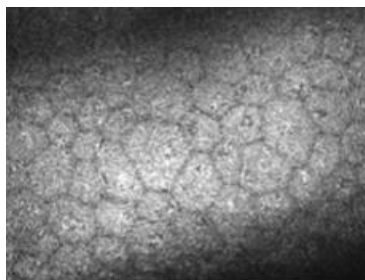
Група	Предна строма	Средна строма	Задна строма
Втора група	347±18 кл/mm ²	297±18 кл/mm ²	278±23 кл/mm ²
Трета група	310±27 кл/mm ²	303±27 кл/mm ²	308±17 кл/mm ²

Ендотел

Микроструктурният анализ на ендотелните клетки показва изразен полиморфизъм и полимегатизъм при пациенти с диабет, като няма видима разлика при групите с различна давност на диабета.

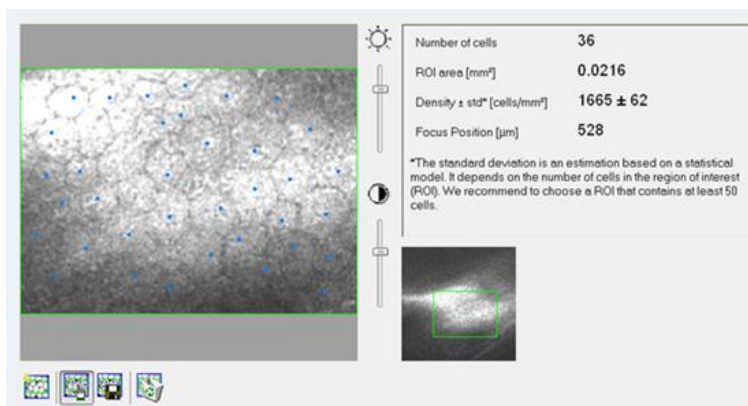


Субекти с диабет без усложнения



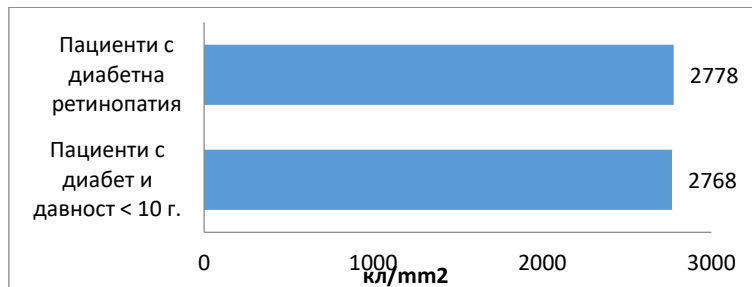
Субекти с диабет и непролиферативна диабетна ретинопатия

Фиг. 18 . Конфокална микроскопия на ендотел



Фиг. 19. Преброяване на ендотелни клетки при пациенти с диабет

При субекти от втората група ендотелната плътност е редуцирана до 2768 ± 16 кл/мм². При третата група пациенти с диабетна ретинопатия плътността също е редуцирана, като няма сигнификантна разлика с резултатите от втората група – 2778 ± 12 кл/мм² (Фиг. 20).



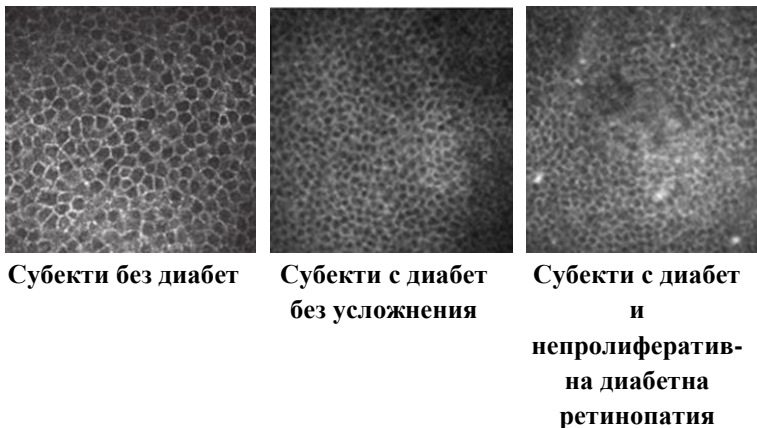
Фиг. 20. Количествен анализ на ендотелните клетки при субекти с диабет с/без диабетна невропатия/ретинопатия

3. Сравнителен анализ

Епител

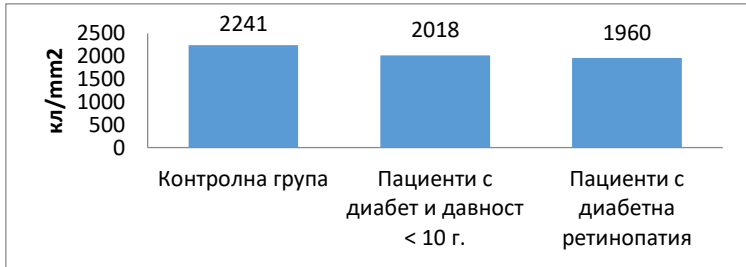
При здрави индивиди (контролна група) повърхностните клетки са с хексагонална с добре очертани светли граници и малки тъмни заоблени ядра и тъмна цитоплазма, докато при пациентите с диабет се наблюдава по-изразена полиморфност на базалния епител, като се наблюдава корелация между тежестта на диабета и клетъчния атипизъм (Фиг. 21).

Направен е количествен анализ на повърхностния епител и базалния епител. Големината на повърхностните епителни клетки е средно 40 – 50 μm в диаметър и около 5 μm дебелина. Средният брой на повърхностните епителни клетки в корнеалния епител при контролната група от 60 субекти (120 очи) е 2241 ± 224 кл/мм².



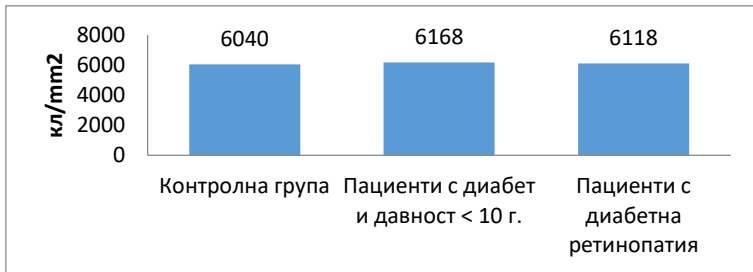
Фиг.21 . Конфокална микроскопия на базален епител на роговица при 3-те групи

При субекти от втората група с диабет с давност, по-малка от 10 години, но без клинични данни за диабетна ретинопатия и невropатия – 30 субекти/60 очи (17 жени и 13 мъже) средната плътност на повърхностните епителни клетки е 2018 ± 106 кл/mm². При третата група пациенти с диабетна ретинопатия – 30 субекти/60 очи (16 жени, 14 мъже) средната плътност на повърхностните епителни клетки е 1960 ± 104 кл/mm². Беше установена съществена разлика в средния брой на повърхностните епителни клетки при лицата в контролната група и пациентите с диабет (втора и трета група) ($p < 0.05$) (Фиг. 22).



Фиг. 22. Количествен анализ на повърхностните епителни клетки при трите групи участници

При количествения анализ на базалния епител броят на клетките в контролната група е 6040 ± 33 кл/mm² на дълбочина 80 μ m в централната част на роговицата. При субектите от втората група плътността е 6168 ± 24 кл/mm². При третата група пациенти с диабетна ретинопатия – 6118 ± 12 кл/mm² (Фиг. 23).



Фиг. 23. Количествен анализ на базалните клетки при здрави субекти и субекти с диабет с/без диабетна невропатия/ретинопатия

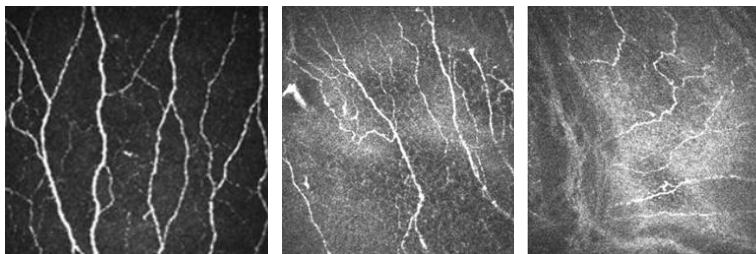
Наблюдава се значително увеличение на плътността на базалните клетки с пропорционална зависимост с давността на диабета, което може да се обясни с нарастване на честотата на синдрома на сухото око ($p < 0.05$).

Суббазален нервен плексус

Суббазалният нервен плексус се визуализира като хиперрефлекторни линейни изображения, които са с по-голям диаметър от контролната група.

При оценката на суббазалния нервен плексус се сравниха дължината на корнеалните нерви (NFL), плътността на нервните фибри (NFD) и плътността на разклоненията (NBD) при контролната група, като се наблюдава значителна редукция и на трите характеристики при субекти с диабет с обратна пропорционална зависимост на резултатите с давността на диабет (Табл. 6).

При първата група средната дължина на корнеалните нерви е $45.60 \pm 4.47 \text{ mm/mm}^2$, като се измери различна плътност на нервните фибри и техните разклонения, съответно $25.38 \pm 2.99 \text{ P mm/mm}^2$ и $11.21 \pm 0.88 \text{ mm/mm}^2$.



Субекти без диабет

**Субекти с диабет
без усложнения**

**Субекти с диабет
и
непролифератив-
на диабетна
ретинопатия**

Фиг. 24 . Конфокална микроскопия на суббазален нервен плексус при 3-те групи

Табл. 6. Количествена оценка на суббазалния нервен плексус при трите групи субекти

Характеристики на суббазален нервен плексус	Контролна Група	Втора група	Трета група
дължина на корнеалните нерви (NFL)	45.60±4.47 mm/mm ²	31.63±2.33 mm/mm ²	18.57±3.63 mm/mm ²
плътност на нервните фибри (NFD)	25.38±2.99 mm/mm ²	17.42±2.02 mm/mm ²	5.63±1.33 mm/mm ²
плътност на разклоненията (NBD)	11.21±0.88 mm/mm ²	8.05±0.71 mm/mm ²	3.01±0.39 mm/mm ²

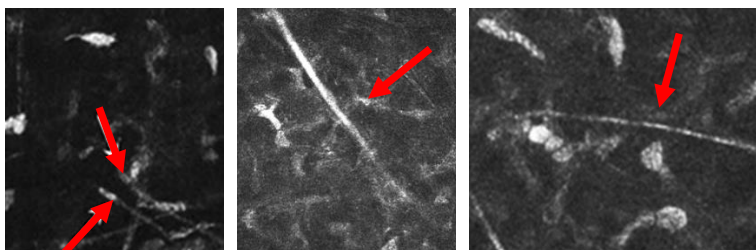
Във втората група субекти с диабет, но без ретинопатия, NFL е редуциран до 31.63±2.33 mm/mm², NFD е 17.42±2.02 mm/mm² и NBD редуциран до 8.05±0.71 mm/mm².

Значителна промяна се наблюдава при пациентите с диабет и диабетна ретинопатия – NFL е 18.57±3.63 mm/mm², NFD е 5.63±1.33 mm/mm² и NBD е 3.01±0.39 mm/mm².

Резултатите от анализа показват значително намаляване на дължината на корнеалните нерви ($p < 0,001$) между контролната група и пациентите с диабет, като разликата достига по повече от 2 пъти намаляване. Плътността на нервните фибри показва същите резултати, като разликата между контролната група и пациентите с диабетна ретинопатия е приблизително 5 пъти ($p < 0.001$). Разликата в плътността на разклоненията между контролната група и пациентите с диабетна ретинопатия е повече от 3 пъти ($p < 0.001$).

Строма

При качествения анализ на стромата не се откриват морфологични разлики в кератоцити в отделните групи субекти, като стромалните нерви са по-плътни и с по изразен тортуозитет в сравнение с контролната група.



Субекти без
диабет

Субекти с
диабет без
усложнения

Субекти с диабет и
непролиферативна
диабетна ретинопатия

Фиг. 25 . Конфокална микроскопия на стромални нерви при 3-те групи

Анализът показва значителна редукция на кератоцитите в средната строма при пациенти с диабет в сравнение с контролната група и суспектно понижение на плътността на клетките в предната и задната строма. Не се наблюдават статистически значими разлики в броя на клетките на трите нива в стромата между двете групи субекти с диабет.

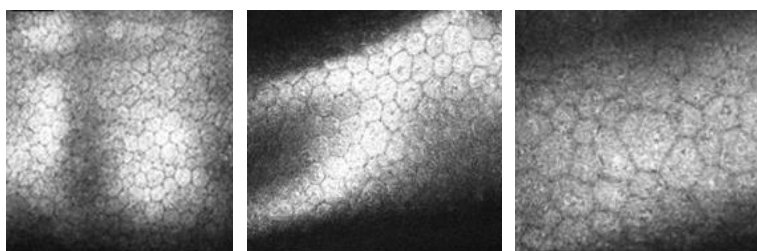
Табл. 7. Количествен анализ на кератоцити в трите групи в предната, средната и задната строма

Група	Предна строма	Средна строма	Задна строма
Контролна група	468±23 кл/mm ²	448±17 кл/mm ²	437±19 кл/mm ²
Втора група	347±18 кл/mm ²	297±18 кл/mm ²	278±23 кл/mm ²
Трета група	310±27 кл/mm ²	303±27 кл/mm ²	308±17 кл/mm ²

Ендотел

Микроструктурният анализ на ендотелните клетки показва изразен полиморфизъм и полимегатизъм при пациенти с диабет, като няма видима разлика при групите с различна давност на диабета.

Сравнителният анализ показва, че ендотелните клетки значително намаляват при пациентите с диабет ($p < 0.01$) (Фиг. 27).

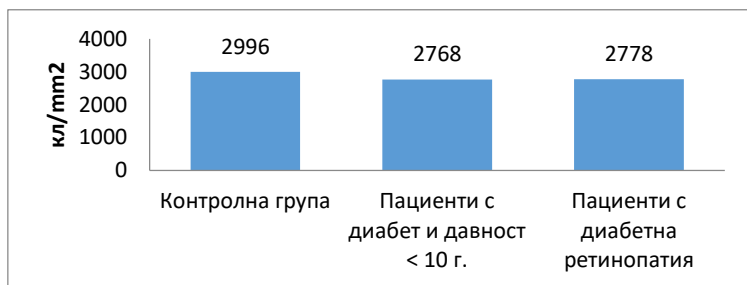


Субекти без диабет

Субекти с диабет без усложнения

Субекти с диабет и непролиферативна диабетна ретинопатия

Фиг. 26 . Конфокална микроскопия на ендотел при 3-те групи



Фиг. 27. Количествен анализ на ендотелните клетки при здрави субекти и субекти с диабет с/без диабетна невропатия/ретинопатия

Чувствителността на роговицата измерена с естезиометър при контролната група и при пациентите с диабет показва наличието на съществена разлика между двете групи ($p < 0,01$), като при пациентите с диабет се установи по-голяма честота на повишени тактилни прагове на роговицата.

Намаляването на чувствителността на роговицата може да се наблюдава веднага след диагностицирането на диабета при някои пациенти, като прага на чувствителността се повишава с увеличаване на продължителността на заболяването.

Табл. 8 Сравнителен анализ на чувствителността на роговицата

Група пациенти	Чувствителност на роговицата на дясно око (ДО)	Чувствителност на роговицата на ляво око (ЛО)
Контролна група	59,19 мм ± 3,13 мм	59,28 мм ± 2,59 мм
Пациенти с диабет	42,50 мм ± 15,31 мм	42,83 мм ± 14,91 мм
P	< 0.001	< 0.001
Пациенти с диабет без усложнения	51,21 мм ± 10,06 мм	52,75 мм ± 8,19 мм
Пациенти с непролиферативна диабетна ретинопатия	34,35 мм ± 14,98 мм	33,54 мм ± 13,79 мм
P	< 0.001	< 0.001

На табл 8 са представени резултатите от изследването на чувствителността на здравите индивиди от контролната група и пациентите с диабет без и с усложнения. Резултатите показват, че чувствителността на роговицата при пациентите с диабет е значително по-ниска в сравнение с контролната група както на дясното око, така и на лявото око ($p < 0.001$). От друга страна изследването на чувствителността на роговицата сред пациентите с диабет, показва, че състоянието се утежнява с увеличаването на давността на заболяването и появата на усложнения, като непролиферативната диабетна ретинопатия (p

< 0.001). Давността на заболяването и появата на усложнения корелира силно с чувствителността на роговицата ($r=-0.555$; $p<0.001$ за ДО и $r=-0.649$; $p<0.001$ за ЛО), като от 30,80 % до 42,10 % от намаляването на чувствителността на роговицата при пациенти с диабет се дължат на давността и усложненията от самото заболяване.

Сравнението на чувствителността на роговицата между двете очи на всеки участник в изследването, както от контролната група, така и от групата на пациентите с диабет разкрива симетрично участие.

Въпреки, че чувствителността на роговицата при жените с диабет е по-ниска от тази на мъжете не се доказва наличието на съществена разлика (съответно за ДО 43,51 мм при мъже и 41,66 мм при жени и за ЛО:43,15 мм за мъже и 42,57 мм за жени).

Възрастта на пациентите с диабет не се оказва предиктор за намаляване на корнеалната чувствителност.

Резултатите на Табл 9 показва, че без значение на какво ниво чувствителността на роговицата се смята за значително намалена, има статистически значима разлика ($P < 0.001$), както между контролната група и пациентите с диабет, така и между двете групи на пациентите с диабет с и без усложнения. Повечето пациенти с диабет имат по-високи прагове на чувствителност при допир на роговицата, отколкото контролите в група, съответстваща на възрастта и пола, и обратно, в сравнение с контролните групи, сравнително малко пациенти с диабет имат максимална чувствителност на роговицата (18 %). Пациентите с диабет имат по-голяма честота на намалена тактилна чувствителност на роговицата в сравнение с контролите, отговарящи на възрастта, пола и болестта.

Табл. 9. Чувствителност на роговицата според дължината на филамента

Група	% от очите, реагиращи на дължина на филамента, равна на		
	40 мм	50 мм	60 мм
Контролна група	98 %	97 %	96 %
Пациенти с диабет	70 %	50 %	18 %
p	< 0.001	< 0.001	< 0.001
Пациенти с диабет без усложнения	45 %	36 %	18 %
Пациенти с непролиферативна диабетна ретинопатия	25 %	12,5 %	0 %
p	< 0.001	< 0.001	< 0.001

Това проучване доказахме, че няма връзка между възрастта на пациента с диабет и наблюдаваното намаляване на чувствителността на роговицата (Табл. 10). Резултатите показват, че пациентите с диабет над 70 г. имат най-ниска чувствителност на роговицата, докато резултатите между първата и втората възрастови групи не се различават съществено.

На табл. 11 е представен модела на чувствителност на роговицата при диабетици, групирани според възрастта. Наблюдава се съществена разлика по отношение на определянето на праговете на чувствителност на роговицата в отделните възрастови групи. Еднакво отличната чувствителност на роговицата в контролната група, показва, че възрастта не е важен фактор при определянето на прага на чувствителността при здрави индивиди.

Табл. 10. Сравнителен анализ на чувствителността на роговицата според възрастовата група на пациентите с диабет

Група пациенти	Чувствителност на роговицата на дясно око (ДО)	Чувствителност на роговицата на ляво око (ЛО)
22 – 59 г.	42,56 мм ± 16,25 мм	44,63 мм ± 14,11 мм
60-69 г.	44,16 мм ± 11,84 мм	43,75 мм ± 11,70 мм
70 г. и повече	39,28 мм ± 16,43 мм	30,71 мм ± 20,29 мм
P	0.803	0.070

Табл. 11. Чувствителност на роговицата според дължината на филамента и възрастовата група на пациентите с диабет

Група	% от очите, реагиращи на дължина на филамента, равна на		
	40 мм	50 мм	60 мм
22 – 59 г.	82,9 %	60,9 %	31,7 %
60-69 г.	75,0 %	75,0 %	-
70 г. и повече	71,4 %	28,6 %	14,3 %
p	< 0.05	< 0.05	< 0.05

От друга страна, има индикации, че праговете на чувствителност на роговицата се повишават с увеличаване продължителността на диабета и пациентите с давност на диабета повече от 10 години имат значително по-ниска чувствителност (Табл. 12 и табл. 13).

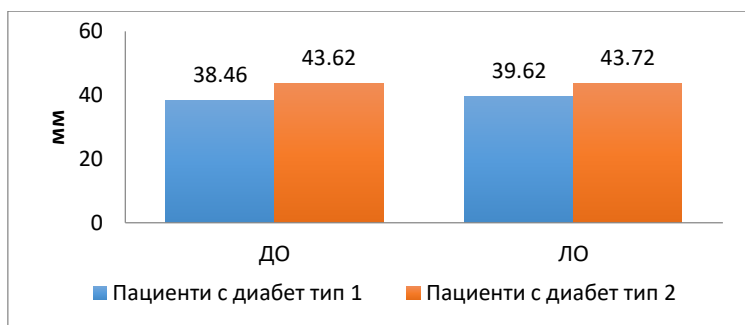
Типа на диабета също не показва зависимост с промените в корнеалната чувствителност, въпреки, че има значителна разлика в прага на чувствителност между пациентите тип 1 и тип 2 ($p < 0.01$) (Фиг. 28).

Табл. 12. Сравнителен анализ на чувствителността на роговицата според продължителността на заболяването

Група пациенти	Чувствителност на роговицата на дясно око (ДО)	Чувствителност на роговицата на ляво око (ЛО)
Под 10 г.	51,21 мм ± 10,06 мм	52,76 мм ± 8,19 мм
Над 10 г.	34,35 мм ± 14,98 мм	33,54 мм ± 13,79 мм
P	< 0.001	< 0.001

Табл. 13. Чувствителност на роговицата според дължината на филамента и продължителността на заболяването

Група	% от очите, реагиращи на дължина на филамента, равна на		
	40 мм	50 мм	60 мм
Под 10 г.	100 %	82,7 %	48,3 %
Над 10 г.	61,3 %	38,7 %	-
p	< 0.001	< 0.001	< 0.001

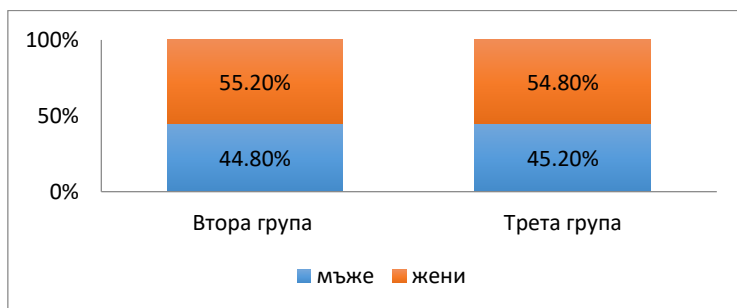


Фиг. 28. Корнеална чувствителност за ДО и ЛО според типа на диабета

4. Определяне на качеството на живот на пациенти с диабет

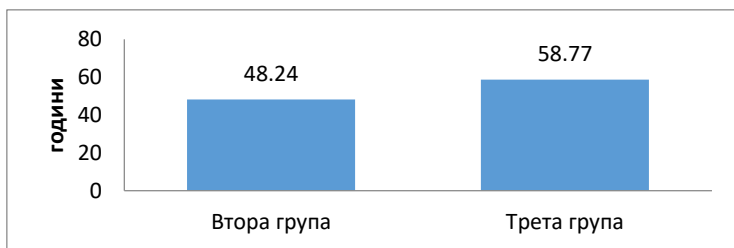
За да се определи качеството на живот на пациенти с диабет разпределени във втората и третата група (общо 60 пациенти) беше използван въпросник, чрез който се събраха данни за типа и давността на диабета, осведомеността на пациентите за контрола на заболяването, неговите усложнения. С помощта на въпросника се набави информация относно промените в качеството на зрението и очния комфорт след диагностицирането на заболяването.

И в двете групи преобладават жените, като разпределението е представено на фиг. 29. Средната възраст на извадката е 53,68 г. \pm 14,23 г. (18 – 83 г.), като беше установена съществена разлика по отношение на двете групи ($p=0.003$) (Фиг. 29).



Фиг. 29. Разпределение според пола

Въпреки, че средната възраст на жените с диабет (56,3 г. \pm 14,02 г.) е по-голяма от тази на мъжете (50,4 г. \pm 14,06 г.), не беше доказана съществена разлика.



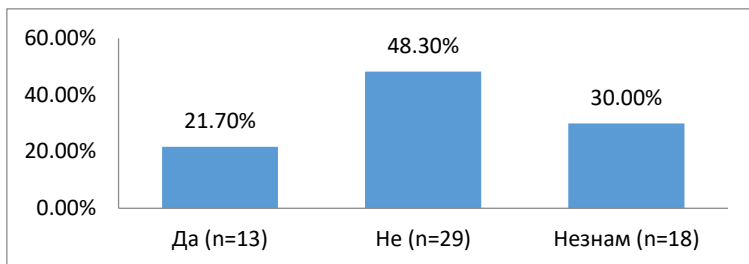
Фиг. 30. Средна възраст на пациентите с диабет

Но такава се установи по отношение на средната възраст на пациентите с диабет Тип 1 и Тип 2 ($p < 0.001$). Средната възраст на групата пациенти с диабет тип 1 е сигнификантно по-малка от тази на пациентите с диабет тип 2 (съответно 41 г. за тип 1 и 57,19 г. за тип 2).

От изследваните лица основната част 80 % посочват, че заболяването им е диагностицирано след 30-тата година. Тъй като диабет тип 1 има наследствен характер логично 84,6 % от анкетираните с този тип заболяване са диагностицирани преди 30-тата си година, докато 97,9 % от пациентите с диабет тип 2 са диагностицирани след 30-тата година ($p < 0.001$). При анализа на зависимостта между типа на диабета и възрастта, на която е диагностицирано заболяването беше намерена и силна зависимост ($r = 0,850$, $p < 0.001$).

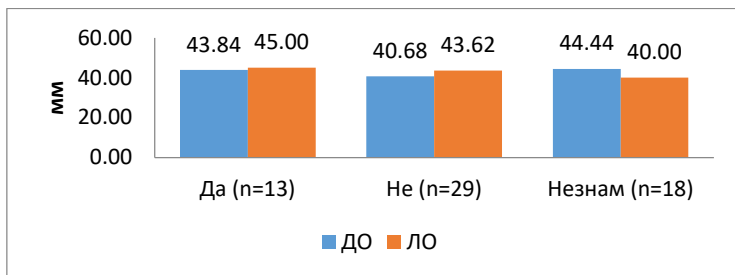
С давност на заболяването над 10 г. са 51,70 % от анкетираните.

Поддържането на нормални стойности на гликирания хемоглобин са от съществено значение за предотвратяване на усложненията от заболяването. В нашето изследване впечатление прави, че само 21,70 % от анкетираните посочват, че поддържат нормални стойности на гликирания си хемоглобин (Фиг. 31).



Фиг. 31. Поддържане на нормалните стойности на гликирания хемоглобин

Не беше установена съществена разлика в уменията на пациентите да поддържат нормални стойности на гликирания хемоглобин според типа на диабета, както и според пола и давността на заболяването.

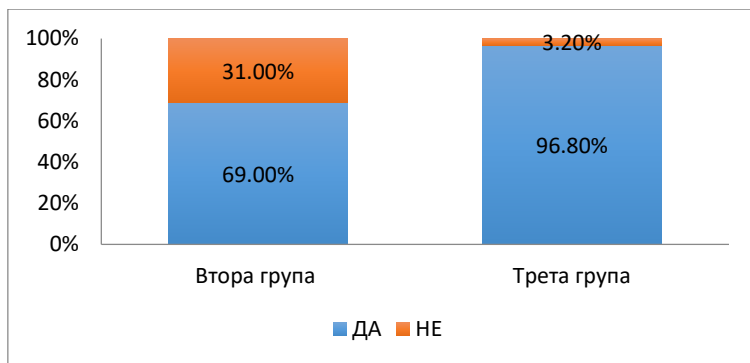


Фиг. 32. Поддържане на нормалните стойности на гликирания хемоглобин и корнеална чувствителност

Въпреки, че не се доказа съществена разлика в корнеалната чувствителност на пациентите с диабет, които поддържат или не нормални стойности на гликирания хемоглобин. Тези, които поддържат нормални стойности на гликирания си хемоглобин имат по-добра чувствителност на роговицата (Фиг. 32).

Над $\frac{3}{4}$ (78,30 %) от пациентите посочват, че са запознати със заболяването диабет и неговите усложнения, като не се установи съществена разлика по отношение на типа на диабета, давността, пола и поддържането на нормални стойности на гликирания хемоглобин.

Значителната част (83,30 %) са запознати, че диабетът уврежда очите, като 100 % от пациентите с диабет тип 1 са категорични, че знаят за увреждането на очите при диабет, а на подобно мнение са 78,7 % от пациентите с диабет тип 2.



Фиг. 33. Информираност относно увреждането на очите от диабета

Съществена разлика беше установена при пациентите от втора и трета група ($p=0.004$), като пациентите от третата група са по-запознати с факта, че диабета уврежда зрението (Фиг. 33).

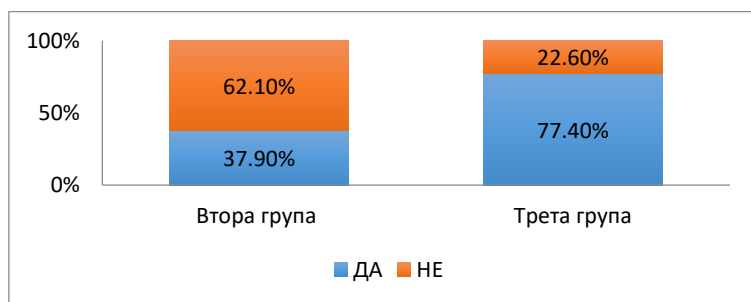
Не беше установена разлика в информираността на пациентите според пола. Впечатление прави, че въпреки, че основната част от пациентите са посочили, че са запознати с увреждането на зрението от диабета 50,0 % от тях не поддържат нормални стойностите на гликирания си хемоглобин.

При анализа на връзката между информираността за заболяването и неговите усложнения и увреждането на зрението, като резултат от прогресирането на диабета установихме наличието на силна зависимост ($r=0.633$; $p<0.001$), като 90 % от пациентите които са информирани за заболяването и усложненията до които води са наясно, че неконтролирания диабет води до увреждане на зрението.

Качеството на зрението се е променило при 58,30 % от анкетиранияте пациенти. По-голям относителен дял в промяната на качеството на зрението имат пациентите с тип 2 (61,70 % към 46,2 % за тип 1).

Умерена зависимост беше установена по отношение на промяната в качеството на зрението и давността на заболяването ($r=-0.40$; $p= 0.002$), която показва, че с увеличаването на давността на заболяването качеството на зрението значително намалява (фиг. 34).

Не се установи значителна разлика в промяната на качеството на зрението и контролирането на нормалните нива на гликирания хемоглобин и пола. От друга страна разлика относно промяната в качеството на зрението беше установена при по-възрастните пациенти над 55 г. ($p=0.007$) (фиг. 35).

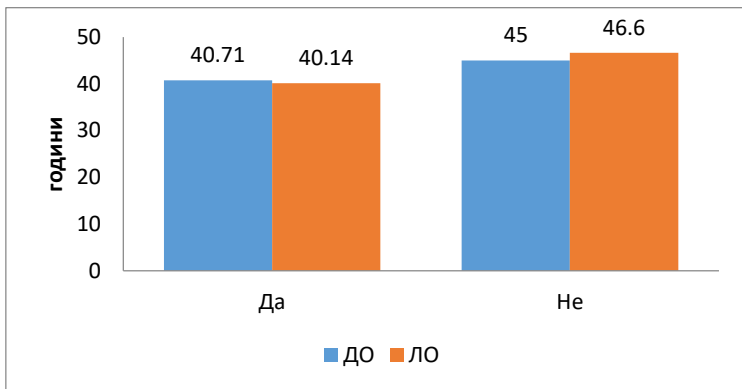


Фиг. 34. Промяна в качеството на зрението

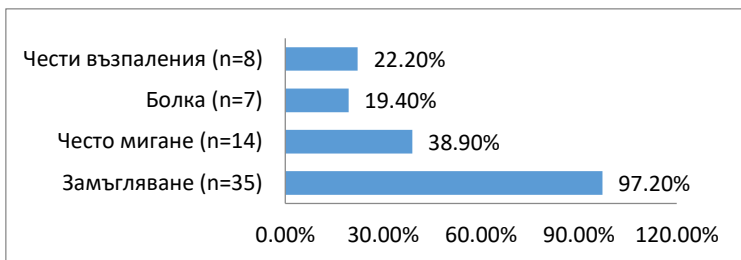


Фиг. 35. Промяна в качеството на зрението според средната възраст на пациентите с диабет

При пациентите с диабет, които са посочили, че качеството им на зрение се е променило установихме намалена корнеална чувствителност ($p < 0,05$) (съответно 40,71 мм и 40,14 мм за ДО и ЛО) (Фиг. 36).



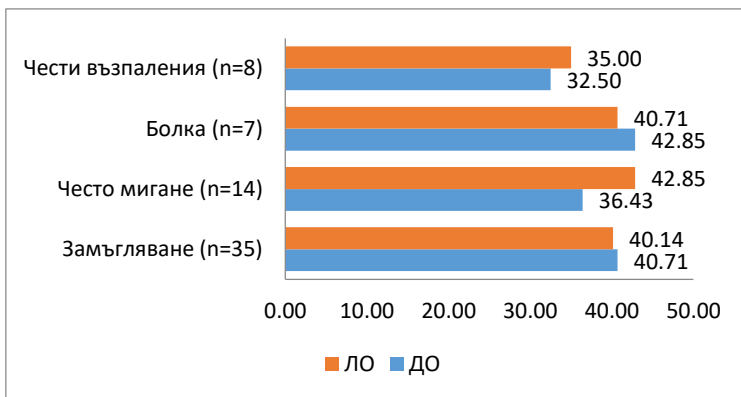
Фиг. 36 Промяна в качеството на зрението според средната възраст на пациентите с диабет



Фиг. 37. Видове промяна в качеството на зрението

Резултатите от фиг. 37 показват, че основно пациентите с диабет се оплакват от замъгляване (97,20 %) следвано от често мигане (38,90 %). Разлика се установи само по отношение на честотата на мигане при мъжете и жените ($p=0.002$), като само 7,1 % от мъжете посочват, че мигат често, докато при жените този процент е 59,1 %.

Резултатите от анализа на чувствителността на роговицата показват, че пациентите с чести възпаления имат най-ниски резултати (Фиг. 38).

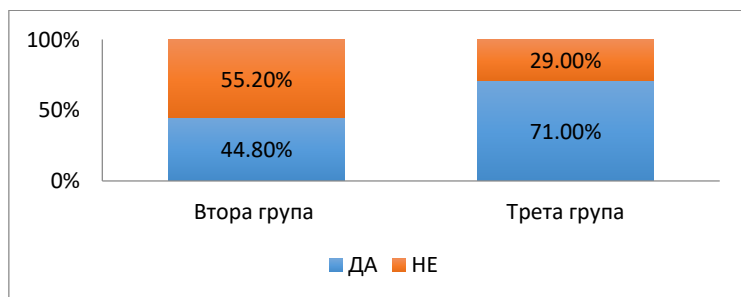


Фиг. 38 Видове промяна в качеството на зрението и корнеална чувствителност

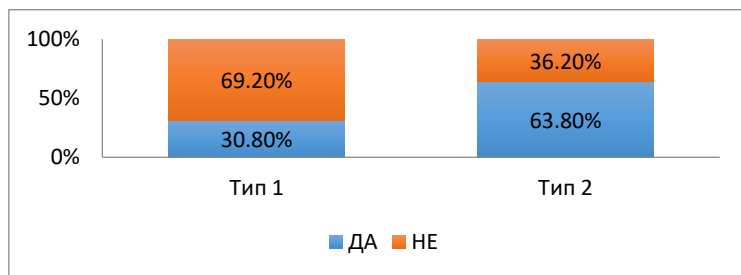
Средния брой промени в качеството на зрението е $1,82 \pm 1,07$, като преобладава предимно една промяна (54,30 %), следвана от две промени (20,0 %), три (14,3 %) и четири (11,4 %).

Над половината от пациентите (58,3 %) посочват, че са имали промени в зрението при диагностициране на заболяването, като по-израена е честотата сред пациентите с давност на заболяването над 10 г. ($p=0.036$) (Фиг. 39).

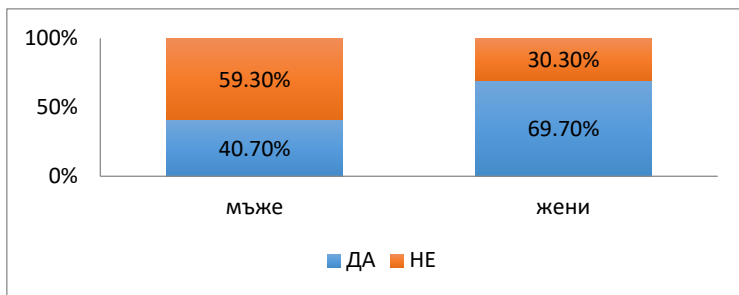
От сухота в очите се оплакват 56,7 % от пациентите (34 пациента). Основно пациенти с диабет тип 2 (63,80 %) ($p=0.035$) (Фиг. 40) и жени (69,70 %) ($p=0.023$) (Фиг. 41).



Фиг. 39. Промяна в зрението, след диагностициране на заболяването

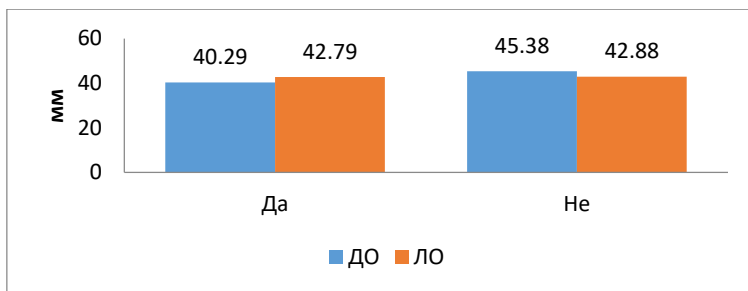


Фиг. 40. Сухота в очите според типа на диабета



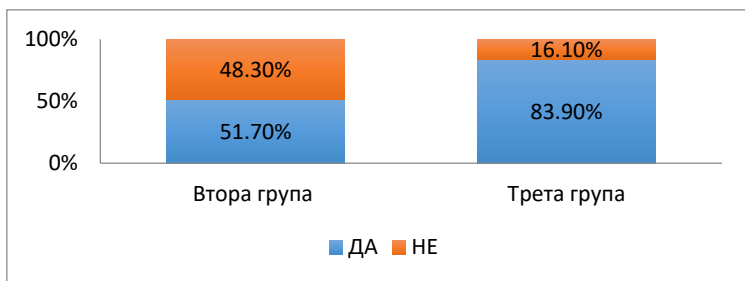
Фиг. 41. Сухота в очите според пола

Пациентите с диабет, които имат сухота в очите са с по-ниски стойности на корнеалната чувствителност (Фиг. 42).



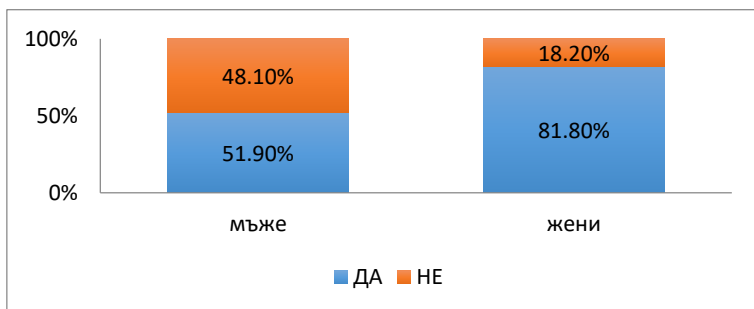
Фиг. 42 Сухота в очите и корнеална чувствителност

Над 2/3 (68,30 %) от пациентите посочват, че очите им са станали по-чувствителни към дим, изсушаване, прах след развитие на диабета. Логично чувствителността на очите се увеличава с давността на заболяването, където 83,90 % от пациентите от трета група (с давност на заболяването над 10 г.) се оплакват от повишена чувствителност към дим, изсушаване, прах и студ ($p=0.008$) (Фиг. 43).



Фиг. 43. Промяна в чувствителността на очите към дим, изсушаване, прах и студ

От по-голяма чувствителност на очите към дим, изсушаване, прах и студ се оплакват и жените в сравнение с мъжете ($p=0.014$) (Фиг. 44).

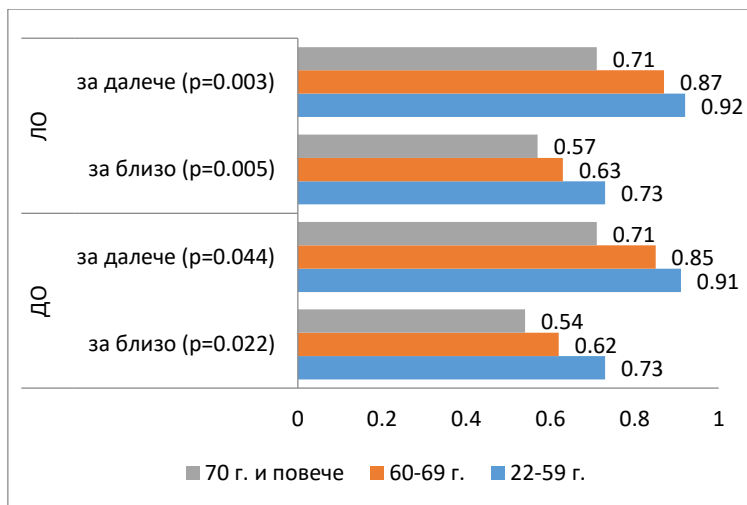


Фиг. 44. Промяна в чувствителността на очите към дим, изсушаване, прах и студ според пола

Значителната част от пациентите, които са посочили, че се оплакват от сухота в очите имат и по-голяма чувствителност към дим, изсушаване, прах и студ (91,2 %). Между двата фактора, сухота в очите и повишена чувствителност към дим, изсушаване, прах и студ беше намерена значителна зависимост ($r=0.562$; $p<0.001$), като вероятността пациент със сухо око, да се

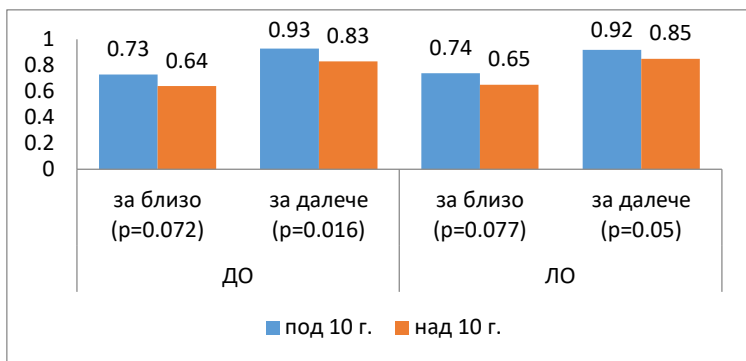
оплаче от повишена чувствителност към дим, изсушаване, прах и студ е 31,58 %.

На фиг. 45 е представена зрителната острота за близо и далече при пациенти с диабет според възрастовата група. Резултатите показват значително намаляване на зрителната острота с нарастването на възрастта и за двете очи както за близо, така и за далече.



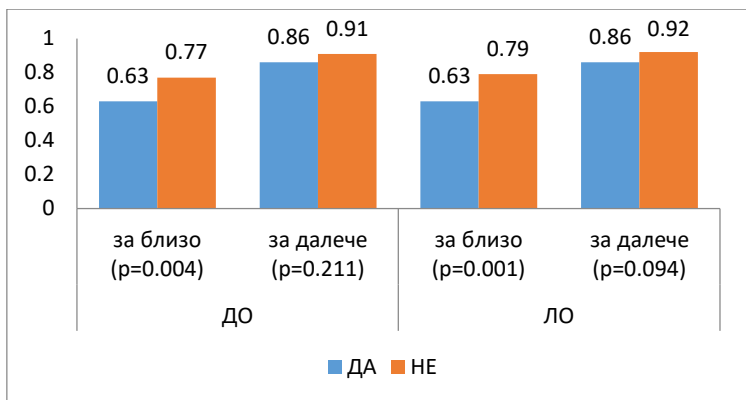
Фиг. 45. Зрителна острота според възрастта на пациентите с диабет

От друга страна не беше установена съществена разлика в зрителната острота според пола и типа на диабета, но значителна разлика в зрителната острота за далече беше намерена по отношение на продължителността на заболяването. Пациентите с давност на диабета повече от 10 г. имат по-ниска зрителна острота както за близо, така и за далече (Фиг. 46).



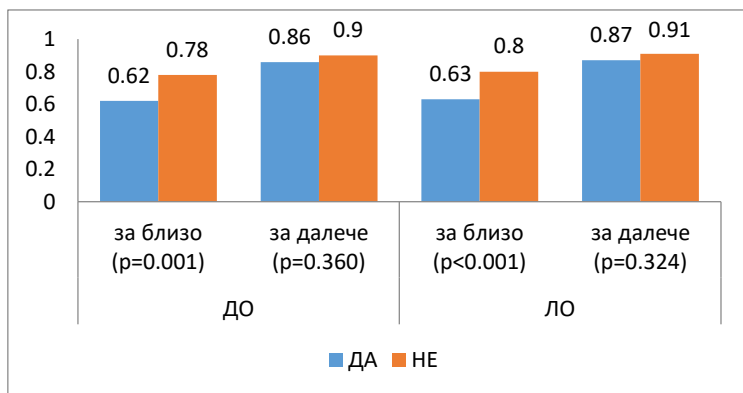
Фиг. 46. Зрителна острота според продължителността на заболяването

При диабетичите с промени в качеството на зрението беше установена съществена разлика в зрителната острота за близо и в двете очи, като зрителната острота е съществено по-ниска при пациентите, които са посочили, че качеството им на зрението се е променило (Фиг. 47).



Фиг. 47. Промени в качеството на живот на пациентите с диабет и зрителна острота

Промените в зрението след диагностициране на заболяването в нашето изследване се отнасят предимно към зрителната острота за близо, като при пациентите, които са посочили, че зрението им се е променило в следствие на диабета имат значително по ниски стойности на зрителната острота (Фиг. 48).



Фиг. 48. Промени в зрението след диагностициране на заболяването и зрителна острота

Резултатите от нашето изследване показват, че зрителната острота за близо е значително по-засегната от заболяването, отколкото тази за далече.

На табл. 14 са представени резултатите от изследване на качеството на живот при пациенти с диабет според NEI VFQ-25. Резултатите от анализа показват, че съществена разлика в подскалине на свързаното със зрението качество на живот при пациентите с диабет без усложнения и при тези с диабет и непролиферативна диабетна ретинопатия има съществена разлика по отношение на общата оценка за зрението, очната

болка, затруднения в изпълнението на дейностите, цветното зрение и периферното зрение.

Табл. 14. Срена оценка на подskalите на NEI VFQ-25 при пациентите с диабет

Подskали на NEI VFQ-25	Общо (n=60)	Пациенти с диабет без усложнения (n=30)	Пациенти с непролиферативна диабетна ретинопатия (n=30)	P
Общо здравословно състояние	49.5±22.9	50.5±22.9	45.7±22.6	>0.05
Обща оценка на зрението	75.8±15.5	76.5±15.3	68.1±17.0	<0.01
Очна болка	84.7±18.4	83.9±13.9	73.1±18.2	<0.01
Зрение за близо	89.1±14.2	89.3±13.9	87.9±14.2	>0.05
Зрение за далече	94.0±10.9	94.1±10.5	92.9±12.5	>0.05
Социално функциониране	97.1±8.8	97.3±8.2	96.1±10.5	>0.05
Психично здраве	87.6±11.7	88.3±11.6	85.7±12.2	>0.05
Затруднения в изпълнението на дейностите	91.6±17.1	90.9±17.7	81.2±17.1	<0.05
Зависимост от други лица	98.1±8.3	98.1±8.3	98.0±7.5	>0.05
Шофиране	93.1±11.5	93.7±10.5	91.5±12.5	>0.05
Цветно зрение	98.0±8.3	98.2±7.8	86.1±11.7	<0.01
Периферно зрение	95.3±12.3	95.6±11.8	82.4±15.8	<0.01

Пациентите с диабет и пролиферативна диабетна ретинопатия имат по-ниско качество на живот, като резултатите потвърждават и тези по отношение на зрителната острота, където пациентите показват по-ниска зрителна острота за близо и

по-ниски резултати за КЖ. От друга страна по-високите резултати на зрителната острота за далече корелират с по-добро КЖ в тази подскала.

За оценка на валидността и надеждността преведената на български версия на NEI VFQ-25 е изчислен коефициента за надеждност Cronbach's α , като резултатите са представени на таблица 15.

Табл. 15. Валидност на подskalите на NEI VFQ-25

Под скали NEI VFQ-25	Cronbach's α
Общо здравословно състояние	0.925
Обща оценка на зрението	0.905
Очна болка	0.835
Зрение за близо	0.970
Зрение за далече	0.960
Социално функциониране	0.900
Психично здраве	0.890
Затруднения в изпълнението на дейностите	0.885
Зависимост от други лица	0.935
Шофиране	0.950
Цветно зрение	0.875
Периферно зрение	0.820

Резултатите от проведения анализ показват, че преведената на български език версия на NEI VFQ-25 показва висока надеждност и валидност и резултатите за оценка на КЖ при пациенти с диабет могат да се приемат за достоверни.

ДИСКУСИЯ

Диабета е едно от основните предизвикателства за общественото здраве на 21 век и от мнозина се счита за глобална епидемия [87]. Разпространението на диабета за всички възрастови групи в целия свят е 2,8% през 2000 г. и 4,4% през 2030 г. Предвижда се общият брой на диабетиците да нарасне от 171 милиона през 2000 г. на 366 милиона през 2030 г. [87] Епидемиологичните проучвания показват, че диабета е по-разпространен сред градското население, което се увеличава в развиващите се страни. Прогнозите са, че градското население ще се удвои между 2000 и 2030 г. и ще има пропорционално увеличение на броя на пациентите с диабет, особено тези над 65 години [87].

Диабета води до намаляване на зрителната острота, оток на лещата и увреждане на ретината.

Сензорната инервация на роговицата е основен фактор за здравето на епитела. Резултатите от редица изследвания показват, че плътността на роговичните нерви е намалена при пациенти с диабет тип 1. [9] Но в последните години се установява, че и двата типа диабет са свързани с намаляване на плътността на роговичните нерви, както и с други аномалии на нерва [123, 72, 83, 46, 139, 140]. Резултатите от нашето изследване напълно потвърждават тези на другите изследователи, тъй като установихме значителна разлика в дължината на роговичните нерви, плътността на нервните фибрили и разклоненията между лицата в контролната група и пациентите с диабет табл. 16.

Табл. 16. Проучвания за приложението на конфокална микроскопия на роговицата за оценка на усложнения от диабета

Автор	Брой пациенти (пациенти с диабет/контроли)	Основни резултати
Ziegler et al., 2014	86Т2/48	1) Намаляване на стойностите при пациенти с диабет тип 2 спрямо контролите на NFL (P = 0,001), NFD (P <0,001), NBD(P <0,001) 2) NFD сред пациентите с диабет тип 2: стойностите са намалени под 2.5-ия перцентил с 21%
Petroopoulos et al. 2014	186/55	1) Увеличаване на тежестта на диабетната невропатия: значително намаляване на NFD (P <0,0001), NBD (P <0,001) и NFL (P <0,0001) 2) Наличие на корелация за NFD (r = 0,9, P <0,0001), NFL (r = 0,89, P <0,0001) и NBD (r = 0,75, P <0,0001) 3) Най-висока диагностична ефективност: NFD и NFL
Stem et al., 2014	25 Т1 без усложнения, 18 Т2с усложнения/9	1) Тежка диабетна невропатия: по-ниски стойности на NFL спрямо контролите (12.5 ± 6.1 mm/mm ² срещу 20.7 ± 2.2 mm/mm ² , P = 0.009) 2) пациенти с диабет тип 1 без усложнения: по-ниски стойности на NFL спрямо контролите (15.1 ± 4.7 mm/ mm ² срещу 20.7 ± 2.2 mm/mm ² , P = 0.033)
Petroopoulos et al. 2013	111/47	1) NFD, NBD и NFL: симетрична патология (с изключение на пациенти с тежка диабетна невропатия) 2) NFD: значително (P <0,001) намаление между контролите и пациентите с диабет с увеличаване на тежестта на диабетната невропатия 3) NBD: значително (P <0,001) намаление между контролите и пациентите с диабет с увеличаване на тежестта на диабетната

		<p>невропатия</p> <p>4) NFL: значително ($P < 0,001$) намаление между контролите и пациентите с диабет с увеличаване на тежестта на диабетната невропатия</p>
Pritchard et al. 2014	242 T1/154	<p>1) NFL: по-ниски стойности при пациенти с диабет тип 1 с диабетна невропатия ($14.0 \pm 6.4 \text{ mm/mm}^2$) срещу пациенти с диабет тип 1 без диабетна невропатия ($19.1 \pm 5.8 \text{ mm/mm}^2$) и контроли ($23.2 \pm 6.3 \text{ mm/mm}^2$) ($P < 0.001$)</p> <p>2) NFL: по-ниски стойности при пациенти с диабет тип 1 без диабетна невропатия ($19.1 \pm 5.8 \text{ mm/mm}^2$) спрямо контролите ($23.2 \pm 6.3 \text{ mm/mm}^2$) ($P < 0.001$)</p> <p>3) NBD: по-ниски стойности при пациенти с диабет тип 1 с диабетна невропатия ($40.1 \pm 32.1 \text{ mm/mm}^2$) срещу пациенти с диабет тип 1 без диабетна невропатия ($61.7 \pm 37.2 \text{ mm/mm}^2$) и контроли ($83.5 \pm 45.8 \text{ mm/mm}^2$) ($P < 0.001$)</p> <p>4) NBD: по-ниски стойности при пациенти с диабет тип 1 без диабетна невропатия ($61,7 \pm 37,2 \text{ mm/mm}^2$) спрямо контролни ($83,5 \pm 45,8 \text{ mm/mm}^2$) ($P = 0,001$)</p>
Собствено изследване, 2019	120/60	<p>1) NFD: значително ($P < 0,001$) намаление между контролите и пациентите с диабет с увеличаване на тежестта на диабетната непролиферативна ретинопатия</p> <p>2) NBD: значително ($P < 0,001$) намаление между контролите и пациентите с диабет с увеличаване на тежестта на диабетната непролиферативна ретинопатия</p> <p>3) NFL: по-ниски стойности при пациенти с диабет с диабетна непролиферативна ретинопатия</p>

		<p>($18.57 \pm 3.63 \text{ mm/mm}^2$) срещу пациенти с диабет без диабетна непролиферативна ретинопатия ($31.63 \pm 2.33 \text{ mm/mm}^2$) и контроли ($23.2 \pm 6.3 \text{ mm/mm}^2$) ($P < 0.001$)</p> <p>4) NFD: по-ниски стойности при пациенти с диабет с диабетна непролиферативна ретинопатия ($5.63 \pm 1.33 \text{ mm/mm}^2$) срещу пациенти с диабет без диабетна непролиферативна ретинопатия ($17.42 \pm 2.02 \text{ mm/mm}^2$) и контроли ($25.38 \pm 2.99 \text{ mm/mm}^2$) ($P < 0.001$)</p> <p>5) NBD: по-ниски стойности при пациенти с диабет с диабетна непролиферативна ретинопатия ($3.01 \pm 0.39 \text{ mm/mm}^2$) срещу пациенти с диабет без диабетна непролиферативна ретинопатия ($8.05 \pm 0.71 \text{ mm/mm}^2$) и контроли ($11.21 \pm 0.88 \text{ mm/mm}^2$) ($P < 0.001$)</p>
--	--	--

При здрави индивиди възрастта предизвиква леко, но значително ($P = 0,02$) линейно намаляване на NFL: това се изчислява като линеен спад с $0,05 \text{ mm} / \text{mm}^2$ за всяка добавена година след 54-годишна възраст. [22] При диабет тип 1 след 4-годишно проследяване се наблюдава значително намаляване на NFD във връзка с възрастта ($P = 0,04$) и продължителността на заболяването ($P = 0,03$) [21]. Малките промени в нервните влакна на роговицата са показателни за клиничната оценка на диабетната невропатия след 4-годишна давност на диабет тип 1 [97]. Установено е, че по-ниските стойности на NFL са свързани с диабетна невропатия при 4-годишна давност на диабет тип 1 ($P = 0,041$). NFL разрезът от 14.1 mm/mm^2 може да предскаже развитието на диабетна невропатия след 4 години с 63% чувствителност и 74% специфичност [97].

При проведено четиригодишно кохортно изследване на пациенти с диабет в Австралия и Великобритания се е установило, че намаляването на плътността на суббазалния нервен плексус е характерна проява на диабетна невропатия на роговицата, с демонстрирана прогресия във времето [21]. Тези резултати се потвърждават и в нашата извадка, като плътността на корнеалните нерви, а значително по-малка при пациентите с давност на заболяването над 10 г. сравнена както със здрави индивиди, така и с пациенти с диабет с давност на заболяването под 10 г. Тези резултати доказват, че съществува значителна зависимост между измененията в плътността на роговичните нерви и давността на диабета.

Един от основните начини за контролиране на диабета е добрият гликемичен контрол. В нашата извадка установихме, че по-малко от $\frac{1}{4}$ от анкетираните лица с диабет поддържат нормални стойности на гликирания си хемоглобин. Някои автори в опита си да разберат механизмите на увреждане и възстановяване на функцията на роговичните нерви са провели изследвания сред пациенти с диабет тип 1 и тип 2 и са стигнали до заключението, че добрият гликемичен контрол е в състояние да подобри, но не и напълно да възстанови нервите на роговицата. [133, 134]

Установено е, че параметрите на роговичните нерви съответстват на диабетна периферна невропатия и автономна невропатия и са основна причина за заболяемост и лошо качество на живот при пациенти с диабет. [(23, 73, 91, 96, 21, 27, 114, 118, 61, 17)] Поради това ранното откриване на високорискови пациенти може да предотврати хода на заболяването с мерки като по-добри грижи за очното здраве за подобряване на резултатите от контролиране на заболяването „диабет“ и неговите усложнения.

Резултатите от нашето изследване потвърждават, че чувствителността на роговицата е намалена при пациенти с

диабет в сравнение с контролната група. Почти 50% от пациентите не откриват приложената максимална стимулираща температура, което показва, че топлинният им праг е над тази стойност. По този начин средният праг за топлинна стимулация на цялата група пациенти с диабет беше по-висок, отколкото в контролната група, въпреки факта, че фракцията на пациенти с диабет, които са отговорили на топлинната стимулация, има по-нисък среден праг от този на контролната група. Повърхностната температура на роговицата е по-ниска при пациентите с диабет, отколкото при здрави индивиди, съответстващи на възрастта и пола. [113] Следователно се очаква топлинните стимулации, прилагани върху по-студените роговици, да предизвикат повишаване на температурата на повърхността на роговицата, което може да бъде под прага на активиране на полимодалните ноцицептори.

Това може да обясни отчасти защо приблизително 50% от пациентите с диабет не са реагирани на топлина в изследвания температурен диапазон. Въпреки това, разликите в температурата на роговицата между диабетици и нормални индивиди не могат да обяснят по-ниската чувствителност към студ, наблюдавана при пациентите с диабет, тъй като обратният аргумент се прилага за стимулацията на студа, като в по-студените роговици се очаква да доведат до по-изразени понижения на температурата и по-силно активиране на студените терморептори. Като цяло нашите резултати показват, че при пациенти с диабет са нарушени всички условия на усещане за роговицата.

Сравнително краткият диапазон на температурите на топлинните стимули, представлява ограничение, тъй като често е необходимо повишаването на температурата на роговицата да бъде до или над $+2,1$ ° C, за да предизвика усещане при заболявания, при които чувствителността на роговицата е намалена, [31, 32] включително диабет.

Предишни проучвания при пациенти с диабет, извършени предимно с естезиометър Cochet-Bonnet, доказват намалена чувствителност на роговицата към механична стимулация. [45, 103, 104, 117] Нашите резултати показват, че роговицата на пациенти с диабет имат и по-ниска чувствителност към химични, топлинни и студени стимули, което показва, че метаболитното заболяване засяга всички функционални класове на сензорните неврони на роговицата и/или нейните периферни аксони.

Средната чувствителност на роговицата на здрави индивиди от контролната група, измерена с естезиометър е $59,19 \text{ мм} \pm 3,13 \text{ мм}$ за ДО и $59,28 \text{ мм} \pm 2,59 \text{ мм}$ за ЛО, като тези резултати потвърждават данните съобщени от Zhivov et al . ($59 \text{ мм} \pm 18 \text{ мм}$). Подобни са и резултатите по отношение на пациентите с диабет, като нашите данни са $42,50 \text{ мм} \pm 15,31 \text{ мм}$ и $42,83 \text{ мм} \pm 14,91 \text{ мм}$, съответно за ДО и ЛО, а тези на Zhivov et al . са $43 \text{ мм} \pm 11 \text{ мм}$. [138]. За подобни резултати съобщава и Ruben, който установява значително намалена чувствителност на роговицата при пациенти с диабет [104].

Тези резултати контрастират с други очни патологии, също придружени от сензорни дефицити на роговицата като HSV кератит, при който отговорите към механичните, топлинни и химични стимули, но не и стимулация на студа са нарушени, което предполага, че съществено са засегнати само полимодалните ноцицептивни неврони. [33]

Чувствителността на роговицата към механична, химическа, топлинна и студена стимулация при здрави лица намалява с възрастта. Murphy et al. [79] съобщават, че намаляването на чувствителността на роговицата с възрастта, измерена с импулси на въздуха при стайна температура, приложени с безконтактен роговичен естезиометър, при здрави пациенти е същата като при пациенти с диабет. В нашето изследване също не се установиха разлики, като

чувствителността при пациентите с диабет, също както и контролната група постепенно намалява. Чувствителността на роговицата е равномерно намалена при млади и стари пациенти с диабет, тип 1 или тип 2, и също е зависима от давността на заболяването, тежестта на ретинопатия и давността на ретиналната лезия. Тези открития показват, че сензорният дефицит се появява в ранните стадии на заболяването и точното определяне на нарушенията в чувствителността на роговицата при пациенти с диабет би могло да предостави полезна информация за нивото на невропатично увреждане в началните етапи на заболяването.

Установихме, че при пациенти с диабет тип 2 чувствителността към механични и химични стимули е силно нарушена, отколкото при пациенти с диабет тип 1, докато топлинната чувствителност (топлина и студ) е повлияна еднакво и при двата типа. Втората разлика между пациентите с диабет тип 1 и тип 2 е, че при пациенти с диабет тип 1 механичната чувствителност намалява с времето след появата на заболяването, докато при пациенти с диабет тип 2 сензорната загуба е независима от времето на развитие на болестта. Описан е и различен времеви курс за диабетна периферна невропатия при пациенти с диабет тип 1 и тип 2, като в последния, невропатията обикновено се развива в ранните етапи на заболяването и трябва да бъде установена в момента на поставяне на диагнозата, докато при пациенти от тип 1 скринингът на диабетната периферна невропатия се препоръчва 5 години след поставянето на диагнозата. [12] В съответствие с нашите резултати, чувствителността на роговицата трябва да се измерва при пациенти с диабет тип 2 по време на диагнозата, за да се открие ранното начало на невропатичната сензорна загуба.

По същия начин, периодичните измервания на роговичната чувствителност при пациенти с диабет тип 1 от момента на диагнозата могат да послужат за добър скрининг на

еволюцията на невропатичния статус на пациента. Това би позволило приемането на превантивни действия, които са важни, като се има предвид, че пациентите с диабет с периферна невропатия, симптоматична или не, са изложени на по-висок риск от развитие на трофични промени в роговицата.

Болката, свързана с диабетна невропатия, е свързана със свръхвъзбудимост на увредените първични сензорни неврони и техните периферни аксони и с отклоняващото се спонтанно генериране на импулс.

По същия начин при хората се предполага, че централните невропатични механизми като таламична дисфункция имат важен принос за болката, преживяна при диабет [29].

Очната хипералгезия е необичайна при пациенти с диабет, което предполага, че намалената чувствителност към естествените стимули, водещи до периферното увреждане на очните сензорни нерви, описани в настоящото проучване, е основният ефект на диабета върху болката в очите.

Повечето от промените в очната повърхност, съобщени при пациенти с диабет, са вторични за намаляване на чувствителността на роговицата и за наличието на очна сухота. [19, 45, 79, 102, 103, 104, 118]

Хората с диабет са по-засегнати от сухото око отколкото тези без диабет. [30, 50, 56, 80, 106] Признаците и симптомите могат да варират от пациент до пациент и включват очен дискомфорт, болка, замъглено зрение, язви на роговицата и тежки случаи слепота. [51, 72]

В настоящото проучване установихме значителна връзка между сухото око и диабет тип 2 ($P = 0,003$), както и сухо око и диабет тип 1 ($P = 0,003$), което съответства на по-ранни проучвания за диабет тип 2 [62, 100, 141] и за тип 1. [110] Интерес представлява, че в нашето изследване честотата на

оплакванията за сухо око сред пациентите с диабет беше по-висока при пациентите с диабет тип 2.

Известно е също, че освен че е невротрофна, загубата на роговично усещане намалява и производството на сълзи, тъй като рецепторите на роговицата са аферентният крайник на слъзната редукция. [9] Намаляването на инервацията на роговицата е свързано с нарушена функция на слъзните жлези, както и с по-чести и тежки симптоми на сухота в очите при пациенти с диабет. [3, 23, 59, 60, 74, 86, 135, 136]

Сухото око от своя страна може да е следствие от периферната невропатия, която би намалила сензорния вход на роговицата в централната нервна система, като по този начин намалява базалната [88] и рефлекторно предизвиква секреция на сълзи [4] и уврежда автономните нервни влакна, които регулират секрецията на слъзната жлеза. [19, 105]

Загубата на сетивността на роговицата при диабетици е документирана в различни проучвания, тъй като първо се изследва за наличието на съпътстваща глаукома при пациенти с диабет [11]. Schultz et al. [108] установяват намаление на чувствителността на роговицата при 18% от групата случайно подбрани пациенти с диабет. Това се потвърждава от Dogru et al. [24], който допълнително съобщава, че чувствителността на роговицата е значително по-ниска при диабетици с лош метаболитен контрол и периферна невропатия.

Nuho et al. [84] съобщават, че чувствителността на роговицата е намалена при две групи диабетици (едната е с периферна невропатия, а другата без невропатия). В групата на периферна невропатия всички (100%) имат ниска чувствителност на роговицата, докато 75% от пациентите без периферна невропатия имат намалена чувствителност на роговицата. По подобен начин Tavakoli et al. [117] демонстрират, че намаляването на чувствителността на роговицата при диабетици прогресира с тежестта на

невропатията, което предполага, че увреждането на роговичните нервни влакна придружава соматично увреждане на нервните влакна. Pritchard et al. [95] изследват връзката между чувствителността на роговицата и мерките за диабетна периферна невропатия при 93 диабетици с периферна невропатия, 146 диабетици без невропатия и 61 контроли, използвайки безконтактен роговичен естетометър, система за оценяване на диабетната невропатия, електрофизиологични параметри и количествени системи за оценка. Те стигат до заключението, че намаляването на чувствителността на роговицата, макар и да не е силно свързано, е свързано с други функционални мерки на диабетната периферна невропатия и може да осигури полезна информация за идентифициране на загубата на функция на целостта на малките нервни влакна.

Лошият диабетен контрол води до повишена стромална хидратация и намалена способност за възстановяване от оток, предизвикан от контактни лещи.

Има много различни инструменти, които могат да се използват за измерване на свързаното със зрението качество на живот при пациенти с диабет. (1, 4)

Съществуват данни, че VFQ-25 е добър инструмент за оценка на свързаното със зрението качество на живот при пациенти с диабет, тъй като той обхваща не само психичните и емоционални аспекти на заболяването, но и зрителната функция. (8, 9)

VFQ-25 се използва в много различни популации за измерване на КЖ при пациенти с различни заболявания. (10-12) Резултатите показаха съществени разлики в зависимост от заболяването и социодемографските особености на изследваната извадка. (6,13)

Globe et al. (13) отчитат различни резултати при различни етнически групи в една и съща популация. Ето защо е важно да се оцени въздействието на определено заболяване

върху КЖ на пациентите в различни култури. (14) Ние оценихме свързаното със зрението качество на живот, в българска популация на пациенти с диабет, като използвахме английската версия на VFQ-25, която преведохме на български. (3) Теста за надеждност и валидност на преведената на български версия показва висока степен на валидност и надеждност.

Психометричното представяне на българската версия на NEI VFQ-25, преведено в това проучване, в избраната извадка на пациенти с диабет е много силно и е сравнимо с резултатите, докладвани от Toprak et al. [18] Тази независима адаптация на NEI VFQ-25 към български е успешна, а инструментът може да се определи като валиден и надежден.

Нашето проучване предоставя информация за ефекта на усложненията при пациентите с диабет върху свързаното със зрението качество на живот. Резултатите показаха, че най-силно заболяването и неговите усложнения оказват влияние върху общата оценка за зрението, очната болка, затруднения в изпълнението на дейностите, цветното зрение и периферното зрение.

Доказахме, че има връзка между зрителната острота за близо и далече и резултатите от подskalите на въпросника при пациентите с диабет. По-ниските стойности на зрителната острота за близо са свързани с по-ниски стойности на подskalата за оценка на КЖ за близо, а по-високите стойности на зрителната острота за далече корелират с по-добро качество на живот в подskalата за оценка на КЖ за далече.

На табл. 17 е представен сравнителен анализ на резултатите от нашето проучване при пациенти с диабетна ретинопатия и тези посочени от други автори.

Табл. 17. NEI-VFQ-25 при пациенти от различни популации с диабетна ретинопатия

NEI-VFQ 25	Собствено проучване (n=30)	Mangione et al. n=123	Klein et al. n=602	Matza et al. n=671	Cusick et al. n=170	Warrigan et al. n=91	Hariprasad et al. n=33	Okamoto et al. n=99
Общо здравословно състояние	45.7±22.6	46±25	60.5±23.8	-	50±2.0	-	42±4.4	39.1±19.6
Обща оценка на зрението	68.1±17.0	62±21	79.7±16.1	69.5±17.4	72±1.3	61.7±18.77	64±2.8	44.2±21.2
Очна болка	73.1±18.2	88±17	92.6±13.0	89.1±15.2	93±1.1	78.3±20.82	74±4.2	75.1±22.3
Зрение за близо	87.9±14.2	63±30	87.6±17.3	75.8±21.7	78±1.9	61.5±23.23	60±4.0	44.2±22.6
Зрение за далече	92.9±12.5	66±30	86.6±17.7	82.9±17.9	77±1.9	67.5±22.8	67±4.9	48.1±22.8
Социално функциониране	96.1±10.5	81±26	94.7±12.4	93.9±12.9	93±1.3	81.2±22.3	74±4.9	59.5±24.2
Психично здраве	85.7±12.2	66±29	84.6±18.2	77.2±21.3	77±1.9	64.1±27.0	56±4.4	43.6±23.8
Затруднения в изпълнението на дейностите	81.2±17.1	69±31	91.8±18.1	81.4±3.1	81±1.9	59.2±32.0	61±4.4	52.9±26.0
Зависимост от други лица	98.0±7.5	77±30	93.3±16.5	91.3±17.4	87±1.8	78.0±27.1	67±5.9	53.3±29.7
Шофране	91.5±12.5	55±40	85.1±22.9	81.1±20.7	79±2.0	68.9±27.1	39±6.6	41.7±34.2
Цветно зрение	86.1±11.7	90±22	94.8±14.9	94.6±14.7	90±1.6	82.7±22.6	77±4.5	69.5±25.2
Периферно зрение	82.4±15.8	78±29	89.3±20.9	88.4±19.4	82±2.0	69.2±26.9	76±4.5	46.6±23.3

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Захарният диабет е от групата на метаболитните заболявания, характеризиращи се с хипергликемия в резултат на дефекти при секрецията на инсулина, неговото действие или и двете. Захарният диабет тип 1 е резултат от неспособността на организма да произвежда инсулин и изисква човек да си доставя необходимата доза инсулин. Захарният диабет тип 2 е резултат от инсулиновата резистентност, състояние, при което клетките не успяват да използват правилно инсулина, понякога се комбинират с абсолютен инсулинов дефицит.

Хроничната хипергликемия води до увреждане на множество органи, включително очите, бъбреците, нервите, сърцето и кръвоносните съдове. Диабетна ретинопатия,

нефропатия и периферна невропатия са най-честите усложнения при захарния диабет.

Диабетната ретинопатия е една от причините за слепота в световен мащаб. Има много рискови фактори за това заболяване. Продължителността на захарния диабет оказва влияние върху развитието и тежестта на диабетната ретинопатия. Значимите фактори за системен риск включват хипертония и висок гликиран хемоглобин A1c (HbA1c), систолно артериално налягане, пулсово налягане, ниво на апополипротеини в серума и индекс на телесната маса. Диабетната ретинопатия може да се предотврати чрез ранното диагностициране на очните състояния. Следователно, периодичните очни прегледи заедно с добрия гликемичен контрол са първоначалните стъпки за намаляване на риска от офталмологични усложнения. Друга мярка включва стабилизиране на системните рискови фактори като хипертония, хиперлипидемия и анемия.

Освен ретината, диабетът може да засегне структурите на предния очен сегмент, като роговицата, ириса, цилиарното тяло, лещата, предната камера и задната камера. Промените в структурите на предните очни сегменти включват вакуолиране на пигментния епител на ириса, удебеляване на базалната мембрана на цилиарното тяло, удебеляване на роговицата и образуване на катаракта. Ранното откриване на всякакви промени в биометрията на предния очен сегмент ще помогне за ранната намеса и ще осигури ефективно лечение с цел намаляване на риска от загуба на зрението.

Диабетът е свързан с намалена консумация на кислород в роговицата, ненормално образуване на колаген, променен метаболизъм на гликозаминогликани и удебеляване на основата на роговичната мембрана.

Диабетът води до развитието на епителна кератопатия, която се характеризира с бавно възстановяване на дефекти,

повишена пропускливост и чупливост, бактериален кератит, натрупване на гликоген и глюкоза, микрокистичен оток и други усложнения.

Ендотелната пропускливост се повишава при пациенти с диабет. Доказано е, че активността на ендотелната роговична Na/K аденозин трифосфатаза намалява при субекти с диабет.

Лошият диабетен контрол води до повишена стромална хидратация и намалена способност за възстановяване от оток, предизвикан от контактни лещи, в резултат на промяна в ендотелната функция на роговицата.

Намалената чувствителност на роговицата е част от генерализираната сензорна невропатия, открита при захарен диабет. Този резултат се обяснява с демиелинизиране на нервите, вторичен до аномален липиден метаболизъм и натрупване на сорбитол в клетката на Шван.

Дисталната симетрична полиневропатия е най-често срещаният модел на нараняване на нервите при пациенти с диабет. Приблизително половината от пациентите с диабет с времето развиват дистална симетрична полиневропатия в даден момент на заболяването. Понастоящем единственото ефективно лечение за предотвратяване на това разпространено състояние е гликемичният контрол. За съжаление, подобрение на невропатията във времето се постига много по-трудно от предотвратяването на прогресията. Възможните обяснения за липсата на подобрение включват липсата на ефективно лечение и/или липсата на чувствителен тест за възстановяване на нервните влакна. Конфокална микроскопия на роговицата е ефективен, бърз, и неинвазивен метод за оценка, който позволява откриване на невропатия при пациенти с диабет. Този метод осигурява по-чувствителна мярка за оценка на възстановяването на нервите в сравнение с другите използвани в момента методи за оценка на невропатия.

Роговицата е най-гъсто инервираната част на човешкото тяло, произлизаща от инервацията му от офталмологичното деление на тригеминалния нерв, чрез предните цилиарни нерви, в комбинация с имунохистохимични техники за да се определи тяхното разпределение, ултраструктурна анатомия и невротрансмитери.

Приложението на конфокална микроскопия за изобразяване на роговицата осигурява нов подход в изследването на морфологията на роговичните нерви, като осигурява бърза *in vivo* неинвазивна техника, която позволява проспективна и повторна оценка на човешката роговица при 700 × увеличение. Техниката е достатъчно чувствителна, за да открие аномалия в роговичните нерви на пациенти, за които се смята, че имат лека невропатия, използвайки конвенционални тестове.

Конфокалната микроскопия на роговицата е бърз и неинвазивен метод за количествено определяне на дегенерацията на роговичните нервни влакна и потенциалната регенерация. Този метод на изследване е средство за ранно откриване, определяне и количествено оценяване на нервните увреждания при пациенти с диабет и за оценка на ефикасността на прилаганата терапия.

ИЗВОДИ

1. Микроструктурният анализ на роговицата при пациенти с диабет показва значително намаляване на плътността на повърхностните епителни клетки и базалните клетки с прогресиране на заболяването.
2. Количествената оценка на суббазалния нервен плексус показва съществено изменение в дължината на корнеалните нерви, плътността на нервните фибри и плътността на разклоненията при диагностициране на диабета и неговото прогресиране.
3. Наблюдава се значителна редукция на кератоцитите в средната строма при пациенти с диабет в сравнение с контролната група и суспектно понижение на плътността на клетките в предната и задната строма.
4. Чувствителността на роговицата при пациентите с диабет е значително по-ниска в сравнение с контролната група както на дясното око, така и на лявото око, като състоянието се утежнява с увеличаването на давността на заболяването и появата на усложнения.
5. Повечето пациенти с диабет имат по-високи прагове на чувствителност при допир и по-голяма честота на намалена тактилна чувствителност на роговицата.
6. Поддържането на нормални стойности на гликирания хемоглобин при пациентите с диабет запазва нивото на чувствителност на роговицата.
7. Диабета води до значителна промяна в качеството на зрението, особено при пациенти с диабет тип 2 и продължителност на заболяването над 10 г.
8. Най-често пациентите с диабет се оплакват от замъгляване на зрението, но най-ниска чувствителност на роговицата беше наблюдавана при пациентите с чести възпаления.

9. Над 2/3 (68,30 %) от пациентите посочват, че очите им са станали по-чувствителни към дим, изсушаване, прах след развитие на диабета, като чувствителността се увеличава с давността на заболяването.
10. Зрителната острота за близо е значително по-засегната от заболяването, отколкото тази за далече.

ПРИНОСИ

Приноси с познавателен характер

1. Направен е подробен обзор на научната литература за измененията на роговицата при пациенти с диабет.

Приноси с научно-приложен характер

1. Направен е подробен анализ на измененията в роговицата при пациенти с диабет.
2. Описани са микроструктурните различия при пациенти с диабет и здрави индивиди.
3. Извършен е анализ на чувствителността на роговицата при пациенти с диабет и здрави индивиди.

Приноси с практически характер

1. Направен е микроструктурен анализ на пациенти с диабет, преминали лечение в СБОБАЛ Варна.
2. Определена е чувствителността на роговицата към механични и топлинни стимули.
3. Установени са предимствата на конфокалната микроскопия за ранната диагностика на измененията в предния очен сегмент при пациенти с диабет.

ПУБЛИКАЦИИ СВЪРЗАНИ С ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

1. Sheherov V., Ivancheva V., Marinova T., Toshev R., Grupcheva C.N. Examination of the ocular surface in patients with diabetes mellitus and glaucoma. *Scripta Scientifica Medica*, 2013, vol. 45 (4):27-31
2. Marinova T., Ivancheva V., Sheherov V., Grupcheva Ch. Microstructural proofs of dry eye changes. *Scripta Scientifica Medica*, vol. 45, suppl. 6, 2013, pp. 12-18
3. Ivancheva V., Marinova T., Sheherov V., Toshev R., Grupcheva Ch. Microstructural analysis of the corneal changes in pigment dispersion syndrome - clinical study assisted by in vivo laser scanning confocal microscopy. *Scripta Scientifica Medica*, vol. 45, suppl. 3, 2013, pp. 29-33
4. Шехеров В. Изследване на очната повърхност при пациенти с диабет с помощта на лазер сканираща конфокална микроскопия на живо. Наука и младост, сборник научни съобщения от конкурсна сесия 2013, МУ-Пловдив, 2013, 149-153
5. Шехеров В. Диабет и око: микроструктурен анализ на промените в преден очен сегмент. *Превантивна медицина*, 2016, 1(9):56-60