

На правах рукописи

Михайлова Мария Андреевна

**ИММУНОМЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПРИ
ОККЛЮЗИОННЫХ ПОРАЖЕНИЯХ ВЕН СЕТЧАТКИ**

14.01.07 – Глазные болезни

АВТОРЕФЕРАТ

**диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук**

Москва - 2015

Диссертационная работа выполнена на кафедре глазных болезней Государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения РФ и в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Научно-исследовательский институт глазных болезней» Российской академии медицинских наук

Научный руководитель:

доктор медицинских наук

Будзинская Мария Викторовна

Официальные оппоненты:

Киселева Татьяна Николаевна, доктор медицинских наук, профессор, ФГБУ «Московский научно-исследовательский институт глазных болезней имени Гельмгольца» Министерства здравоохранения РФ, руководитель отделения ультразвука

Курьшева Наталия Ивановна, доктор медицинских наук, профессор, ФГБОУ ДПО «Институт повышения квалификации Федерального медико-биологического агентства», профессор кафедры офтальмологии

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение «Межотраслевой научно-технический комплекс «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Федорова» Министерства здравоохранения РФ.

Защита диссертации состоится 16 февраля 2015г. в 14-00 часов на заседании диссертационного совета Д 001.040.01 при Федеральном государственном бюджетном учреждении «Научно-исследовательский институт глазных болезней» Российской академии медицинских наук, по адресу: 119021, г. Москва, ул. Россолимо, дом 11а.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте www.niigb.ru Федерального государственного бюджетного учреждения «Научно-исследовательский институт глазных болезней» Российской академии медицинских наук

Автореферат разослан « ___ » _____ 2014 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор медицинских наук

М.Н. Иванов

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы

На сегодняшний день ретинальные венозные окклюзии (РВО) являются важной социальной проблемой ввиду резкого снижения зрения [Танковский В.Э, 2000].

Венозная окклюзия, как центральной вены сетчатки (ЦВС) так и ее ветвей, стоит на третьем месте среди заболеваний сетчатки, приводящих к инвалидизации по зрению (более 130 000 случаев в год) [Астахов Ю. С., 2005]. По данным Э.В. Бойко, ишемическая РВО составляет около 20% от всей острой сосудистой патологии органа зрения и стоит на втором месте после диабетической ретинопатии по тяжести поражения сетчатки и прогнозу. В 15% случаев ишемическая РВО является причиной инвалидности по зрению. Ишемическая РВО приводит не только к снижению остроты зрения, но и развитию таких осложнений, как рецидивирующие геморрагии, кистозная макулярная дегенерация, неоваскулярная глаукома. Результатом чего является полная инвалидизация пациентов, приводящая к потере профессиональной пригодности у лиц трудоспособного возраста. [Бойко Э.В, 2009.]

Несмотря на большое количество работ, посвященных данной проблеме, этиология остается неизвестной, а взгляды на патогенез разнообразны и иногда весьма противоречивы. R. Klein и соавт. провели популяционное исследование, в котором показали распространенность РВО и ее связь с факторами риска, такими как возраст, наличие гипертонической болезни (ГБ), атеросклероз, сахарный диабет, мигрень, локальное сужение ретинальных артерий, глаукома, изменение уровней креатинина, кальция, фосфора, употребление барбитуратов. В монографии С.Н. Тульцевой представлена современная концепция патогенеза, диагностики и лечения РВО. Отдельная глава посвящена тромбофилиям и их роли в развитии РВО. Согласно предложенной классификации, тромбофилия в зависимости от

того, в каком звене системы гемостаза выявляются наибольшие изменения, способствующие тромбозу, была разделена на тромбоцитарную, плазмокоагуляционную и сосудистую.

Необходимо отметить, что не во всех исследованиях учитывался ишемический или неишемический тип венозной окклюзии, длительность заболевания и развитие осложнений.

Ряд авторов считает, что поскольку большинство окклюзий происходит в местах артериовенозных перекрестов, где артерия расположена над веной, и у них имеется общая адвентициальная оболочка, ключевую роль в развитии РВО играют изменения сосудистой стенки на фоне атеросклероза и ГБ. Однако существуют пациенты, где РВО развивается и без наличия системных сосудистых заболеваний. В этом случае ведущую роль в патогенезе РВО отводят теории «коагулопатий» (*Rath EZ, 1992; Elman MJ, 1990; Keane PA, 2011*)

Несмотря на большое количество публикаций, в представленных работах, нет данных о влиянии эндотелиальной дисфункции на развитие РВО. Известно, что измененный эндотелиальный ответ может приводить к доминированию и хронической гиперактивации вазоконстрикции и гемокоагуляции, факторов роста, способствующих ремоделированию сосудистой стенки. Это в свою очередь, вызывает усугубление эндотелиальной дисфункции и повреждение эндотелиального слоя и, как результат, приводит к стойкой окклюзии сосудов. Большинство авторов сходятся во мнении, что клиническое прогнозирование развития разных типов течения РВО представляет серьезные трудности. В связи с этим, изучение основных патогенетических звеньев развития различных видов РВО имеет высокий интерес в современной ретинологии и является актуальной проблемой.

Цель работы

Оценить вклад коагуляционного, антикоагуляционного и фибринолитического звеньев гемостаза, редокс- и иммунной систем, обмена

липидов, полиморфизма гена интерлейкина-8 (ИЛ-8) и функционального состояния микроциркуляции в формировании патологических изменений на глазном дне у пациентов с РВО.

Задачи исследования:

1. Изучить состояние важнейших показателей коагуляционного, антикоагуляционного и фибринолитического звеньев гемостаза у пациентов с различными типами РВО.
2. Выяснить возможный иммунологический ответ на изменения липидного профиля и редокс-системы у пациентов с РВО.
3. На основании генетического анализа выявить влияние полиморфизма -251Т>А гена ИЛ-8 на развитие и течение РВО.
4. Выявить значимость изучения системной микроциркуляции и вазомоторной функции эндотелия микрососудов у пациентов с ишемическим и неишемическим типами РВО.
5. Определить вариабельность функционального состояния периферической микроциркуляции методом лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ).

Научная новизна работы

Впервые на большом клиническом материале с использованием современных высокотехнологичных методов обследования выявлены особенности изменения системы гемостаза (коагуляционного, антикоагуляционного и фибринолитического звеньев) при различных типах течения РВО.

Выявлена патогенетическая значимость редокс-системы, ее взаимосвязь с липидным профилем, приводящая к иммуноопосредованным реакциям у пациентов с различными типами РВО.

Доказано влияние полиморфизма -251Т>А гена ИЛ-8 на проницаемость сосудистой венозной стенки и развитие макулярного отека у пациентов с РВО.

Обосновано и доказано проведение ЛДФ у пациентов с различными типами РВО.

Практическая значимость

Исследования показали высокую практическую информативность лабораторных методов обследования (изучение коагуляционного, антикоагуляционного и фибринолитического звеньев гемостаза, редокс- и иммунной систем, липидного профиля) у пациентов с РВО, позволяющих адекватно оценить факторы риска развития и прогрессирования заболевания.

Применение генетического скрининга гена ИЛ-8 дает возможность оценить степень развития и прогрессирования макулярного отека у пациентов с РВО.

ЛДФ является высокоинформативной технологией позволяющей выявить ранние изменения периферической микроциркуляции у пациентов с РВО, что позволяет рекомендовать ее широкое применение в практическом здравоохранении.

Положения, выносимые на защиту:

Наиболее выраженные изменения в коагуляционном, антикоагуляционном и фибринолитическом звеньях гемостаза регистрировались при развитии окклюзионного поражения ветвей ЦВС (как ишемического, так и неишемического типа).

У пациентов с РВО уровень холестерина (ХС) и липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) был сопоставим с аналогичными показателями у пациентов с ГБ, перенесших ишемический инсульт головного мозга, и значительно превышал значения, рекомендуемые российским и европейским кардиологическими обществами.

У пациентов с ишемическим типом окклюзии ветви ЦВС (ОВЦВС) выявлено статистически достоверное повышение уровня окисленных липопротеинов низкой плотности (оЛПНП), в то время как при значениях ниже 6,2 нг/мл при проведении флюоресцентной ангиографии глазного дна (ФАГД) ишемических зон на глазном дне не выявлено.

Выявлена прямая корреляция между антителами иммуноглобулина G к оЛПНП и глутатионпероксидазой в гемоглобине (ГП в Нб) ($R=0,543$,

$p=0,024$) и глутатионпероксидазой (ГП) ($R=0,529$, $p=0,029$) у пациентов с ОВЦВС, что свидетельствует об активизации антиоксидантных ферментов.

Наличие полиморфизма (-251)А промоторного участка гена ИЛ-8 в двух хромосомах приводит к повышению сосудистой проницаемости и повышает риск развития выраженного кистозного макулярного отека.

По данным ЛДФ у пациентов с неишемическим типом ОВЦВС зарегистрирована наибольшая модуляция периферического кровотока. Повышенное сосудистое мышечное сопротивление и снижение резервов кровотока, приводящее к ухудшению кровоснабжения тканей, выявляется как у пациентов перенесших ишемический инсульт головного мозга, так и у больных при РВО.

Внедрение результатов работы: результаты работы внедрены в клиническую практику ФГБУ «НИИГБ» РАМН.

Личный вклад автора в проведенное исследование: личный вклад автора состоит в непосредственном участии в подготовке и проведении всех клинических исследований, апробации результатов, подготовке публикаций и докладов по теме работы. Вся обработка и интерпретация полученных результатов выполнена лично автором.

Апробация работы

Основные положения диссертации доложены на Научно-практической конференции офтальмологов Южного Федерального округа (Астрахань, 2012), International Symposium on Ocular Pharmacology and Therapeutics ISOPT (Париж, 2013), XII всероссийской школе офтальмолога (Москва, 2013), Научно-практической конференции по офтальмохирургии «ВОСТОК – ЗАПАД» (Уфа, 2013), 23rd Biennial International Congress on Thrombosis (Валенсия, 2014), Hypertension Athens (Афины, 2014), заседании проблемной комиссии кафедры глазных болезней ГБОУ ВПО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения РФ и ФГБУ «НИИГБ» РАМН от 29 сентября 2014г.

Публикации.

По теме диссертации опубликовано 12 печатных работ, из них 3 в журналах, входящих в перечень ведущих рецензируемых журналов.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 115 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, 4 глав собственных исследований, заключения, выводов, списка литературы, включающего 199 источников (52 отечественных и 147 зарубежных автора). Диссертация иллюстрирована 28 таблицами и 18 рисунками.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ.

Материал и методы исследования.

В исследование было включено 180 пациентов. В зависимости от поставленных задач все пациенты были разделены на следующие группы:

В 1-ю группу были включены 120 пациентов (240 глаз) с РВО (сроки обращения 1– 12 мес от момента развития окклюзии). В зависимости от локализации и типа окклюзии было выделено 4 подгруппы (табл.1):

1.1- пациенты с окклюзией ЦВС (ОЦВС) ишемический тип

1.2- пациенты с ОЦВС неишемический тип

1.3- пациенты с ОВЦВС ишемический тип

1.4- пациенты с ОВЦВС неишемический тип

Таблица 1. Характеристика пациентов 1-й группы

Показатель	Подгруппа пациентов с РВО			
	1.1	1.2	1.3	1.4
Общее число пациентов	30	30	30	30
Мужчины	15	17	12	14
Женщины	15	13	18	16
Возраст, годы	66,7±10,0	58,5±11,7	63,2±8,7	60,0±6,9

Во 2-ю группу (пациенты с осложненной ГБ) были включено 20 пациентов с ГБ III стадии 3 степени очень высокого риска, перенесших

ишемический инсульт головного мозга. Средний возраст больных составил $66,5 \pm 7,8$ лет, 11 мужчин и 9 женщин.

В 3-ю группу (контрольную группу) было включено 40 человек соответствующей возрастной группы (средний возраст $62,4 \pm 9,3$, 23 женщины и 17 мужчин) без клинических проявлений атеросклероза, ГБ и онкологических заболеваний.

Офтальмологические методы обследования включали в себя проведение визометрии, рефрактометрии, тонометрии, биомикроскопии, офтальмоскопии в условиях максимального мидриаза с 3-х зеркальной линзой Гольдмана. Флюоресцентную ангиографию глазного дна проводили стандартным методом на фундус-камере FF 450 plus (ФФ 450 плюс) «Карл Цейс» (Германия) и Heidelberg Retinal Angiograph 2 (Германия). Оптическую когерентную томографию (ОКТ) проводили всем пациентам на томографе Spectralis OCT («Heidelberg Engineering», Германия). Изучали анатомо-топографическое соотношение слоев сетчатки и ее толщину в макулярной зоне. Для анализа использовали следующие параметры: среднюю толщину сетчатки в фовеа (мкм) и общий объем макулы (мм^3).

Лабораторные методы исследования.

Пациентам выполняли следующие лабораторные методы исследования: **биохимический анализ крови**, включающий следующие показатели: ХС, ЛПНП, липопротеины высокой плотности (ЛПВП), триглицериды (ТГ), неэтерифицированные жирные кислоты (НЭЖКи), липаза, холинэстераза (ХЭ), оЛПНП, альбумин; **иммунологическое исследование**: антитела иммуноглобулина G к оЛПНП; **гемостазиограмма**, включающая оценку состояния коагуляционного, антикоагуляционного и фибринолитического звеньев гемостаза; **состояние редокс-системы** оценивали по следующим показателям: общий антиоксидантный статус, тиоловый статус, супероксиддисмутаза (СОД), общие перекиси, ГП, ГП в Нв, перекисное окисление липидов (ПОЛ). Биохимическое исследование

образцов крови проводили базе ГУП «МНКЦ Интермедбиофизхим» совместно с к.б.н. Н.В Балацкой, к.б.н. К.А. Парсунковой, Н.А. Гольдиной.

Генетическое исследование:

У всех пациентов с РВО изучали аллели и генотипы полиморфизма -251Т>А гена ИЛ-8. (полиморфизм гена ИЛ-8 в промоторном участке позиции 251 (замена Т на А))

В зависимости от полученных результатов пациенты были разделены на следующие группы: 1 группа - ИЛ-8 ТТ (нет полиморфизма); 2- ИЛ-8 АТ (полиморфизм -251Т>А в одной хромосоме); 3- ИЛ-8 АА (полиморфизм -251Т>А в двух хромосомах) Для чистоты исследуемой выборки пациенты с хроническими заболеваниями (бронхиальная астма, сахарный диабет, ревматологические заболевания) и онкологическими заболеваниями в генетическое исследование включены не были.

Генетическое исследование проводили на базе Научно-исследовательского института физико-химической медицины совместно с к.б.н. Т.В. Погодой и д.б.н. Э.В. Генерозовым.

35 пациентам из контрольной группы, 35 пациентам из 1-ой группы и всем пациентам 2-ой группы была произведена *ЛДФ* на аппарате ЛАКК-02 (НПП «Лазма», Россия). Диагностика состояния микроциркуляции (МЦ) крови осуществлялась в два этапа. На первом этапе исследовался базальный кровоток, при этом рассчитывались средние значения изменения перфузии: величина среднего потока крови (М), среднее колебание перфузии (σ) и коэффициент вариации (K_v). Ввиду большого разброса амплитуд (А) данных рассчитывали нормированные характеристики колебаний соответствующих факторов. Оценивали функциональный вклад каждого звена в модуляцию микрокровотока по формуле $-(A_{\max}/3\sigma)100\%$ и вклад в общий уровень тканевой перфузии по формуле $-(A_{\max}/\text{ПМ})100\%$. Определяли влияние: эндотелиального компонента на кровоток нейрогенной (симпатической) адренергической иннервации на регуляцию МЦ (HA_{\max}); миогенного компонента тонуса микрососудов (MA_{\max}); воздействие дыхательных ритмов

(DA_{max}) и пульсовых колебаний (СА) на кровотоки в системе МЦ. Рассчитывали миогенный тонус (МТ), нейрогенный тонус (НТ) и показатель артериоловеноулярного шунтирования крови (ПШ). На втором этапе – проводилась окклюзионная проба.

Периферическая гемодинамика была изучена методом **объемной компрессионной осциллометрии** КАП ЦГосм-«Глобус»-М. Анализировали следующие сосудистые показатели: линейная скорость кровотока, скорость пульсовой волны, податливость сосудистой системы, общее периферическое сопротивление сосудов, удельное сопротивление периферических сосудов фактическое.

ЛДФ микроциркуляции крови и объемную компрессионную осциллометрию проводили на кафедре факультетской терапии №2 ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М.Сеченова совместно с зав. кафедрой д.м.н. В.И.Подзолковым и к.м.н. Сафроновой Т.А.

Статистический анализ проводили с помощью компьютерных программ Microsoft Excel, SPSS. При параметрическом распределении признаков вычисляли среднее (M) и стандартное отклонение (SD), результаты представлены $M \pm SD$. Для признаков, имеющих непараметрическое распределение, определяли медиану (Me) и межквартильный интервал (25 – 75-й процентиль), результаты представлены как Me (25–75%). Для сравнения двух независимых и зависимых ненормально распределенных выборок использовали непараметрические критерии Манна-Уитни и Вилкоксона соответственно. Линейные величины сравнивали по методу Стьюдента, при малой выборке использовали точный двусторонний тест Фишера. Достоверным считали отличие при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

При оценке плазменного компонента гемостазиограммы было выявлено: у всех пациентов 1-й и 2-й группы, определялось статистически значимое повышение значений активности факторов протромбинового комплекса (% по Квику), отражающее снижение активности тромбопластина,

в отличие от группы контроля (для ишемического типа РВО $p=0,003$, для неишемического типа РВО $p=0,042$, для осложненной ГБ $p=0,03$). Как между пациентами с осложненной ГБ и пациентами с РВО (неишемический тип $p=0,821$, ишемический тип $p=0,879$), так и между ишемическим и неишемическим типом статистически достоверной разницы не наблюдалось ($p=0,928$).

У пациентов с РВО было выявлено повышение уровня фибриногена в сравнении с контрольной группой. У пациентов с осложненной ГБ выявлен широкий диапазон значений фибриногена, в связи с чем статистически достоверных различий у этой группы пациентов выявлено не было.

При сравнении всех типов РВО наиболее выраженные отклонения в коагуляционном звене были выявлены при ишемическом типе ОВЦВС (табл.2). По нашим данным, при увеличении прокоагуляционной активности плазмы, наиболее часто встречался ишемический тип РВО.

Таблица 2. Достоверность изменений коагуляционного звена гемостаза у пациентов с различными типами РВО в сравнении с контрольной группой

Показатель	Ишемический тип		Неишемический тип	
	ОЦВС	ОВЦВС	ОЦВС	ОВЦВС
Активированное частичное тромбопластиновое время, с	0,469	0,003	0,004	0,363
Активность факторов внутреннего пути образования протромбиназы, % по Квику	0,469	0,003	0,004	0,362
Активность факторов протромбинового комплекса, % пр Квику	0,087	0,001	0,013	0,047
Международное нормализованное отношение	0,072	0,000	0,013	0,051
Фибриноген, мг/дл	0,037	0,023	0,295	0,020

В нашем исследовании было выявлено повышение уровня тромбинемии (растворимые фибрин-мономерные комплексы (РФМК)) у пациентов с осложненной ГБ и РВО относительно контроля. РФМК или как

часто их называют «микротромбы» представляют собой конгломераты эритроцитов, тромбоцитов и фибрина, блокируют капилляры, вызывая окклюзии. Интересен тот факт, что ишемический тип ОЦВС меньше всего зависит от повышения уровня РФМК (табл.3).

Таблица 3. Достоверность изменений антикоагуляционного и фибринолитического звеньев гемостаза у пациентов с различными типами РВО в сравнении с контрольной группой

Показатель	Ишемический тип		Неишемический тип	
	ОЦВС	ОВЦВС	ОЦВС	ОВЦВС
Антикоагуляционное звено				
Антитромбин III, %	0,095	0,212	0,192	0,342
Тромбиновое время, с	0,030	0,167	0,948	0,620
Фибринолитическое звено				
Хагеман-зависимый фибринолиз, мин	0,336	0,111	0,422	0,258
Уровень тромбинемии РФМК, 10 ² г/л	0,181	0,017	0,026	0,034
Суммарный индекс тромбогенности	0,360	0,070	0,948	0,098
D-димер, мг/л	0,341	0,010	0,601	0,230
Агрегация тромбоцитов с универсальным индуктором, с	0,131	0,062	0,102	0,600

Таким образом, были выявлены серьезные изменения в системе гемостаза у пациентов с РВО. Наибольшие изменения регистрировались при развитии окклюзионного поражения ветвей ЦВС (как ишемического, так и неишемического типа). Ишемический тип ОЦВС менее всего связан с системой гемостаза. Полученные результаты можно объяснить наличием анатомических предпосылок для образования ОВЦВС (наличие артериовенозных перекрестов) при которых изменения в системе гемостаза способны приводить к местному нарушению кровоснабжения. В случае

поражения более крупных стволов, особенно при развитии массивной ишемии, происходят другие изменения, а система гемостаза оказывает на данную патологию минимальное влияние.

При анализе липидного профиля было найдено повышение уровня ЛПНП и ХЭ во всех группах и при всех типах венозных окклюзий относительно контрольной. Учитывая, что ЛПНП переносят в крови основную часть ХС, между уровнем ЛПНП и риском развития ИБС существует строгая линейная зависимость, не имеющая отношения к другим важным факторам риска ИБС. В популяционных, лабораторных и интервенционных исследованиях продемонстрирована их атерогенность, что свидетельствует о вкладе системного атеросклероза в патогенетический каскад развития сосудистых окклюзионных поражений не только сердца, головного мозга и крупных магистральных сосудов, но и глаза (*Путер П.Том, 2010*).

В группах с осложненной ГБ и РВО уровень ХС и ЛПНП выше значений, рекомендуемых РКО (Российским кардиологическим обществом, 2011) и ЕОК/ЕОА (европейскими кардиологическим обществом и обществом атеросклероза, 2011). У пациентов с инсультом уровень ЛПНП должен быть меньше 1,8 ммоль/л, у здоровых меньше 3,0 ммоль/л.

Учитывая тенденцию к повышению ХС, и статистически значимое превышение ЛПНП у пациентов с РВО и осложненной ГБ, логичным смотрятся повышенные значения ХЭ в данных группах. В многочисленных исследованиях было показано, что активность ХЭ связана с уровнем липопротеидов сыворотки крови (*Маск А., 2000; Параоани L.E., 2007*). Самые высокие показатели ХЭ выявлены у пациентов с неишемическим типом РВО. Уровень ХЭ в сыворотке крови используют как показатель синтетической активности печени. Предполагается, что ХЭ может осуществлять контроль проницаемости мембран клеток и стенок сосудов (*Карнов Р.С., 1998*). У пациентов с РВО при повышенных значениях ХЭ регистрировали

выраженный экстравазальный выход флюоресцеина по сосудистым аркадам с формированием диффузного макулярного отека.

В нашем исследовании обнаружили статистически достоверное повышение уровня оЛПНП у пациентов с осложненной ГБ и ишемическим типом РВО. Показатели в группе с ишемическим типом РВО были в 3,5 раза выше, чем у пациентов с неишемическим типом РВО. При сравнении уровня оЛПНП в зависимости от локализации и типа окклюзии, самые высокие показатели выявлены у пациентов с ишемическим типом ОВЦВС (превышение составило 2,5-6 раз относительно других групп). Интересным является тот факт, что наибольшие значения оЛПНП встречаются в группах после перенесенного инсульта и ишемическим типом РВО, что свидетельствует о возможном пересечении патогенетических звеньев развития данных заболеваний. Отмечается, что при повышенных значениях данного показателя на глазном дне регистрируется выраженные зоны ишемии, нередко сочетающиеся с новообразованными сосудами. При низких значениях оЛПНП наиболее часто встречался неишемический тип, так при значениях ниже 6,2 нг/мл, при проведении ФАГД, ишемических зон на глазном дне не выявлено.

Уровень антител IgG к оЛПНП был повышен у всех пациентов с осложненной ГБ и большинства пациентов с венозными окклюзиями (статистически достоверных отличий в группе не выявлено), что может свидетельствовать о выраженной иммуноопосредованной реакции при данных заболеваниях.

При проведении корреляционного анализа выявлена прямая корреляция между антителами IgG к оЛПНП и ГП в Нв ($R=0,543$, $p=0,024$) и ГП ($R=0,529$, $p=0,029$) у пациентов с ОВЦВС. Таким образом, показана активизация антиоксидантных ферментов, что приводит к минимализации повреждения.

Образование антител к оЛПНП, захватываемым клетками артериальной стенки, является дополнительным фактором повреждения артерий. Недавние

результаты исследований свидетельствуют о том, что антитела к оЛПНП могут использоваться как параметр, точно отражающий окислительные процессы, происходящие *in vivo* (Gounopoulos P., 2007).

В нашей работе достоверной разницы в уровне ХС, ЛПВП, ТГ, НЭЖК, липазы между группами не выявлено.

У пациентов с ГБ и РВО, несмотря на усиление ПОЛ, не происходит реактивного увеличения СОД и ГП, что свидетельствует о снижении активности ферментов антиокислительной системы организма, т.е. ее истощении. Снижение восстановительного потенциала тиолдисульфидной системы при окислительном стрессе может усугублять процессы окислительной деградации липидных и белковых молекул клеток.

Снижение уровня тиолового статуса, найденное у большинства наших пациентов, приводит к повышению доступности мембраны для токсического действия продуктов ПОЛ (Day R. M., 2005; Reed M. C., 2008), а в наших исследованиях отмечен рост содержания метаболитов ПОЛ. Снижение уровня сульфгидрильных групп объясняется не только его использованием в качестве носителя SH-групп, необходимых для защиты от HO^\bullet и других активных форм кислорода, но и интенсивным расходом ГП (Меньшикова Е.Б., 2008). Однако сами активные формы кислорода, в частности HO^\bullet , способны ингибировать фермент. По остальным показателям редокс-системы, таким как уровень общего антиоксидантного статуса, ГП, ГП в Нб, супероксиддисмутаза достоверных различий не найдено. Разницы внутри групп по показателям антиоксидантного статуса не было выявлено.

На следующем этапе проводили генетический анализ полиморфизма гена ИЛ-8, отвечающего за синтез ИЛ-8.

Статистически достоверных различий встречаемости -251T>A гена ИЛ-8 у пациентов с ОЦВС и ОВЦВС, имеющих как ишемический, так и неишемический тип имеющих или не имеющих полиморфизм гена ИЛ-8, получено не было.

В случае развития макулярного отека, наибольшая толщина сетчатки достоверно регистрировалась в группе с полиморфизмом промоторного участка гена -251T>A ИЛ-8 в двух хромосомах (гомозиготный вариант А/А) по сравнению с группой где такие полиморфизмы не были выявлены ($p=0,051$) (рис.1). При анализе средней толщины сетчатки в макулярной зоне между другими группами статистически значимых изменений не выявлено: 1-я и 2-я ($p=0,123$), 2-я и 3-я группы ($p=0,968$). Аналогичные данные получили при изучении макулярного объема. Гетерозиготный вариант А/Т не влияет на степень развития макулярного отека: 1 и 2 ($p=0,144$), 2 и 3 ($p=0,944$).

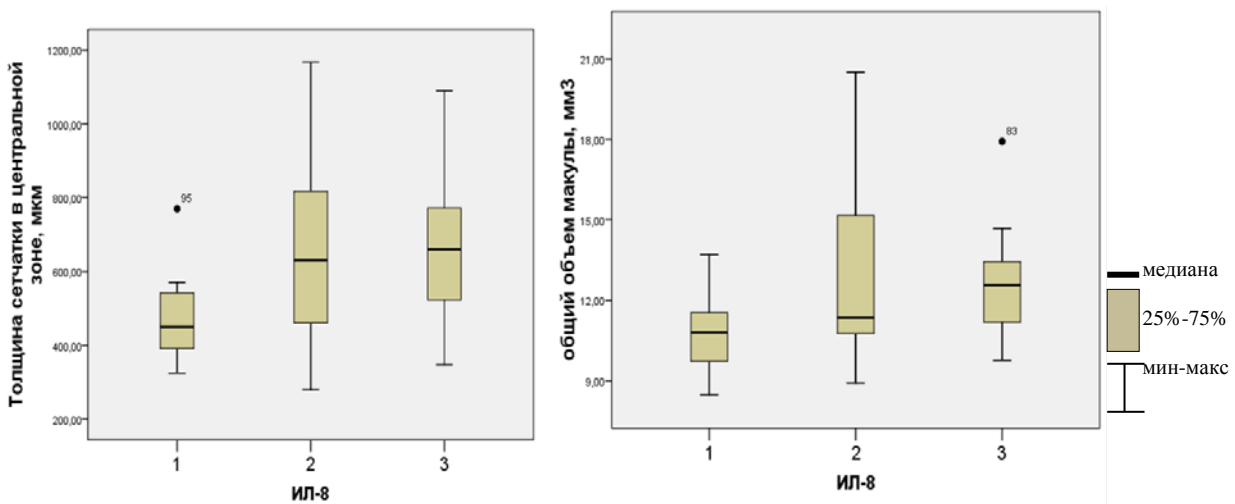


Рис.1. Сравнительный анализ средней толщины сетчатки в центральной зоне и общего объема макулы у пациентов с различными вариантами полиморфизма -251T>A гена ИЛ-8.

При изучении ангиографической картины в группе с гомозиготным вариантом А/А в позиции 251 промоторного участка гена ИЛ-8 при неишемическом типе ОЦВС регистрировался выраженный экстравазальный выход флюоресцеина как из сосудов мелкого, так и крупного калибра с прокрашиванием сосудистой стенки, также отмечался выраженный отек ДЗН.

При ишемическом типе ОЦВС с гомозиготным вариантом А/А полиморфизма 251T>A промоторного участка гена ИЛ-8 наблюдался

выраженный отек в макулярной зоне и прокрашивание сосудистой стенки всего венозного русла.

При сопоставлении флюоресцентных ангиограмм пациентов с ОВЦВС с генотипом А/А и Т/Т промоторного участка гена ИЛ-8 регистрировали формирование телеангиоэктазий с неравномерной дилатацией стенок венул, выраженным экстравазальным выходом флюоресцеина и формированием кистовидного отека в макулярной зоне у всех пациентов с вариантом АА. При гетерозиготном варианте А/Т или отсутствие аллели А ангиографическая картина существенно отличалась, вышеперечисленные изменения не наблюдались, отек был менее выражен и не носил кистозный характер.

На следующем этапе изучали показатели микроциркуляции (ПМ) при помощи ЛДФ. Показатель МЦ в исследуемых группах достоверно не отличался. В отличие от 2-й группы у пациентов с РВО отмечалась существенно более низкая вариабельность микроциркуляции (параметры σ ПМ и K_v ПМ). Функции механизмов модуляции тканевого кровотока у пациентов с РВО были снижены, что подтверждает динамика среднего квадратического отклонения ПМ. Снижение показателя σ свидетельствует об угнетении активных вазомоторных механизмов модуляции тканевого кровотока у пациентов 1-й группы в сравнении с 2-й. При оценке показателей в зависимости от типа и локализации окклюзии показатели изменчивости были достоверно выше у пациентов 2-й группы в сравнении с ишемическим типом ОВЦВС и неишемическим типом ОЦВС. Наибольшая модуляция кровотока регистрировалась у пациентов с наименьшими изменениями на глазном дне, в частности при развитии ОВЦВС по неишемическому типу, что может быть обусловлено более интенсивным функционированием механизмов активного контроля микроциркуляции у данных пациентов.

На следующем этапе для выявления вклада отдельных механизмов контроля перфузии, проводили анализ амплитудно-частотного спектра

колебаний (табл. 4). Оценка функционального состояние активных звеньев модуляции кровотока показала нарушение регуляторных влияний тонуса микрососудов у пациентов с РВО. Анализ полученных значений выявил снижение вклада всех активных факторов контроля перфузии у пациентов 1-й группы в сравнении с контрольной и 2-й группой. Снижение амплитуды «активных» звеньев свидетельствует о снижении модуляции кровотока со стороны данного механизма регуляции. Уменьшение амплитуд миогенных и нейрогенных колебаний свидетельствует о повышенном тоне сосудов в указанных группах, что приводит к ухудшению кровоснабжения тканей. Снижение амплитуд миогенных колебаний является следствием усиления жесткости сосудистой стенки из-за выраженной активации симпатических вазомоторных волокон. Снижение амплитуд эндотелиальных колебаний свидетельствует об эндотелиальной дисфункции.

Таблица 4. Значение амплитудно-частотного спектра показателя микроциркуляции у пациентов с РВО и осложненной ГБ

Показатель	Контрольная группа	2-я группа	1-я группа	
			неишемический тип РВО	ишемический тип РВО
$\text{ЭА}_{\max}/3\sigma*100\%$	17,46 (13,01-20,62)	14,67 (11,75-21,20)	10,89 (8,51-12,98)*	11,44 (6,43-16,42)
$\text{ЭА}_{\max}/S*100\%$	5,14 (2,73-8,79)	3,98 (2,04-6,42)	1,55 (1,13-2,42)*	1,54 (1,21-2,63)
$\text{НА}_{\max}/3\sigma*100\%$	18,91 (16,01-23,02)	14,46 (10,19-24,28)	10,74 (9,5-14,84)*	8,91 (6,37-11,21)*
$\text{НА}_{\max}/S*100\%$	5,15 (3,01-9,55)	3,53 (5,45-10,19)	1,92 (1,27-2,38) *	1,68 (0,83-1,97)*
$\text{МА}_{\max}/3\sigma*100\%$	13,70 (11,91-17,40)	10,03 (7,59-11,24)	8,55 (6,94-11,28)*	5,71 (4,84-9,61)
$\text{МА}_{\max}/S*100\%$	4,10 (2,67-5,91)	2,18 (1,53-3,70)	1,22 (1,02-1,92) *	1,51 (0,78-1,67)*
$\text{ДА}_{\max}/3\sigma*100\%$	6,87 (3,41-9,10)	4,70 (3,26-5,83)	5,96 (4,5-7,18)	6,60 (3,81-8,79)
$\text{ДА}_{\max}/S*100\%$	1,68 (1,21-3,01)	1,06 (0,86-1,48)	0,89 (0,81-0,98) *	0,99 (0,80-1,11)*
$\text{СА}_{\max}/3\sigma*100\%$	5,29 (4,21-7,99)	4,83 (3,39-5,93)	4,98 (4,48-7,71)	5,71 (3,72-7,55)
$\text{СА}_{\max}/S*100\%$	1,33 (0,93-1,55)	0,84 (0,74-1,52)	0,77 (0,68-0,97)	0,74 (0,63-0,95)

Примечание. * $p<0,05$ – достоверность по отношению к группе контроля

Оценка вклада пассивных факторов в контроль микроциркуляции выявила снижение влияния дыхательных колебаний в общий уровень тканевой перфузии. Влияние пульсовых колебаний, отражающих объем притекающей к микроциркуляторному руслу артериальной крови не изменилось.

У пациентов с ишемическим типом РВО достоверно выше был нейрогенный тонус, в сравнении с остальными группами: по отношению к контрольной группе $p=0,014$, к 2-й группе $p=0,005$, к неишемическому типу РВО $p=0,024$, что вероятнее всего говорит о возрастании активности симпатических нервов-вазоконстрикторов и, как следствие, повышении жесткости сосудистой стенки.

При проведении окклюзионной пробы для групп 1-й и 2-й были получены сходные результаты. Показатель PM_{min} , отражающий микроциркуляцию в отсутствие артериального притока, был достоверно выше у пациентов группы с РВО ишемического и неишемического типов и 2-й группы, относительно контроля. У пациентов с неишемическим и ишемическим типами РВО наблюдалось более быстрое восстановление кровотока после прекращения окклюзии в сравнении с контрольной группой. Уменьшение времени полувосстановления ($T7-T6$) является следствием высокой реактивности сосудов и склонности к спазму. При изучении адаптационных резервов можно отметить, что в 1-й и 2-й группах, отмечается значительное снижение резервов кровотока по отношению к контролю.

По остальным показателям: $PM_{исх}$, $PM_{макс}$, $T4-Tн1$, $T5-Tн1$, $T6-T4$, достоверных отличий выявлено не было.

Таким образом у пациентов 1-й и 2-й группы выявлены значительные изменения функции эндотелия (изменение показателей PM_{min} и РКК).

На следующем этапе мы исследовали показатели гемодинамики методом объемной компрессионной осциллометрии. У пациентов 1-й и 2-й групп была достоверно повышена скорость пульсовой волны, увеличено

общее периферическое сопротивление, что свидетельствует о ригидности сосудистой стенки и повышенном тоне гладкой мускулатуры, что при неизменном минутном объеме приводит к несоответствию просвета прекапиллярного русла протекающему объему крови. Удельное сопротивление периферических сосудов фактическое, также было повышено.

Таким образом, РВО развиваются на фоне выраженных изменений коагуляционного, антикоагуляционного, фибринолитического звеньев гемостаза, редокс- и иммунной систем, обмена липидов, полиморфизма гена ИЛ-8 и функционального состояния МЦ. Своевременная диагностика, основанная на современном высокотехнологичном анализе данных, позволит существенно улучшить комплекс профилактических мер и разработать новые, патогенетически ориентированные схемы лечения пациентов.

ВЫВОДЫ

1. При обследовании 140 пациентов с окклюзиями вен сетчатки было выявлено, что заболевание сопровождается выраженными изменениями гемостаза с вовлечением редокс-системы и формированием генетически детерминированного иммунологического ответа, влияющего на течение патологического процесса на глазном дне.
2. При развитии РВО выявлено повышение значений активности факторов протромбинового комплекса (для ишемического типа РВО $p=0,003$, для неишемического типа РВО $p=0,042$); повышение уровня фибриногена ($p=0,005$ и $p=0,008$ соответственно), повышение уровня тромбинемии ($p=0,038$ и $p=0,044$ соответственно) по сравнению с контролем.
3. Во всех группах и при всех типах венозных окклюзий состояние липидного профиля характеризовалось повышением уровня ЛПНП и холинэстеразы относительно контрольной ($p<0,05$) и выше значений, рекомендуемых российским и европейским кардиологическими обществами.

4. У пациентов с окклюзией ветвей ЦВС развитие дисбаланса липидного профиля и редокс-системы характеризуется вовлечением иммунного ответа, сопровождающегося повышением оЛПНП, особенно при ишемическом типе РВО, и уровнем антител IgG к оЛПНП. На фоне истощения активности антиоксидантных ферментов, выявлена прямая корреляция между уровнем антител IgG к оЛПНП и ГП в Hb ($R=0,543$, $p=0,024$) и ГП ($R=0,529$, $p=0,029$)
5. При наличии полиморфизма $-251T>A$ гена интерлейкина-8 в двух хромосомах наблюдаются более выраженные признаки воспалительной реакции, характеризующиеся выраженным макулярным отеком, отеком ДЗН и прокрашиванием венозной стенки при флюоресцентной ангиографии глазного дна.
6. Наряду с другими методами обследования лазерная доплеровская флоуметрия позволяет выявить состояние микроциркуляторной перфузии и вазомоторной функции эндотелия у пациентов с ишемическим и неишемическим типами РВО. Окклюзии ветвей центральной вены сетчатки по неишемическому типу характеризуются более интенсивным функционированием механизмов активного контроля микроциркуляции, выражающимся в наибольшей модуляции кровотока по сравнению с другими видами РВО.

Список работ, опубликованных по теме диссертации:

1. Михайлова М.А., Балацкая Н.В., Сизова М.В., Плюхова А.А., Будзинская М.В.. Состояние коагуляционного и фибринолитического звеньев гомеостаза у пациентов с окклюзионными поражениями вен сетчатки на фоне системных сосудистых заболеваний. // Инновационные технологии в офтальмологической практике регионов: Научно-практическая конференция офтальмологов Южного Федерального округа: Сборник тезисов. – Астрахань: АГМА, 2012. – С. 122-124
2. Плюхова А.А., Михайлова М.А., Будзинская М.В., Балацкая Н.В., Соболева Г.Н., Щеголева И.В. Морфометрические характеристики структур глазного дна и антиоксидантный статус у пациентов с системными сердечно-сосудистыми заболеваниями. // Офтальмология Восточная Европа. - Беларусь.- 2012.- №4.- С. 37-43

3. Михайлова М.А., Плюхова А.А., Балацкая Н.В., Будзинская М.В.. Особенности развития окклюзионных поражений сосудов сетчатки и зрительного нерва на фоне сердечно-сосудистых заболеваний. // **Практическая медицина. Офтальмология.** – 2012. - том 2, №4(59). – С. 71-74
4. Сизова М.В., Михайлова М.А., Балацкая Н.В., Плюхова А.А., Будзинская М.В. Первый опыт применения ранибизумаба в лечении макулярного отека у пациентов с окклюдозными поражениями вен сетчатки. // *Инновационные технологии в офтальмологической практике регионов: Научно-практическая конференция офтальмологов Южного Федерального округа: Сборник тезисов.* – Астрахань: АГМА, 2012.– С.167-169.
5. Plyukhova A.A., Soboleva G.N., Budzinskaya M.V., Mikhailova M.A., Shchegoleva I.V. Procoagulant and anticoagulant agents in patients with retinal vein occlusion combined with cardiovascular disease. // *International Symposium on Ocular Pharmacology and Therapeutics ISOPT.-Paris.- 2013.* - P. 95
6. Будзинская М.В., Михайлова М.А., Балацкая Н.В., Сизова М.В., Плюхова А.А.. Перекисное окисление липидов у пациентов с ретинальными венозными окклюзиями. // XII всероссийская школа офтальмолога. Сборник научных трудов под редакцией профессора Е.А.Егорова.- Москва.- 2013.- С. 145-149
7. Будзинская М.В., Михайлова М.А., Балацкая Н.В., Сизова М.В. Изменения и способы коррекции антиоксидантного статуса при хронических венозных окклюзиях. // «Восток — Запад» Сборник научных трудов научно-практической конференции по офтальмохирургии с международным участием.- 2013. - С. 435-437
8. Будзинская М.В., Михайлова М.А., Балацкая Н.В. Предпосылки возможности применения препарата «Гистохром» при дисбалансе редокс-системы вызванной венозными ретинальными окклюзиями. // *Эффективная фармакотерапия. Офтальмология.* – 2013. – №1. –С. 36-40
9. Budzinskaya M., Mikhailova M., Plyukhova A., Balatskaya N., Safronova T, Shelankova A.. Association of Lipid Levels and Oxidative Stress in Patients with Arterial Hypertension with Occurance of Retinal Vein Thrombosis. // *Abstracts of the 23rd Biennial International Congress on Thrombosis – MLTD Congress 2014, 14–17 May 2014. Valencia, Spain. Thrombosis Research V.133.-№3.- P.100–101*
10. Podzolkov V., Budzinskaya M., Mikhailova M., Plyukhova A., Balatskaya N., Safronova T., Shelankova A. Association of cardiovascular risk factors in patients with arterial hypertension with occurrence of retinal vein occlusion. // *Hypertension.- Athens.- Abstract Book.- 2014.- P.141*
11. Будзинская М.В., Михайлова М.А., Плюхова А.А., Балацкая Н.В., Сафронова Т.А., Сизова М.В., Шеланкова А.В.. Роль липидного обмена и

- изменений антиоксидантной системы в развитии ретинальных венозных окклюдий. // **Вестник офтальмологии.-2014. – №3 –С. 3-8**
12. Михайлова М.А., Сизова М.В., Шеланкова А.В.. Патогенез венозных ретинальных окклюдий. // **Вестник офтальмологии. – 2014. – №2. – С.88-92**

Список сокращений

- А - амплитуда
ГБ – гипертоническая болезнь
ГП – глутатионпероксидаза
ГП в Нб – глутатионпероксидаза в гемоглобине
ИЛ - интерлейкин
ИРВО – ишемическая ретинальная венозная окклюзия
ЛДФ – лазерная доплеровская флоуметрия
ЛПВП – липопротеины высокой плотности
ЛПНП – липопротеины низкой плотности
МТ – миогенный тонус
МЦ – микроциркуляция
НТ – нейрогенный тонус
НЭЖКи – неэтерифицированные жирные кислоты
ОВЦВС – окклюзия ветви центральной вены сетчатки
ОКТ – оптическая когерентная томография
олПНП – окисленные липопротеины низкой плотности
ОЦВС – окклюзия центральной вены сетчатки
ПМ – показатель микроциркуляции
ПОЛ – перекисное окисление липидов
ПШ – показатель шунтирования
РВО – ретинальная венозная окклюзия
РФМК - растворимые фибрин-мономерные комплексы
СОД - супероксиддисмутаза
ТГ – триглицериды
ТС – тиоловый статус
ФАГД – флуоресцентная ангиография глазного дна
ХС – холестерин
ХЭ – холинэстераза
ЦВС – центральная вена сетчатки