

Сурнина Зоя Васильевна

**СОСТОЯНИЕ НЕРВНЫХ ВОЛОКОН РОГОВИЦЫ ПРИ САХАРНОМ
ДИАБЕТЕ ПО ДАННЫМ СВЕТОВОЙ И ЛАЗЕРНОЙ КОНФОКАЛЬНОЙ
МИКРОСКОПИИ**

14.01.07 – глазные болезни

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Москва – 2015

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Научно–исследовательский институт глазных болезней»

Научный руководитель:

академик РАН,
доктор медицинских наук, профессор

Аветисов Сергей Эдуардович

Официальные оппоненты:

Киселева Татьяна Николаевна, доктор медицинских наук, профессор, ФГБУ «Московский научно-исследовательский институт глазных болезней имени Гельмгольца» Министерства здравоохранения РФ, начальник отдела ультразвуковых исследований

Шишкин Михаил Михайлович, доктор медицинских наук, профессор, ФГБУ «Национальный медико-хирургический центр им. Н.И.Пирогова» Министерства здравоохранения РФ, заведующий кафедрой глазных болезней Института усовершенствования врачей

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

Защита состоится «30» ноября 2015 г. в 14–00 на заседании диссертационного совета Д 001.040.01 при Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Научно–исследовательский институт глазных болезней» по адресу: 119021, Москва, ул. Россолимо, д. 11, корпус А, корпус Б.

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

Автореферат диссертации разослан « ____ » _____ 2015 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
доктор медицинских наук

Иванов М.Н.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы и степень её разработанности:

Сахарный диабет (СД) является значимой медико-социальной проблемой, представляющей собой одну из основных причин смертности и инвалидизации населения во всем мире (*Балашевич Л.И., 2012; Дедов И.И., 2000; Дедов И.И., 2013; Информационный бюллетень ВОЗ, 2014; Информационный бюллетень ВОЗ, 2015; Киселева Т.Н., 2013; Кроненберг Г., 2010, Шишкин М.М., 2012*). Каждый год фиксируется около 6 млн новых случаев заболеваемости этим неизлечимым недугом (*Балашевич Л.И., 2012*). По данным Международной федерации диабета СД страдают более 250 млн человек в мире. По прогнозам Всемирной Организации Здравоохранения (ВОЗ), к 2025 году число пациентов, страдающих СД, составит 7% населения планеты.

Срок жизни больных с СД снижен на 5 – 10 лет (*Дедов И.И., 2009*), а у 20 – 30% этих больных уже имеются осложнения СД, такие как полинейропатия, ретинопатия, нефропатия и ангиопатия различной локализации. У больных СД в 2-3 раза чаще развивается инфаркт миокарда и инсульт, в 10 раз чаще встречается слепота, в 20 – гангрена, приводящая к ампутации нижних конечностей (*Дедов И.И., 2006; Жукова Л.А., 2003; Brownlee M., 1993; Geiss L.S., 1995; Haffner S.M., 1998; Maser R.E., 1993*).

По предварительным подсчетам, в Российской Федерации СД диагностирован у 8 млн человек, из них 24,5 тысячи детей и подростков страдают СД 1 типа и имеют мало шансов «дожить» до преклонного возраста. До трех четвертей пациентов с СД часто и не подозревают о своем заболевании (*Балашевич Л.И., 2012; Дедов И.И., 2000*).

В последнее время возрос интерес к изучению анатомо-физиологических свойств нервных волокон роговицы (НВР), что в значительной степени было вызвано предположением австралийского ученого Н. Эфрона (*N. Efron*) о

возможности их изменения в процессе развития СД (*Efron N., 2001*). Несмотря на это на сегодняшний день вопросы степени повреждения НВР при СД, а также возможности объективной интерпретации таких изменений остаются открытыми.

Визуализация НВР стала возможной благодаря внедрению в клиническую практику метода конфокальной микроскопии роговицы (КМР), позволяющей детально изучать состояние всех слоев роговицы.

КМР дает возможность визуализировать волокна нервных сплетений. Такие показатели как ширина, плотность, рефлексивность, извилистость, ориентация и ветвление могут служить критериями оценки НВР. На снимках, получаемых при КМР, в норме визуализируются длинные, параллельно идущие тяжи или пучки нервов, хорошо контрастирующие на фоне непрозрачного темного фона (*Аветисов С.Э., 2008; Ткаченко Н.В., 2009; Dusk P.J., 1998; Jalbert I., 2003; Papanas N, 2011*).

Многолетний опыт использования КМР в Медицинской школе Университета Манчестера доктором Малик (*Malik R.A.*) доказал, что этот метод является намного более чувствительным, чем биопсия кожи (*Malik R.A., 2003*). По мнению авторов, использование метода КМР позволит определить поражение НВР при развитии СД еще на доклинической стадии, что свою очередь может способствовать выявлению осложнений на самых ранних этапах развития заболевания, как следствие, определять сроки начала лечения и уменьшить развитие грозных осложнений СД.

При этом на первом этапе целесообразно проанализировать принципиальную возможность определения характерных для СД изменений НВР.

Цель настоящего исследования: оценка состояния НВР при СД по данным световой и лазерной конфокальной микроскопии.

Для достижения поставленной цели определены следующие **задачи:**

1) Разработать новый метод диагностики уровня глюкозы в слезной жидкости (СЖ); определить содержание глюкозы в СЖ в группе пациентов без офтальмопатологии, а также в случае выявления изменений в НВР – в группе пациентов с СД.

2) Разработать алгоритм оценки состояния НВР на основе световой и лазерной КМР.

3) Создать программное обеспечение (ПО), позволяющее объективно оценивать состояние НВР на основе световой и лазерной КМР.

4) Проанализировать с помощью разработанного алгоритма возрастные изменения НВР у пациентов без офтальмопатологии.

5) Оценить состояние НВР с помощью разработанного алгоритма у больных СД 1 и 2 типов. Выявить возможную корреляционную зависимость изменений НВР от длительности заболевания, уровня глюкозы в крови и слезной жидкости, а также показателей гликированного гемоглобина.

6) Выявить межочулярную асимметрию в норме, а также в случае её выявления – в группе пациентов с СД 1 и 2 типов.

7) Сравнить информативность методов световой и лазерной КМР.

Научная новизна:

1) Впервые разработан алгоритм анализа конфокальных снимков НВР, на его основе разработано авторское ПО (изобретение №2014142571).

2) Впервые на достаточном клиническом материале на основе разработанного алгоритма оценки параметров НВР определены возрастные изменения НВР, а также изменения, характерные для СД 1 и 2 типов.

3) Для определения уровня глюкозы в слезе впервые использован метод рентгеноструктурного анализа (РСА).

4) Впервые выявлены степени асимметрии показателей предложенных коэффициентов анизотропии и симметричности направленности НВР, определяемые в норме и при развитии патологии.

Теоретическая и практическая значимость работы:

- 1) Определено, что ход и структура НВР характерно меняются в зависимости от возраста и при развитии СД 1 и 2 типов.
- 2) Разработанная программа анализа конфокальных изображений позволяет оценить ход и структуру НВР в норме, а также при развитии СД.
- 3) Впервые на основе метода РСА выявлена прямая корреляция между показателем уровня глюкозы в крови и слезе.
- 4) Выявлено, что для объективной визуализации НВР предпочтительным является использование лазерного типа КМР.

Методология и методы диссертационного исследования:

Методологической основой диссертационной работы явилось применение комплекса методов научного познания. Диссертационная работа выполнена в соответствии с принципами научного исследования. При выполнении работы соблюдены схема и этапы научного исследования. В настоящей работе сочетаются методологии качественных и количественных исследований. Работа выполнена в дизайне одномоментного кросс–секционного исследования с использованием клинических, инструментальных, аналитических, лабораторных и статистических методов.

Положения, выносимые на защиту:

- 1) СД 1 и 2 типов сопутствуют характерные изменения в ходе и структуре НВР, которые могут быть объективно оценены с помощью коэффициентов анизотропии ($K_{\Delta L}$) и симметричности (K_{sym}) направленности НВР.
- 2) Возрастные изменения НВР заключаются в увеличении степени извитости, при этом с возрастом коэффициент $K_{\Delta L}$ закономерно снижается, а коэффициент K_{sym} увеличивается.
- 3) Разработанный алгоритм оценки состояния НВР может быть использован в ранней диагностике поражений НВР, характерных для СД, а также в оценке возрастных изменений хода и структуры НВР.

4) При СД увеличивается межкокулярная асимметрия показателей, характеризующих степень извитости НВР.

5) Применение метода РСА для диагностики уровня глюкозы в СЖ позволяет убедиться, что уровень глюкозы в крови и слезе коррелируют между собой.

6) Лазерная конфокальная микроскопия обладает большей визуализирующей способностью и дает меньше артефактов при автоматизированных вычислениях по сравнению со световой конфокальной микроскопией.

Степень достоверности работы:

Достоверность проведенного исследования и полученных результатов определяется достаточным и репрезентативным объемом материала исследования с использованием современных методов исследований. В работе использовано современное сертифицированное офтальмологическое, аналитическое и лабораторное оборудование. Исследование проведено в стандартизированных условиях на материале, достаточном для выполнения поставленных задач. Анализ материала и статистическая обработка полученных данных выполнены с применением современных методов и в соответствии с современными стандартами сбора и обработки научных данных.

Апробация результатов исследования:

Основные положения диссертации доложены и обсуждены на международной конференции Восток-Запад (Уфа, 2014), конференции ФГБНУ «НИИ ГБ» (Москва, 2014), «XIV Всероссийской школе офтальмолога» (ВШО–2015) (Московская обл., 2015), конференции молодых ученых «Актуальные проблемы офтальмологии» (Москва, 2015), X съезде офтальмологов России (Москва, 2015), заседании проблемной комиссии ФГБНУ «НИИГБ» (Москва, 2015).

Личный вклад автора в проведенное исследование:

Личный вклад автора состоит в непосредственном участии в подготовке и проведении всех исследований, апробации результатов, подготовке публикаций и докладов по теме работы. Обработка и интерпретация полученных результатов выполнена лично автором.

Внедрение результатов работы:

Разработанный алгоритм анализа конфокальных изображений, а также созданное на его основе ПО *Liner 1.1.*, внедрены в практику ФГБНУ «НИИ ГБ».

Публикации:

По теме диссертации опубликовано 7 печатных работ, 3 из которых – в журналах, входящих в перечень рецензируемых журналов и изданий, определенных ВАК. Получен патент РФ.

Структура и объем диссертационной работы:

Диссертация изложена на 124 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов собственных исследований, заключения, выводов и списка литературы. Работа иллюстрирована 29 рисунками и 11 таблицами. Библиографический указатель содержит 208 источников (59 отечественных и 149 зарубежных).

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**Материалы и методы исследования:**

Под наблюдением находились 25 пациентов (50 глаз) с СД 1 типа и 42 пациента (84 глаза) с СД 2 типа. Группа контроля была представлена 47 «здоровыми» добровольцами (94 глаза). Всего было обследовано 114 пациентов (228 глаз).

Возраст пациентов варьировал от 13 до 83 лет. В каждой из указанных групп осуществляли деление на подгруппы согласно возрастному критерию.

При наличии СД формирование групп и анализ результатов исследования проводили с учетом показателей гликированного гемоглобина.

Критериями исключения из исследования являлись патологические состояния структур переднего отрезка глаза, офтальмологические хирургические и лазерные вмешательства в анамнезе.

Качественная характеристика исследуемых групп представлена в *табл. 1*.

Таблица 1.

Распределение обследованных пациентов (глаз) по наличию или отсутствию СД и возрастному критерию.

| Возраст (годы) | 13 – 34 | 35 – 56 | 57 – 83 | Всего |
|---------------------------------|----------------|----------------|----------------|------------------|
| Здоровые добровольцы | 15 (30) | 21 (42) | 11 (22) | 47 (94) |
| СД 1 типа | 20 (40) | 5 (10) | -- | 25 (50) |
| СД 2 типа | -- | 8 (16) | 34 (68) | 42 (84) |
| Всего: | | | | 114 (228) |

Количественная разнородность возрастных диапазонов объясняется крайне редкой встречаемостью СД 1 типа в старшей возрастной группе в связи с более ранними летальными исходами по сравнению с общей популяцией, а также поздней манифестацией СД 2 типа, чаще встречающегося в старшей возрастной группе (после 45 лет). СД 2 типа, диагностируемый в детском возрасте, принято относить к *MODY* – диабету. Пациенты с диагностированным *MODY* – диабетом в исследование включены не были.

Всем пациентам было проведено стандартное офтальмологическое обследование, включающее в себя сбор анамнеза, рефрактометрию, визометрию, пневмотонометрию, периметрию, биомикроскопическое обследование и офтальмоскопическое обследование глазного дна. Специальные

офтальмологические методы обследования включали световую конфокальную микроскопию на аппарате *Confoscan 4, Nidek* и лазерную конфокальную микроскопию на аппарате *HRT III* со специальной роговичной насадкой *Rostock Cornea*.

Конфокальные снимки, полученные методами световой и лазерной КМР, подвергали обработке авторским ПО *Liner 1.1*.

У 7 участников группы контроля был произведен забор слезной жидкости натошак, а также через 2 часа после проведения нагрузочной пробы на глюкозу, при помощи микропипетки объемом 5 мкл из зоны слезного ручья «в одно касание» с последующим проведением РСА полученных дифрактограмм слезы.

Для получения дифрактограмм использовали модифицированный рентгенооптический дифрактометр ДРОН-2 (НПО «Буревестник», Россия). Режим накопления: 5°/минута, ускоряющее напряжение 30кВ, Cu – трубка.

Дифрактограммы, представляющие собой зарегистрированные датчиками дифрактометра рентгенограммы, записывали на компьютер и анализировали с помощью ПО «МинКрист». Результаты вычисления площади под отождествленными линиями NaCl (галит) и глюкозы записывали в таблицу и вычисляли весовые соотношения указанных фаз.

Глюкозотолерантный тест (ГТТ) (нагрузочная проба с глюкозой) проводилась следующим образом: 75 грамм безводной глюкозы растворяли в 250 – 300 мл воды для приема пациентом “per os” в течение 3 – 5 минут натошак (исследованию предшествовало 8 – часовое голодание).

Различие полученных в данном исследовании показателей состояния НВР на парных глазах оценивали с помощью модифицированной формулы (*Страхов В.В., 2008*), ранее предложенной для оценки межочулярной асимметрии при описании глаукомных изменений, адаптированной к условиям задачи настоящего исследования:

$$ПМА = \frac{|n_{ОД} - n_{ОС}|}{|(n_{ОД} + n_{ОС})| : 2} \times 100\% ,$$

где ПМА – показатель межкокулярной асимметрии,

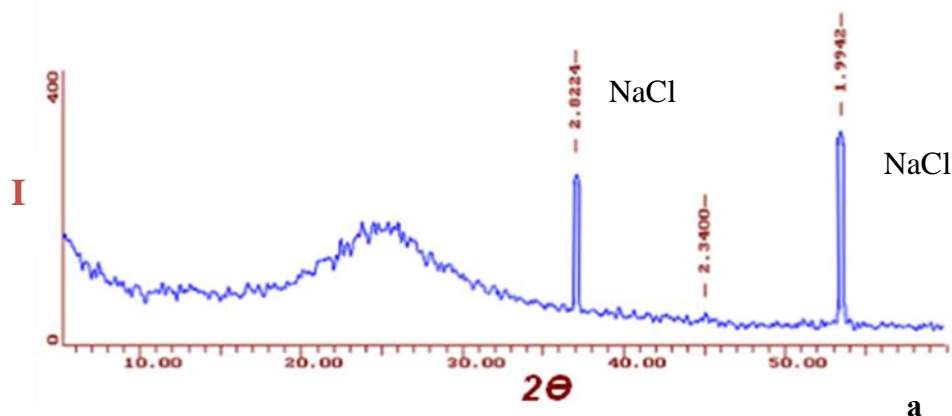
$n_{ОД}$ – исследуемые показатели правого глаза,

$n_{ОС}$ – исследуемые показатели левого глаза

Таким образом, вместо относительной разницы оцениваемых значений мы предложили использовать их абсолютную разницу, что позволило избежать ошибки, связанной с превышением исследуемого показателя для одного из глаз. Следует отметить, что такой упрощенный расчет ПМА позволяет оперировать исследуемыми показателями только в случае, если они заведомо описываются положительными величинами, отличными от нуля.

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Впервые на основе метода РСА были получены качественно-отличающиеся дифрактограммы эвапорированной СЖ забранной до и после проведения нагрузочной пробы с глюкозой. Дифрактограммы образцов СЖ, характеризующих состояние системной гипергликемии, демонстрировали появление дополнительного рефлекса на углах, соответствующих справочным значениям порошковой дифрактометрии глюкозы (рис. 1).



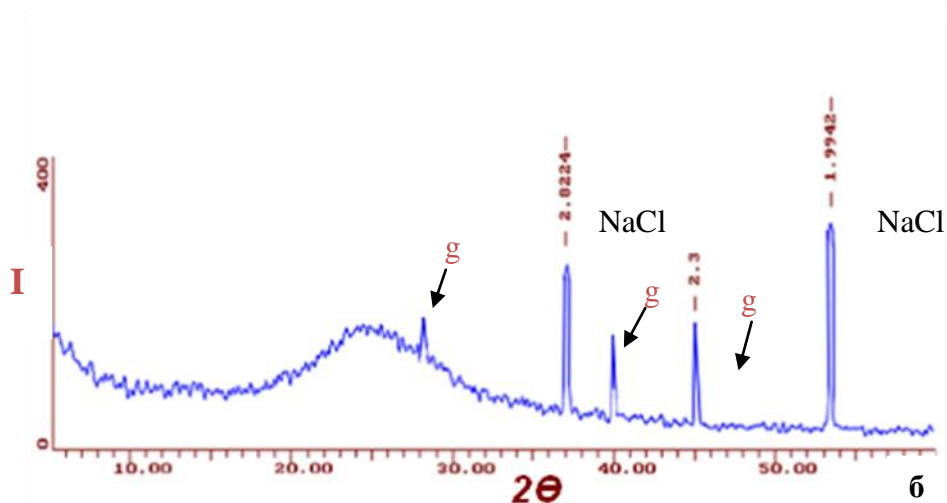


Рисунок 1. Типичные дифрактограммы эвапорированных образцов СЖ с присутствующими линиями фазы галита (NaCl). До нагрузочной пробы (а) рефлексы кристаллической глюкозы отсутствуют. После нагрузочной пробы (б) на дифрактограмме стрелкой показаны пики, соответствующие рефлексам кристаллической глюкозы. Условные обозначения: I- интенсивность, имп; Θ - угол, $^{\circ}$

Используя метод весовых порошковых эталонов смеси галита и сахара, были вычислены приблизительные весовые соотношения NaCl и глюкозы (табл. 2).

Таблица 2.

Соотношение главных минеральных электролитов и глюкозы в составе СЖ.

| №пп | До нагрузочной пробы | | | После нагрузочной пробы | | |
|-----|----------------------|------------------|----------------------------|-------------------------|------------------|----------------------------|
| | NaCl, мкг | Глюкоза кр., мкг | Соотношение глюкозы к NaCl | NaCl, мкг | Глюкоза кр., мкг | Соотношение глюкозы к NaCl |
| 1 | 12,0 | 0,0 | 0 | 18,2 | 0,7 | 0,04 |
| 2 | 19,4 | 0,1 | 0,005 | 11,6 | 0,3 | 0,02 |
| 3 | 8,8 | 0,0 | 0 | 10,3 | 0,5 | 0,05 |
| 4 | 14,5 | 0,1 | 0,007 | 11,7 | 0,6 | 0,04 |
| 5 | 20,3 | 0,2 | 0,009 | 12,4 | 0,9 | 0,07 |
| 6 | 10,3 | 0,1 | 0,009 | 16,8 | 0,7 | 0,04 |
| 7 | 17,2 | 0,0 | 0 | 18,3 | 0,4 | 0,02 |

Следует признать, что при оговоренном объеме забираемой слезы текущего разрешения метода порошковой дифрактографии недостаточно для оценки нормальной концентрации глюкозы в СЖ. Однако результат предварительной проверки применимости метода РСА можно считать положительным. На основании полученных в данном фрагменте результатов был сделан вывод о достаточности использования далее в исследовании показателя гликированного гемоглобина крови, являющегося одним из основных маркеров компенсации СД.

Для характеристики степени извитости НВР были разработаны коэффициенты анизотропии и симметричности направленности НВР ($K_{\Delta L}$ и K_{sym}), для дальнейшего анализа которых использовали авторское ПО *Liner 1.1*.

Формализация изображения в примененном ПО состоит в том, что нервное волокно на конфокальном изображении представляет собой относительно более светлую полосу определенной ширины на темном фоне.

Программа предполагает последовательный анализ различных участков исходного снимка и оценку их сродства с «идеальным» участком нерва – математически сгенерированной светлой полосой в черном квадратном поле. При этом, нервное волокно, проходящее через определенную точку, может быть расположено под любым углом, исходя из этого исследуемый участок необходимо сравнить с серией «идеальных» модельных изображений, каждое из которых повернуто на некоторый угол α относительно исходного изображения в пределах 180° .

Для объективизации оценки сродства полученного изображения и модельной функции M был использован коэффициент корреляции, который может принимать значения от -1 до 1. При этом, чем более похожи два изображения, тем большее значение имеет коэффициент корреляции. После сравнения исследуемого изображения с серией модельных функций можно получить набор коэффициентов корреляции, соответствующих различным углам α (отрицательные значения коэффициента корреляции отбрасываются). Угол α , при котором коэффициент корреляции максимальный, является наиболее вероятным углом расположения нерва в данной точке изображения. В результате

для каждой точки изображения определяют вероятность присутствия НВР и угол его расположения α (рис. 2).

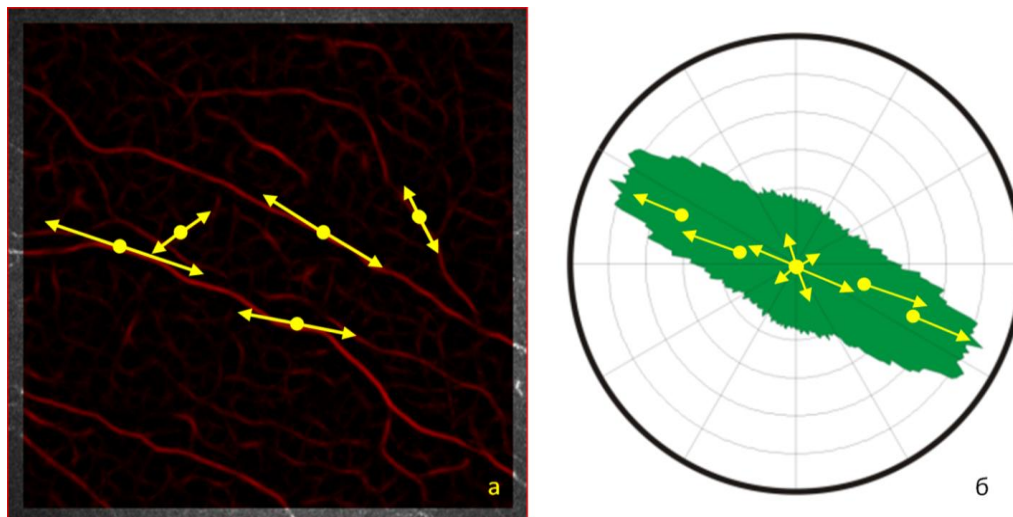


Рисунок 2. Карта вероятности прохождения нервных волокон и нанесенное для нескольких точек векторное отображение, раскрывающее величину вероятности и направление НВР (а), а также сумма всех векторов, отображенная в виде розы-диаграммы (б). Хорошо видно, что НВР в пределах данного изображения будут описывать векторы, преимущественно направленные из верхнего левого угла в нижний правый угол. Вероятности, представляющие другие направления имеют меньшие значения и встречаются реже.

В табл. 3 и 4 представлены средние величины коэффициентов $K_{\Delta L}$ и K_{sym} , полученные с помощью разработанного алгоритма анализа конфокальных снимков НВР у здоровых добровольцев и при СД 1 и 2 типов в различных возрастных группах.

Таблица 3.

Средние показатели коэффициента $K_{\Delta L}$ в разных группах ($M \pm \delta$).

| Группы | Возраст (годы) | | |
|-----------------------------|------------------|------------------|------------------|
| | 13 – 34 | 35 – 56 | 57 – 83 |
| Здоровые добровольцы | 3,92±0,82 | 3,45±0,85 | 3,11±0,74 |
| СД 1 типа | 2,49±0,79 | 1,75±0,63 | --- |
| СД 2 типа | --- | 2,62±0,59 | 2,51±0,64 |

Таблица 4.

Средние показатели коэффициента K_{sym} в разных группах ($M \pm \delta$).

| Группы | Возраст (годы) | | |
|-----------------------------|------------------|------------------|------------------|
| | 13 – 34 | 35 – 56 | 57 – 83 |
| Здоровые добровольцы | 0,8±0,07 | 0,84±0,11 | 0,87±0,11 |
| СД 1 типа | 0,89±0,11 | 0,94±0,05 | --- |
| СД 2 типа | --- | 0,88±0,11 | 0,9±0,07 |

В норме степень извитости НВР возрастает, при этом до 35-40 лет изменение этого параметра происходит быстрее, чем у пожилых людей. Коэффициент $K_{\Delta L}$ закономерно снижается в среднем от 3,92 в постпубертатной возрастной группе до 3,11 у пожилых лиц, а коэффициент K_{sym} увеличивается в среднем от 0,8 до 0,87 в соответствующих возрастных группах. Указанная

закономерность может быть связана как с нарушением трофики самого нерва, так и общими инволюционными процессами, происходящими в организме.

При СД 1 и 2 типа выявлено статистически достоверное снижение значения коэффициента анизотропии $K_{\Delta L}$ и увеличение коэффициента симметричности K_{sym} . Коэффициенты анизотропии и симметричности направленности НВР при СД 1 типа соответственно составили $2,49 \pm 0,79$; $0,89 \pm 0,11$ (возрастная группа 13 – 34 года) и $1,75 \pm 0,63$; $0,94 \pm 0,05$ (возрастная группа 35 – 56 лет), а при СД 2 типа – $2,62 \pm 0,59$; $0,88 \pm 0,11$ (возрастная группа 35 – 56 лет) и $2,51 \pm 0,64$; $0,9 \pm 0,07$ (возрастная группа 57 – 83 года).

Обращают на себя внимание более низкие средние значения коэффициента $K_{\Delta L}$ и более высокие показатели коэффициента K_{sym} при СД 1 типа по сравнению с группой СД 2 типа в одновозрастной группе ($1,75 \pm 0,63$ и $2,62 \pm 0,59$ соответственно), что возможно обусловлено большей тяжестью и более частой декомпенсацией СД 1 типа.

При сравнении показателей в разновозрастной выборке пациентов с СД коэффициент анизотропии направленности НВР оказался ниже при СД 1 типа, несмотря на то, что в группе пациентов с СД 2 типа имеет место «наложение» отмеченных выше возрастных изменений НВР. В частности, в возрастной группе 57 – 83 лет у пациентов с СД 2 типа средние значения $K_{\Delta L}$ и K_{sym} составили $2,51 \pm 0,64$ и $0,9 \pm 0,07$ соответственно, в то время как аналогичные показатели в возрастной группе 13 – 34 лет у пациентов с СД 1 типа были равны $2,49 \pm 0,79$ и $0,89 \pm 0,11$. Графически зависимость коэффициентов $K_{\Delta L}$ и K_{sym} от возраста в разных группах отображена на *рис. 3*.

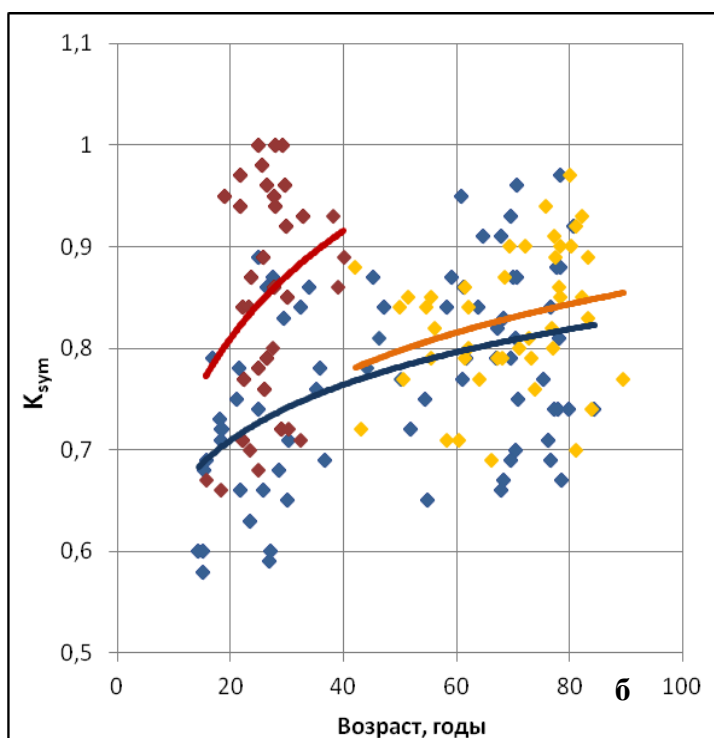
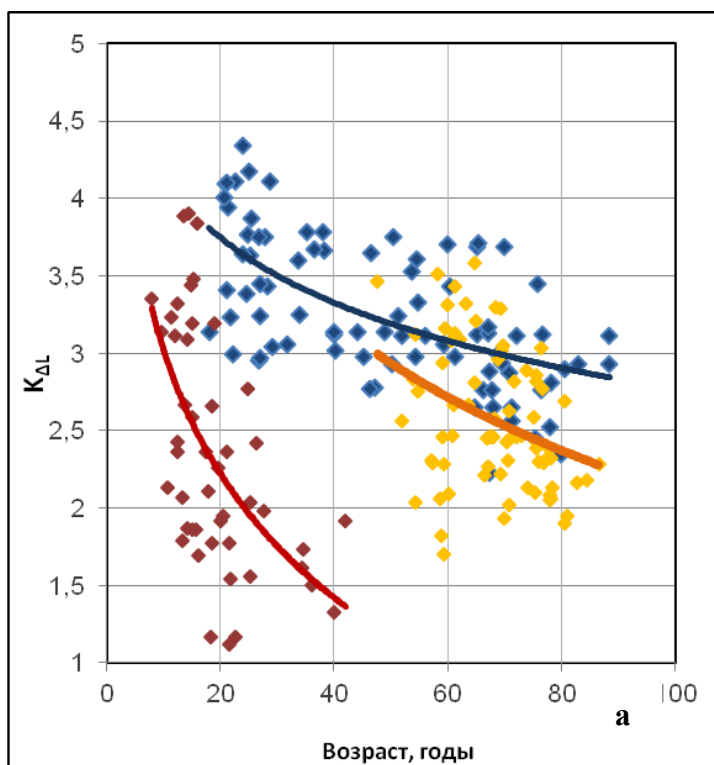


Рисунок 3. Графическое отображение распределения коэффициента анизотропии направленности НВР (а) и коэффициента симметричности направленности НВР (б) в зависимости от возраста в «норме» и при наличии СД. Условные обозначения: синий – «норма», красный – СД 1 типа, оранжевый – СД 2 типа.

Установлена сильная обратная корреляционная связь между коэффициентом анизотропии $K_{\Delta L}$ и уровнем гликированного гемоглобина у

пациентов с СД 1 и 2 типов ($r=-0,83$, $p<0,001$ и $r=-0,79$, $p<0,005$ соответственно). Выявлена прямая корреляция между коэффициентом симметричности направленности НВР и показателями гликированного гемоглобина в группе пациентов с СД 1 и 2 типов ($r=0,64$, $p<0,005$ и $r=0,78$, $p<0,05$ соответственно).

Установлена сильная обратная корреляционная связь между коэффициентом анизотропии $K_{\Delta L}$, а также длительностью заболевания у пациентов с СД 1 и 2 типов ($r=-0,7$, $p<0,005$ и $r=-0,72$, $p<0,001$ соответственно). Выявлена прямая корреляция между коэффициентом симметричности направленности НВР и длительностью заболевания в группе пациентов с СД 1 и 2 типов ($r=0,62$, $p<0,05$ и $r=0,73$, $p<0,05$ соответственно).

Более высокая корреляция с текущим уровнем гликемии по сравнению с длительностью заболевания может косвенно говорить о непосредственном воздействии глюкозы на нейротрофическую функцию НВР.

Высокий уровень гликемии соответствует низким значениям коэффициента $K_{\Delta L}$ и высоким показателям коэффициента K_{sym} . Соответственно большая длительность СД соответствует более низким показателям коэффициента $K_{\Delta L}$ и более высоким значениям коэффициента K_{sym} .

Предполагается, что уменьшение коэффициента анизотропии $K_{\Delta L}$ и увеличение коэффициента симметричности K_{sym} при СД может быть связано с сосудистыми нарушениями, накоплением продуктов распада глюкозы, снижением уровня (или активности) факторов роста нервов, оксидативным стрессом, а также генетическими нарушениями или наследственными факторами.

Кроме этого при СД была выявлена межкокулярная асимметрия коэффициентов $K_{\Delta L}$ и K_{sym} , чего практически не наблюдали в группе здоровых добровольцев.

ПМА для коэффициента $K_{\Delta L}$ при СД 1 типа составил $0,91\pm 0,12$ для возрастной группы 13 – 34 лет и $0,94\pm 0,05$ для возрастной группы 35 – 56 лет, ПМА для коэффициента $K_{\Delta L}$ в группе пациентов с СД 2 типа составил $0,8\pm 0,17$ для возрастной группы 35 – 56 лет и $0,85\pm 0,14$ для возрастной группы 57 – 83 лет.

В популяции здоровых добровольцев показатель асимметрии для $K_{\Delta L}$ составил всего $0,19 \pm 0,07$ для возрастной группы 13 -34 лет, $0,14 \pm 0,03$ для возрастной группы 35 – 56 лет и $0,17 \pm 0,05$ для возрастной группы 57 – 83 лет (табл. 5).

Таблица 5.

ПМА для коэффициента анизотропии направленности НВР в разных группах ($M \pm \delta$).

| Группы | Возраст (годы) | | |
|----------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
| | 13 – 34 | 35 – 56 | 57 – 83 |
| Здоровые добровольцы | $0,19 \pm 0,07$ | $0,14 \pm 0,03$ | $0,17 \pm 0,05$ |
| СД 1 типа | $0,91 \pm 0,12$ | $0,94 \pm 0,05$ | --- |
| СД 2 типа | --- | $0,8 \pm 0,17$ | $0,85 \pm 0,14$ |

ПМА для коэффициента K_{sym} при СД 1 типа составил $0,1 \pm 0,02$ для возрастной группы 13 – 34 лет и $0,15 \pm 0,05$ для возрастной группы 35 – 56 лет, ПМА для коэффициента K_{sym} в группе пациентов с СД 2 типа составил $0,14 \pm 0,01$ для возрастной группы 35 – 56 лет и $0,16 \pm 0,02$ для возрастной группы 57 – 83 лет.

В популяции здоровых добровольцев ПМА для K_{sym} составил $0,05 \pm 0,02$ для возрастной группы 13 -34 лет, $0,03 \pm 0,01$ для возрастной группы 35 – 56 лет и $0,03 \pm 0,01$ для возрастной группы 57 – 83 лет (табл. 6).

Таблица 6.

ПМА для коэффициента симметричности направленности НВР в разных группах ($M \pm \delta$).

| Группы | Возраст (годы) | | |
|----------------------|----------------|-----------|-----------|
| | 13 – 34 | 35 – 56 | 57 – 83 |
| Здоровые добровольцы | 0,05±0,02 | 0,03±0,01 | 0,03±0,01 |
| СД 1 типа | 0,1±0,02 | 0,15±0,05 | --- |
| СД 2 типа | --- | 0,14±0,01 | 0,16±0,02 |

Практически равнозначное увеличение ПМА для $K_{\Delta L}$ (с $0,91 \pm 0,12$ до $0,94 \pm 0,05$ при СД 1 типа, с $0,8 \pm 0,17$ до $0,85 \pm 0,14$ при СД 2 типа) может косвенно свидетельствовать о замедленном процессе поражения парных глаз, не зависящем от типа СД. Однако более высокий показатель ПМА для $K_{\Delta L}$ наблюдается в группе СД 1 типа, что, можно связать с большей тяжестью СД 1 типа по сравнению с СД 2 типа.

При анализе ПМА для K_{sym} наблюдается постепенное увеличение асимметрии, которое, наоборот, незначительно выше при СД 2 типа (при СД 1 типа ПМА для K_{sym} увеличивается с $0,1 \pm 0,02$ до $0,15 \pm 0,05$, при СД 2 типа – с $0,14 \pm 0,01$ до $0,16 \pm 0,02$).

Выявлена прямая корреляционная зависимость между показателем асимметрии для $K_{\Delta L}$ на парных глазах и длительностью СД (для СД 1 типа - $r=0,84$, $p<0,005$, для СД 2 типа - $r=0,75$, $p<0,05$). Кроме этого определена прямая корреляционная зависимость между ПМА для K_{sym} на парных глазах и длительностью СД (для СД 1 типа - $r=0,79$, $p<0,05$, для СД 2 типа - $r=0,72$, $p<0,05$).

Независимо от типа СД более высокий ПМА для коэффициента $K_{\Delta L}$ отмечен при увеличении длительности заболевания. При этом с увеличением

длительности заболевания наряду с ПМА закономерно увеличивается непосредственно показатель $K_{\Delta L}$.

Корреляция между ПМА для $K_{\Delta L}$ и для K_{sym} , а также уровнем гликированного гемоглобина в выборке пациентов с СД 1 и 2 типов была статистически недостоверной ($p > 0,05$, согласно критерию Пирсона).

ВЫВОДЫ

1) Впервые на достаточном клиническом материале (25 пациентов (50 глаз) с сахарным диабетом 1 типа, 42 (84 глаза) – с сахарным диабетом 2 типа, 47 (94 глаза) – с отсутствием клинических и лабораторных признаков СД) на основе разработанного метода анализа структуры НВР проведена оценка возрастных и характерных для СД изменений структуры и хода НВР.

2) На основе разработанного нового метода определения уровня глюкозы в слезе при анализе дифрактограмм эвапорированных проб СЖ выявлена высокая корреляция между этим показателем и уровнем глюкозы в крови.

3) В основу нового алгоритма оценки структуры НВР положен анализ извитости НВР, характеризуемой коэффициентами анизотропии и симметричности направленности НВР.

4) Определены возрастные изменения, характерные для коэффициентов анизотропии и симметричности направленности НВР: в норме степень извитости НВР возрастает, при этом до 35-40 лет изменение извитости происходит быстрее, чем у пожилых людей. Коэффициент анизотропии направленности НВР снижается в среднем с 3,92 в постпубертатной возрастной группе до 3,11 у пожилых лиц, а коэффициент симметричности направленности НВР увеличивается в среднем с 0,8 до 0,87 в соответствующих возрастных группах.

5) При СД происходит усиление степени извитости НВР и соответственное уменьшение коэффициента анизотропии и увеличение коэффициента симметричности направленности НВР. При этом имеет место сильная обратная корреляционная связь между уровнем гликированного гемоглобина, длительностью заболевания и коэффициентом анизотропии направленности НВР,

а для коэффициента симметричности направленности НВР эта зависимость имеет прямой характер.

6) Выявлена достоверная разница коэффициентов анизотропии и симметричности направленности НВР в различных клинических группах: более низкие показатели коэффициентов анизотропии и более высокие коэффициента симметричности направленности НВР отмечены в одновозрастных выборках в группе СД 1 типа по сравнению с группой СД 2 типа.

7) При СД выявлена асимметрия коэффициентов анизотропии и симметричности направленности НВР на парных глазах, чего практически не наблюдается в группе контроля.

8) Сравнительный анализ существующих методов оценки состояния НВР (световая и лазерная КМР) свидетельствует о большей информативности лазерной КМР за счет уменьшения артефактов при автоматизированных вычислениях.

9) Полученные данные свидетельствуют о возможности применения разработанного алгоритма в качестве уточняющего метода ранней диагностики диабетических изменений в ходе и структуре НВР.

Практические рекомендации:

1) Апробированный метод оценки состояния НВР может быть включен в комплексное офтальмологическое обследование пациентов с СД.

2) Для проведения конфокальной микроскопии с последующим анализом хода и структуры НВР предпочтительнее пользоваться лазерным типом конфокальной микроскопии (аппарат *HRT III* с роговичным модулем *Cornea Rostock*).

3) Предлагаемые количественные показатели (коэффициенты $K_{\Delta L}$ и K_{sym}) могут быть использованы для оценки динамики течения СД.

Список работ, опубликованных по теме диссертации:

1) Аветисов С.Э., Новиков И.А., Сурнина З.В. Состояние нервов роговицы при сахарном диабете по данным световой и лазерной биомикроскопии (предварительное сообщение) // «ВОСТОК – ЗАПАД. ТОЧКА ЗРЕНИЯ». Сб. науч. тр. – Уфа.- 2014; С. 30.

2) Сурнина З.В. Возможности световой и лазерной биомикроскопии нервов роговицы в ранней диагностике диабетической полинейропатии // **Вестник офтальмологии.- 2015.- Том 131.-№1.-С. 104- 108.**

3) Аветисов С.Э., Новиков И.А., Махотин С.С., Сурнина З.В. Вычисление коэффициентов анизотропии и симметричности направленности нервов роговицы на основе автоматизированного распознавания цифровых конфокальных изображений // **Медицинская техника.- 2015.-№3.-С. 23–25.**

4) Сурнина З.В., Аветисов С.Э., Новиков И.А., Махотин С.С. Состояние нервов роговицы при сахарном диабете по данным конфокальной сканирующей лазерной томографии // Актуальные проблемы офтальмологии (конференция молодых ученых). Сб. науч. тр. М.- 2015.- С. 159 – 163.

5) Аветисов С.Э., Сурнина З.В., Махотин С.С. Прижизненное исследование нервов роговицы при сахарном диабете на основе метода конфокальной биомикроскопии // X Съезд офтальмологов России. Сб. науч. тр. М.- 2015.- С.179.

6) Аветисов С.Э., Новиков И.А., Махотин С.С., Сурнина З.В. Новый принцип морфометрического исследования нервных волокон роговицы на основе конфокальной биомикроскопии при сахарном диабете // **Вестник офтальмологии.- 2015.-Том 131.-№4.-С. 5 -11.**

7) Аветисов С.Э., Сурнина З.В., Новиков И.А., Махотин С.С. Новые подходы к оценке состояния нервных волокон роговицы // VIII Российский общенациональный офтальмологический форум. Сб. науч. тр. М.- 2015.- С. 48-50.

Изобретение по теме диссертации:

Аветисов С.Э., Новиков И.А., Махотин С.С., Сурнина З.В. «Способ диагностики диабетической полинейропатии». Патент РФ № 2014142571 от 22.10.2014 г.

Список сокращений:

ВОЗ – Всемирная Организация Здравоохранения

ГТТ – глюкозотолерантный тест

КМР – конфокальная микроскопия роговицы

НВР – нервные волокна роговицы

ПМА – показатель межочулярной асимметрии

ПО – программное обеспечение

РСА – рентгеноструктурный анализ

СД – сахарный диабет

СЖ – слезная жидкость

$K_{\Delta L}$ – коэффициент анизотропии направленности нервных волокон роговицы

K_{sym} – коэффициент симметричности направленности нервных волокон роговицы