

УДК: [617.735+617.764.1-008.8]

**ХАРАКТЕРНІ КРИСТАЛОГРАФІЧНІ ЗМІНИ СЛЬОЗИ ПРИ РІЗНИХ
СТАДІЯХ ДІАБЕТИЧНОЮ РЕТИНОПАТІЇ**

Безкоровайна І.М. д.мед.н, проф., **Наконечний Д.О.**, **Безкоровайна А.О.**

Українська медична стоматологічна академія

Наконечний Д.О., м. Полтава, вул. Шевченка 23, Полтавська обласна лікарня ім.
М.В. Скліфосовського, кафедра оториноларингології з офтальмологією,
тел.+380951500600, електронна адреса: nakone4nyiden@gmail.com (надаю дозвіл на
публікацію електронної адреси).

Вступ. Вивчення специфічних кристалографічних ознак сльози в розвитку діабетичної ретинопатії має надзвичайний інтерес у клінічній практиці. **Мета.** Виявити залежність змін кристалографічних ознак сльози відносно стадій розвитку діабетичної ретинопатії. **Матеріали та методи.** Під нашим спостереженням було 84 пацієнта (145 очей) з цукровим діабетом. Досліджувані розподілені на три групи відповідно класифікації діабетичної ретинопатії Н.В. Пасечнікової та В.О. Науменко, прийнятої XII-м з'їздом офтальмологів України. I групу склали 36 пацієнтів (58 очей) з непроліферативною стадією, у другу II групу увійшло 25 пацієнтів (42 ока) з препроліферативною стадією, а у III групу – 23 пацієнта (45 очей) з проліферативною стадією. **Результати дослідження.** При непроліферативній стадії у 81% відмічали наявність широкої проміжної зони та дрібних точкових вкраплень в аморфній та у проміжній зоні фації сльози ($p < 0,01$); при препроліферативній стадії у 74% – патологічне кристалоутворення в аморфній зоні фації сльози з переважанням кристалів великих розмірів та широкої проміжної зони ($p < 0,01$); при проліферативній стадії у 93% відмічали підвищення щільності розташування кристалів та поодинокі кристали бурого кольору ($p < 0,01$). **Висновки.** Виявлена залежність змін типу кристалоутворення сльози у пацієнтів з препроліферативною стадією - 3 тип та з проліферативною стадією - 4 тип, достовірність якої ($p < 0,01$). Також, визначенні додаткові ознаки кристалографії сльози, залежність змін яких відповідає різним стадіям діабетичної ретинопатії, достовірність ($p < 0,01$).

Ключові слова: Діабетична ретинопатія, нативна кристалографія сльози, специфічні ознаки кристалографії.

Введение. Изучение специфических кристаллографических признаков слезы в развитии диабетической ретинопатии имеет чрезвычайный интерес в клинической практике. **Цель.** Выявить зависимость изменений кристаллографических признаков слезы относительно стадий развития диабетической ретинопатии. **Материалы и методы.** Под нашим наблюдением было 84 пациента (145 глаз) с сахарным диабетом. Исследуемые разделены на три группы в соответствии классификации

диабетической ретинопатии Н.В. Пасечниковой и В.А. Науменко, принятой XII-м съездом офтальмологов Украины. I группу составили 36 пациентов (58 глаз) с непролиферативной стадией, во вторую II группу вошло 25 пациентов (42 глаза) с препролиферативной стадией, а в III группу - 23 пациента (45 глаз) с пролиферативной стадией. **Результаты исследования.** При непролиферативной стадии у 81% отмечали наличие широкой промежуточной зоны и мелких точечных вкраплений в аморфной и в промежуточной зоне фации слезы ($p < 0,01$); при препролиферативной стадии у 74% – патологическое кристаллообразование в аморфной зоне фации слезы с преобладанием кристаллов больших размеров и широкой промежуточной зоны ($p < 0,01$); при пролиферативной стадии в 93% отмечали повышение плотности расположения кристаллов и одиночные кристаллы бурого цвета ($p < 0,01$). **Выводы.** Выявлена зависимость изменений типа кристаллообразования слезы у пациентов с препролиферативная стадией - 3 тип и с пролиферативной стадией - 4 тип, достоверность которой ($p < 0,01$). Также, определены дополнительные признаки кристаллографии слезы, зависимость изменений которых соответствует различным стадиям диабетической ретинопатии, достоверность ($p < 0,01$).

Ключевые слова: диабетическая ретинопатия, нативная кристаллография слезы, специфические признаки кристаллографии.

Вступ. Неінвазивні способи оцінки якісного складу сльози, що базуються на вивченні її біохімічних та імунологічних властивостей при різних формах діабетичної ретинопатії (ДРП) відомі в усьому світі [2,9], а в Україні, не набули поширення через необхідність дорогого обладнання та реактивів. Вітчизняними науковцями активно вивчалася альтернативна методика - нативна кристаллографія сльози - досить проста у застосуванні та є індикатором порушення рівноваги між компонентами сльози [3,4,5,7].

Несвоєчасна діагностика ДРП ускладнює проведення адекватної патогенетично орієнтованої корекції виявлених порушень та є одною з основних причин інвалідизації хворих [1,6,8,10,11]. В доступній літературі не описані дані

специфічних кристалографічних ознак сльози при різних стадіях ДРП, що не дає можливість широкого її використання у практиці. Тому, дослідження цих питань та подальше впровадження результатів в клінічну практику має надзвичайний інтерес.

Мета. Виявити залежність змін кристалографічних ознак сльози відносно стадій розвитку діабетичної ретинопатії.

Матеріали та методи. Під нашим спостереженням було 84 пацієнта (145 очей) з цукровим діабетом, що знаходилися на лікуванні в ендокринологічному відділенні Полтавської обласної клінічної лікарні ім. М.В. Скліфосовського та районному ЦПМСД. Вік пацієнтів склав від 56 до 80 років, середній вік склав $63 \pm 0,04$ роки. Серед них: 51 (61%) жінка та 33 (39%) чоловіка. Усі пацієнти знаходилися під наглядом лікарів ендокринолога та кардіолога і отримували необхідну цукрознижуючу та гіпотензивну терапію. Також усі пацієнти попередньо були проконсультовані лікарем офтальмологом. Усім хворим основних груп призначалася базисна цукрознижуюча терапія, крім того, 29 пацієнтам (35%) додатково призначався фенофібрат (трайкор) 145 мг 1раз на добу. У 26 (31%) пацієнтів в анамнезі проведена лазерна коагуляція сітківки, у іншій частині пацієнтів лазерне лікування не проводилося по ряду об'єктивних та суб'єктивних причин. Досліджувані розподілені на три групи відповідно класифікації ДРП Пасечнікової Н.В. та Науменко В.О., прийнятої XII-м з'їздом офтальмологів України.

Першу (I) групу склали 36 пацієнтів (58 очей) з непроліферативною діабетичною ретинопатією (НДРП), другу (II) - 25 пацієнтів (42 ока) з препроліферативною діабетичною ретинопатією (ППДРП), третю (III) – 23 пацієнта (45 очей) з проліферативною діабетичною ретинопатією (ПДРП). Дані візометрії за таблицями ETDRS у пацієнтів I групи склали $0,71 \pm 0,02$, у пацієнтів II групи – $0,3 \pm 0,03$, в III групі – $0,08 \pm 0,01$. У пацієнтів I групи спостереження на очному дні виявляли поодинокі мікроаневризми 58 очей (100%), ретинальні крововиливи 19 очей (33%) та ватні «ексудати» 11 очей (19%); II групи – мікроаневризми та крововиливи у 4 квадрантах очного дна 34 ока (81%), сегментарне розширення вен сітківки 19 очей (45%), інтратретинальні мікросудинні аномалії 18 очей (43%); III

групи – неоваскуляризація диска зорового нерва 45 очей (100%), преретинальні крововиливи 20 очей (44%), тракційне відшарування сітківки 1 око (2%), гемофтальм 3 ока (7%). Контрольну групу (КГ) склали дві підгрупи пацієнтів без цукрового діабету: I – 30 пацієнтів з синдромом «сухого ока» (60 очей) та II – 15 (30 очей) пацієнтів без офтальмологічної патології. Поля зору відповідали по тяжкості змін на очному дні.

Для визначення ступеня тяжкості синдрому «сухого ока» (ССО) на фоні цукрового діабету оцінювали: сумарну сльозопродукцію (тест Ширмер I), стабільність слізної плівки (проба Норна), виразність складок нижнього латерального квадранта кон'юнктиви очного яблука, які розташовувалися паралельно нижньому краю повік (тест LIPCOF).

Забір сльози для кристалографії здійснювали з нижнього склепіння кон'юнктивального мішка за допомогою стерильних градуйованих піпеток, біосубстрат поміщали в пробірки Еппендорфа не більше ніж на 2 години. Потім інсуліновим шприцем наносили краплю біосубстрату на знежирене предметне скло, що розташовувалося горизонтально. При температурі 20-25°C і відносній вологості повітря 65-70% зразок висушувався протягом 24 годин. Показники фіксували термогігрометром TFA 45204250 два рази протягом 24 годин. Вивчення кристалограм (Кгр.) починали після спливу встановленого часу на висушування фації сльози. Мікроскопічний аналіз Кгр. проводили під світловим мікроскопом при збільшенні у 40, 100, 200 та 800 раз і фотографували через мікрофотонасадку. У випадках незначної кількості та зміни в'язкості сльози, переважно у пацієнтів з проліферативною ДРП, для її нестимульованого забору проводилось блокування сльозних точок обтураторами. Час забору, в такому випадку складав до 10 хвилин в одному оці. Результатом дослідження вважали співвідношення отриманої картини закристиалізованої сльози з одним з чотирьох описаних раніше наступних типів [3]:

1-й тип – рівномірний розподіл кристалічних структур по всьому полю зору без пробілів між «папоротниками». Поодинокі «папоротники» великого розміру тісно розгалужуються.

2-й тип – кристалографічна картина схожа з першим типом кристалізації, однак поодинокі «папоротники» меншої величини та з більш низькою частотою розгалуження, чим при 1-му типі кристалізації. Між папоротниками з'являються пусті проміжки.

3-тип – правильна кристалографічна картина представлена лише в окремих ділянках поля зору. Окремі «папоротники» не великого розміру, з дефектом будови, з рідкими або повністю відсутніми галуженнями. Видно обширні пусті простори з муциновими включеннями без при знаків якої-небудь організації.

4-тип – феномен папоротника відсутній. В полі зору мікроскопа видно скупчення та ниті слизу, що являють собою денатурований муцин, змішаний з дегенеративно-зміненими клітинами епітелія очної поверхні.

Також, проводили аналіз кристалографічних ознак, які не підпадали опису у вищезазначених типах кристалограм. Всі ці ознаки отримали бальну оцінку за фактом наявності або за ступенем вираженості (Від 0 до 1 або 2 балів). В подальшому проводилася оцінка кореляційної залежності цих ознак відповідно до стадій ДРП.

Статистична обробка результатів виконана за допомогою пакета прикладних програм STATISTICA 6,0 (StatSoft. Inc., США), описової статистики пакету програм EXCEL.

Результати досліджень та обговорення. Встановити залежність між типами кристалограм та НДРП в I групі спостереження не вдалося. В II групі спостерігали прямий кореляційний зв'язок між ППДРП та 3 типом кристалограм, в III групі – між ПДРП та 4 типом кристалограм. В контрольній групі спостерігався кореляційний зв'язок у II підгрупі з 1-им типом кристалограм, а у I підгрупі встановити відповідну залежність не вдалося (табл. 1).

Табл.1.

Залежність типу кристалограми від форми діабетичної ретинопатії.

№	Тип кристалограми	Поширеність	Коефіцієнт кореляції, r
I гр у	1	9%	0,11

	2	41%	0,3
	3	50%	0,38
	4	0%	0
II група	1	0%	0
	2	7%	0,1
	3	88%	0,64*
	4	5%	0,1
III група	1	0%	0
	2	0%	0
	3	9%	0,05
	4	91%	0,71*
КГ I підгрупа	1	0%	0
	2	57%	0,41
	3	43%	0,34
	4	0%	0
КГ II підгрупа	1	93%	0,73*
	2	7%	0,09
	3	0%	0
	4	0%	0

Примітка: * - достовірна наявність зв'язку $p < 0,01$

Також, при аналізі кристалограм нами були помічені додаткові ознаки кристалографії у основних групах. Так, в I групі спостереження при НДРП спостерігали пряму залежність наявності широкої проміжної зони та дрібних точкових вкраплень в аморфній та проміжній зонах. Їх поєднання з іншими додатковими ознаками кристалографії, що спостерігали у 53% (31 око) – не мало достовірного підтвердження $p < 0,05$ (табл. 2, рис1.).

Табл. 2.

Кореляція між додатковими ознаками кристалографії та НДРП

№	Додаткові кристалографічні ознаки	Поширеність	Коефіцієнт кореляції, r	Ступінь вираженості ознак		
				0 балів	1 бал	2 бали
I група	Широка проміжна зона	81%	0,62*	-	28%	72%
	Дрібні точкові вкраплення в аморфній та в проміжній зонах	81%	0,62*	-	28%	72%
	Кристали солей центральної зони неправильної форми з невпорядкованим розташуванням	55%	0,38	12,5%	28,5%	59%
	Відсутність галуження основного стовбура 3-го й 2-го порядку в центральній зоні	55%	0,38	12,5%	28,5%	59%
	Феномен патологічного кристалоутворення в аморфній зоні	26%	0,25	27%	53%	20%

Примітка: * - достовірна наявність зв'язку $p < 0,01$

В II групі спостереження при ППДРП спостерігали пряму залежність наявності патологічного кристалоутворення в аморфній зоні фації сльози з переважанням кристалів великих розмірів та широкою проміжною зоною. Їх поєднання з іншими додатковими ознаками кристалографії, що спостерігали у 57% (24 ока) – не мало достовірного підтвердження $p < 0,05$ (табл. 3, рис. 2).

Табл. 3.

Кореляція між додатковими ознаками кристалографії та ППДРП

№	Додаткові кристалографічні ознаки	Поширеність	Коефіцієнт кореляції, r	Ступінь вираженості ознак		
				0 балів	1 бал	2 бали
II група	Патологічне кристалоутворення в аморфній зоні фації сльози з переважанням кристалів великих розмірів	74%	0,57*	3%	26%	71%
	Широка проміжна зона	74%	0,57*	3%	26%	71%
	Дрібні точкові вкраплення в аморфній та в проміжній зонах	52%	0,35	14%	27%	59%
	Кристали солей центральної зони неправильної форми з невпорядкованим розташуванням	50%	0,33	-	29%	71%
	Відсутність галуження основного стовбура 3-го й 2-го порядку в центральній зоні	40%	0,29	23%	65%	12%
	Підвищення щільності розташування кристалів в центральній зоні	24%	0,23	86%	14%	-
	Поодинокі кристали бурого кольору в центральній зоні	24%	0,23	86%	14%	-

Примітка: * - достовірна наявність зв'язку $p < 0,01$

В III групі спостереження при ПДРП спостерігали пряму залежність наявності підвищеної щільності розташування кристалів та поодиноких кристалів бурого кольору в центральній зоні фації сльози. Їх поєднання з іншими додатковими ознаками кристалографії, що спостерігали у 40% (18 очей) – не мало достовірного підтвердження ($p > 0,05$) (табл. 4, рис. 3).

Табл. 4.

Кореляція між додатковими ознаками кристалографії та ПДРП

№	Додаткові кристалографічні ознаки	Поширеність	Коефіцієнт кореляції, r	Ступінь вираженості ознак		
				0 балів	1 бал	2 бали
III група	Підвищення щільності розташування кристалів центральної зони	93%	0,74*	-	10%	90%
	Поодинокі кристали бурого кольору в центральній зоні	93%	0,74*	-	10%	90%
	Патологічне кристалоутворення в проміжній зоні фації сльози з переважанням кристалів великих розмірів	38%	0,34	35%	35%	30%
	Широка проміжна зона	38%	0,34	35%	35%	30%
	Дрібні точкові вкраплення в аморфній та в проміжній зонах	33%	0,32	-	60%	40%
	Відсутня аморфна зона фації сльози	18%	0,2	-	40%	60%

Примітка: * - достовірна наявність зв'язку $p < 0,01$

Результати досліджень включених в загальну схему виявлення ступеню тяжкості ССО: результати тестів Ширмера, LIPCOF та проби Норна представлені в табл. 5.

Табл. 5.

Оцінка функціональних тестів у хворих з різними стадіями діабетичної ретинопатії.

Назва тесту/проби	Пацієнти з НПДРП (n=58)	Пацієнти з ППДРП (n=42)	Пацієнти з ПДРП (n=45)	КГ I підгрупа (n=60)	КГ II підгрупа (n=30)
Тест Ширмера, мм/с	7 ± 3,2	5 ± 2,5	2 ± 1,1	10±1,4	14 ± 1,8
Проба Норна, с	7,3 ± 0,4	4,1 ± 0,8	2,2 ± 0,3	9,2±0,7	18 ± 1,5
Тест LIPCOF	1±0,11	2±0,54	3±0,02	1±0,5	0±0,23

Ступінь тяжкості синдрому сухого ока, у наших дослідженнях, прямо корелював із змінами на кристалограмах. Так, у пацієнтів з НПДРП відмічався 2 ступінь тяжкості ССО у 58% випадків, а 1-й ступінь – у 42% випадків. У пацієнтів даної групи залежність типу кристалограми від НПДРП була не достовірною, проте спостерігалася залежність між додатковими кристалічними ознаками: широкою проміжною зоною та дрібними точковими вкрапленнями в аморфній та в проміжній зоні фації сльози. У пацієнтів з ППДРП відмічався 3 ступінь тяжкості ССО у 74% випадків, а 2 ступінь – 26% випадків. В даній групі спостереження спостерігався 3-тип кристалограм з додатковими кристалічними ознаками: патологічним кристалоутворенням в аморфній зоні фації сльози з переважанням кристалів великих розмірів та широкою проміжною зоною. У пацієнтів з ПДРП відмічався 4 ступінь тяжкості ССО у 100% випадків та 4-тип кристалограм з додатковими

кристалічними ознаками: підвищення щільності розташування кристалів та поодинокі кристали бурого кольору в центральній зоні фації сльози.

Таким чином, при НДРП у 81% відмічали наявність широкої проміжної зони та дрібних точкових вкраплень в аморфній та у проміжній зоні фації сльози ($p < 0,01$); при ППДРП у 74% – патологічне кристалоутворення в аморфній зоні фації сльози з переважанням кристалів великих розмірів та широкої проміжної зони ($p < 0,01$); при ПДРП у 93% відмічали підвищення щільності розташування кристалів та поодинокі кристали бурого кольору ($p < 0,01$).

Висновки.

1. Виявлена достовірна залежність змін типу кристалоутворення сльози у пацієнтів з ППДРП - 3 тип та з ПДРП - 4 тип з ($p < 0,01$).
2. Визначена залежність появи додаткових кристалографічних ознак сльози при НДРП - у 81% пацієнтів (широка проміжна зона та дрібні точкові вкраплення в аморфній, проміжній зонах ($p < 0,01$)).
3. Визначена залежність появи додаткових кристалографічних ознак сльози при ППДРП - у 74% пацієнтів (патологічне кристалоутворення в аморфній зоні з переважанням кристалів великих розмірів та широка проміжна зона ($p < 0,01$)).
4. Визначена залежність появи додаткових кристалографічних ознак сльози при ПДРП - у 93% пацієнтів (підвищення щільності розташування кристалів та поодинокі кристали бурого кольору в центральній зоні ($p < 0,01$)).

ЛІТЕРАТУРА:

1. Безкоровайна І.М. Клінічні особливості змін сітківки залежно від типу цукрового діабету / І.М. Безкоровайна, Л.К. Воскресенська, В.В. Ряднова, А.А. Шаткун // «Врачебное дело» - Киев, 2016 – С. 104-108.

2. Бржеский В. В. Слезная жидкость - биологический материал для диагностических исследований / В.В. Бржеский, Е.Е. Сомов // Актуальные проблемы детской офтальмологии: Науч. материалы. - СПб., 1995. - С. 28-31.
3. Завгородняя Н.Г. Ранняя диагностика синдрома «сухого глаза» по оценке качественного состава слезы / Н.Г. Завгородняя, О.А. Исакова // Офтальмологический журнал. – 2005. – № 5. – С. 18–20.
4. Завгородняя Н.Г. Цитологический статус конъюнктивы и изменения качественного состава слезы у пациентов с синдромом «сухого глаза» после инстилляций современных топических фторхинолонов / Н. Г. Завгородняя, А. А. Брижань // Запорожский медицинский журнал №3 (84) - Запорожье, 2014 – С. 52-58.
5. Мошетьова Л.К. Современное представление о слезной жидкости, значение ее в диагностике / Л.К. Мошетьова, О.А. Волков // Клиническая офтальмология, 2004.-Т. 5.– № 4.– С. 138-139.
6. Пасечникова Н.В. Состояние гематоретинального барьера при диабетической ретинопатии по данным флюорометрии / Н.В. Пасечникова, В.А. Науменко, А.В. Зборовская и соавт. // Офтальмологический журнал. – 2008. - №5. – С. 4-7.
7. Шабалин В.Н. Морфология жидких сред глаза / В.Н. Шабалин, С.Н. Шатохина и др. // М.: Медицина, 2004. – С.243.
8. International Diabetes Federation [Электронный ресурс] / Режим доступа: <http://www.idf.org/diabetesatlas>. – Загол. з экрану.
9. Grus FH. Analysis of tear-protein patterns as a diagnostic tool for the detection of dry-eyes in diabetic and non-diabetic dry-eye patients / Grus F.H., Augustin A.J., Evangelou N.G., Toth-Sagi K // Eur J Ophthalmol. 1998, 8 (2) – P. 90-97.
10. Richard G. Fluorescein and ICG angiography / Richard G. – Thieme Medical Publishers, Inc., New York, 1998. – 369 p.
11. Walker. J. Диабетическая ретинопатия просто о сложном / J. Walker, С.А. Рыков, С.А. Сук, С.Г. Саксонов // Киев 2013. – С.13.