Ланевская Наталия Иосифовна. Патофизиологические механизмы развития ранних стадий диабетической ретинопатии : диссертация ... кандидата биологических наук : 14.00.16 / Ланевская Наталия Иосифовна; [Место защиты: Государственное учреждение "Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии РАМН"].- Москва, 2004.- 141 с.: ил.

**ГОСУДАРСТВЕННОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ «МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИКО - СТОМАТОЛОГИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ**

**ФЕДЕРАЦИИ»**

/

Ланевская Наталия Иосифовна

**04.20** **0.4** **1** **79** **1** **3** '

**ПАТОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ РАЗВИТИЯ РАННИХ СТАДИЙ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ**

**РЕТИНОПАТИИ**

14.00.16 - Патологическая физиология

Диссертация

на соискание ученой степени кандидата биологических наук

Научные руководители: доктор биологических наук, профессор Э.М.Миронова, кандидат медицинских наук

Н.А.Гаврилова

Москва 2004

**ОГЛАВЛЕНИЕ**

**ВВЕДЕНИЕ '.** стр. 5

**ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ '**

**ГЛАВА 1. ПАТОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ РАЗВИТИЯ**

**ДИАБЕТИЧЕСКОЙ РЕТИНОПАТИИ стр. 12**

1.1 Роль метаболических фаторов в развитии диабетичской

ретинопатии стр. 12

1. Роль имунных нарушений в развитии диабетической ретинопатии стр. 18
2. Состояние эндотелия сосудов при развитии диабетической ретинопатии стр. 26
3. Роль гормональных нарушний в развитии диабетической ретинопатии стр. 34
4. Роль гемореологических и гемодинамических нарушений в патогенезе диабетической ретинопатии стр. 35

**ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ** .: стр.41

1. Объем исследований стр.41
2. Методы клинических и лабораторных исследований стр.43
3. Инфракрасное светодиодное излучение стр.48

**РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ**

**ГЛАВА 3. ПАТОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ РАЗВИТИЯ**

**ДИАБЕТИЧЕСКОЙ РЕТИНОПАТИИ** СТр.49

* 1. Состояние коагуляционной активности слезной жидкости и концентрации в ней глюкозы при ранних стадиях стр. 49
  2. Ферментативная активность слезной жидкости и ее роль в развитии диабетической ретинопатии стр. 57
  3. Гормональный статус и гемостатический потенциал при ранних

стадиях диабетической ретинопатии и их диагностическое значение стр. 63

* 1. Функциональное состояние эндотелия при диабетической ретинопатии стр. 67
  2. Диагностика ранних стадий диабетической ретинопатии с

. *t*

использованием эндотелиальных факторов стр. 73

* 1. Системный и локальный иммунитет при диабетической ретинопатии стр. 74
  2. Сосудисто- тромбоцитарный и коагуляционный гемостаз при диабетической ретинопатии стр. 77
  3. Патофизиологические особенности развития тромбоза вен сетчатки

у пациентов с диабетической ретинопатией стр. 83

**ГЛАВА 4. РЕЗУЛЬТАТЫ ВОЗДЕЙСТВИЯ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ИНФРАКРАСНОГО СВЕТОДИОДНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА КОАГУЛЯЦИОННУЮ И ФЕРМЕНТАТИВНУЮ АКТИВНОСТЬ СЛЕЗНОЙ ЖИДКОСТИ** стр. 87

1. Оптимальный режим воздействия на орган зрения низоинтенсивного инфракрасного светодиодного излучения стр. 87
2. Влияние инфракрасного светодиодного излучения на состояние ферментативной и коагуляционной активности слезной жидкости при диабетической ретинопатии : стр. 98

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ стр. 101**

**ВЫВОДЫ** СТр. 113

[**БИБЛИОГРАФИЯ** СТр. 115](#bookmark7)

**ч**

**Список сокращений**

|  |  |
| --- | --- |
| А | Адреналин у |
| АКТГ . | Адренокортикотропный гормон |
| АЧТВ | Активированное частичное тромбопластиновое время |
| (З-ЛП | Бета - липопротеиды |
| **ГГТ** | Г амма - глутамилтрансфераза |
| ДА | Дофамин |
| **др** | Диабетическая ретинопатия |
| **Ig** | Иммуноглобулины |
| ИЛ-|3 | Интерлейкин 1-бета |
| **иси** | Инфракрасное светодиодное излучение |
| ИФН- а и у | Интерферон альфа и гамма |
| КА | Катехоламины |
| КАСЖ | Коагуляционная активность слезной жидкости |
| **лдг** | Лактатдегидрогеназа |
| НА | Норадреналин |
| **N02** | Оксид азот |
| ПВ | Протромбиновое время |
| ПОЛ | Перикисное окисление липидов |
| **сд** | Сахарный диабет |
| **сод** | Супероксиддисмутаза |
| **сж** | Слезная жидкость |
| **стг** | Соматотропный гормон |
| sVCAM | Растворимая форма молекулы адгезии сосудистого эпителия |
| ТВ | Тромбиновое время |
| **тг** | Триглицериды |
| t-PA | Тканевой активатор плазминогена |
| ФАСЖ | Фибринолитическая активность слезной железы |
| ФВ | Фактор Виллебранда |
| ФНО-а | Фактор некроза опухоли - альфа |
| ЦИК | Циркулирующие иммунные комплексы |
| ЩФ | Щелочная фосфатаза |

ВВЕДЕНИЕ

Проблема сахарного диабета (СД) остается актуальной, несмотря на достижения современной медицины. Это определяется исключительно быстрым ростом заболеваемости во всем мире, а также опасностью и частотой осложнений. По данным ВОЗ в мире насчитывается свыше 150 млн. больных СД, специальные расчеты экспертов показывают, что к 2010 году количество больных достигнет 230 млн. [Amos A., McCarty D., 1997]. Согласно данным Центра профилактической медицины РФ распространенность СД в России составляет 7,5 - 36 на 1000 населения. По результатам эпидемиологического исследования профессора Е.С. Либман (2000) в России выявлено около 10 млн. больных СД. В Москве - по данным главного эндокринолога профессора Анциферова М.Б. около 200 тысяч больных СД и наблюдается отчетливая тенденция к увеличению их числа - ежегодно в среднем на *5%.*

Одним из наиболее распространенных и прогностически неблагоприятных проявлений СД остается диабетическая ретинопатия (ДР), приводящая к значительному снижению зрения, слепоте и инвалидности. Отсутствие жалоб у пациентов на начальном этапе заболевания приводит к тому, что поражение сетчатки долгое время остается незамеченным. В связи с тем, что эффективность лечения ДР значительно снижается по мере ее прогрессирования, проведение диагностических и лечебно-профилактических мероприятий целесообразно начинать с самых ранних стадий ее развития.

В настоящее время для диагностики ранних стадий используются методы, основанные на проведении ангиографических, электрофизиологических исследований и исследований слезной жидкости (СЖ) [Дудникова Л.К., 1982; 1993; Сорокин Е.Л., 1998; Лебедева Е.Н., 1999; Очирова Э.А., 2000; Архипова М.М., 2000].

Методы, связанные с исследованием СЖ, несмотря на их эффективность, широкого распространения на сегодняшний день в клинической практике не получили в связи с недоступностью диагностических реактивов и сложностью их использования в ряде случаев.

Ограниченность и отсутствие дифференцированных лечебно­профилактических подходов на ранних стадиях ДР может объясняться недостаточно сформированной патофизиологической концепцией развития ранних стадий этой патологии.

Таким образом, остается актуальной и социально-значимой проблема изучения патофизиологических механизмов развития ранних стадий ДР и поиска новых, современных, эффективных методов диагностики и профилактических подходов к этой патологии.

Патологические процессы при СД развиваются неравномерно, имеют выраженные локальные особенности и протекают с различной тяжестью, не всегда совпадающей с тяжестью основного заболевания. В связи с этим все большее внимание исследователей в области офтальмологии при СД привлекает изучение локальных патологических механизмов развития ДР.

Однако авторам, как правило, удается проводить исследование конкретных параметров, без установления причинно-следственных связей патогенетических изменений на локальном и системном уровнях. Решение этих вопросов имеет важное научное и практические значение 'для создания дифференцированной системы диагностики и патофизиологически ориентированных методов профилактики и лечения.

Одним из наиболее ранних проявлений СД является поражение сосудов микроциркуляторного русла. Ранняя и достоверная диагностика диабетической микроангиопатии имеет огромное значение для своевременного и целенаправленного проведения лечебно-профилактических мероприятий.

Разработанная в последние годы принципиально новая система для анализа сосудов глазного дна [Гаврилова Н.А., Бранчевский С Л, Ильясова

Н.Ю., 2004], позволяет выявлять патологические изменения сосудистой системы с самых ранних стадий, открывает новые возможности в создании современных перспективных диагностических методов и позволяет дополнить

имеющиеся представления о патофизиологических механизмах развития диабетической микроангиопатии.

Кроме того, на современном этапе развития науки появилась возможность получить наиболее полное представление о характере сосудистых изменений при ряде патологий благодаря исследованиям состояния эндотелия сосудистой стенки, которые проводятся на основании определения содержания в крови биологически активных субстанций, синтезируемых в эндотелиальных клетках.

Однако, несмотря на важность этой проблемы, состояние эндотелия на данный момент остается одним из наименее исследованных разделов экспериментальной и клинической медицины.

На протяжении многих лет для исследователей представляли интерес иммунологические аспекты развития ДР, но только с появлением объективного неинвазивного, широкодоступного, дифференцированного цифрового метода диагностики в офтальмологии появилась возможность оценить состояние иммунного статуса в зависимости от стадии развития патологии, начиная с самых ранних ее проявлений.

С применением этого метода открываются и более широкие возможности в изучении роли локальных метаболических факторов в процессе развития ДР.

Недостаточно сформированы на сегодняшний день представления о состоянии локального и системного гемостаза, их взаимосвязи в зависимости от степени выраженности патологического процесса при ДР и связанными с ними особенностями течения данной патологии.

Таким образом, патофизиологическая концепция развития ранних стадий ДР требует дальнейшего, более глубокого изучения ее механизмов для создания на основе современных представлений и возможностей более точных и высокоинформативных диагностических и эффективных лечебно­профилактических методов.

ЕГ настоящее время стремление к оптимизации терапевтического эффекта при лечебно-профилактическом использовании внешних физических факторов связано с уменьшением дозы воздействия и его синхронизацией с ритмами функционирования биологических систем.

Все большее применение в последние годы в различных областях

медицины находит низкоэнергетическое излучение инфракрасного диапазона

<

(0,8-1,3 мкм), создаваемое полупроводниковыми лазерными источниками и светодиодными излучателями [Измайлов А .С., 1993; Волков В.В. и др., 1994, 1995; Балашевич Л.И. и др., 1998; Оковитов В.В. и др., 1999].

Светодиодные источники имеют больший по сравнению с полупроводниковыми лазерами ресурс работы, не требуют сложных схем управления, имеют близкие к ним монохроматичность и спектральную плотность мощности, по эффективности излучение светодиодов незначительно отличается от излучения полупроводниковых лазеров, а стоимость светодиодных устройств несоизмеримо меньше лазерных.

Оптическое излучение инфракрасного диапазона совпадает с частотами собственных колебаний функциональных систем организма, обладает биостимулирующим действием, повышает окислительно-восстановительный потенциал, стимулирует метаболические процессы. В связи с этим, с нашей точки зрения, использование инфракрасного светодиодного излучения (ИСИ) может быть целесообразно в отношении коррекции локальных метаболических нарушений при ДР.

Исходя из вышеизложенного, были определены цель и задачи исследования.

Цель настоящего исследования состояла в изучении патофизиологических механизмов развития ранних стадий ДР, разработке на этой основе критериев диагностики, прогнозирования ее течения и метода профилактики развития с использованием инфракрасного светодиодного излучения.

Соответственно цели были сформулированы следующие задачи исследования:

1. Оценить состояние коагуляционной активности слезной жидкости (СЖ) и концентрации в ней глюкозы у больных с ранними стадиями ДР,

определить степень их информативности для диагностики ранних стадий и прогностическую значимость.

1. Изучить роль и значение ферментативной активности СЖ (глутамилтрансферазы - ГТТ, лактатдегидрогеназы - ЛДГ, щелочной фосфатазы - ЩФ ) в развитии ДР, определить степень ее информативности для диагностики ранних стадий ДР.
2. Изучить состояние гормонального статуса, системного и локального гемостаза, их взаимосвязь и роль в развитии ранних стадий ДР.
3. Исследовать функциональное состояние эндотелия сосудистой стенки в процессе развития ДР с использованием в качестве маркеров - sVCAM, эндотелина, фактора Виллебранда, тканевого активатора плазминогена, N02 и гомоцистеина, изучить возможность создания на основе исследования эндотелиальных факторов диагностического комплекса для ранних стадий ДР.
4. Исследовать состояние системного и локального гуморального, цитокинового и интерферонового звеньев иммунитета в процессе развития

ДР-

1. Изучить состояние сосудисто-тромбоцитарного, локального и системного гемостаза в процессе развития ДР и патофизиологические особенности развития тромбоза вен сетчатки у пациентов с ДР, определить диагностические критерии вероятности его развития.
2. Выработать оптимальный режим воздействия на орган зрения низкоинтенсивного инфракрасного светодиодного излучения, изучить его влияние на состояние ферментативной и коагуляционной активности слезной жидкости при ДР.

**Научная новизна работы:**

Впервые дана комплексная оценка состояния коагуляционной активности

СЖ и концентрации в ней глюкозы; разработан способ диагностики ранних

стадий ДР, включающий одновременное исследование уровня коагуляционной

активности СЖ и концентрации в ней глюкозы, и его математическая модель (Патент РФ на изобретение № 2003500 от 20.10.00);

Впервые проведена оценка ферментативной активности СЖ (ЛДГ, 1ТТГ ЩФ) в ранних стадиях ДР и установлена целесообразность ее исследования - для оценки локальных метаболических нарушений у пациентов с ранними стадиями ДР; для выявления осложненного типа течения ДР с развитием оптической нейропатии разработан способ, основанный на исследовании активности ЩФ в СЖ (Положительное решение о выдаче Патента РФ по заявке на изобретение № 2003110210 от 21.04.04.);

Изучена роль гормонального статуса и гемостатических потенциалов (системного и локального) у больных с ранними стадиями ДР, впервые показано, что одним из первых признаков’ патологического действия повышенного уровня гормонов (катехоламинов) при ДР является достоверное увеличение локального гемостатического потенциала;

Выявлены особенности механизма повреждения эндотелия сосудов у больных с ранними стадиями ДР. Разработан дифференциальный способ диагностики ранних стадий ДР, основанный на цифровом исследовании сосудов глазного дна и исследовании эндотелиальных факторов (заявка на Патент РФ на изобретение № 2004117575 от 10.06.04. );

Проведено исследование иммунного статуса в процессе развития ДР, начиная с функциональной стадии, определено значение субклинической, как активной, но обратимой с точки зрения проведения лечебно-профилактических мероприятий стадии.

Изучены особенности состояния различных звеньев гемостаза при ДР, определены критерии вероятности протекания патологии по тромботическому типу;

Выработан оптимальный режим воздействия инфракрасного светодиодного излучения и изучено его влияние на состояние ферментативной и коагуляционной активности СЖ при ДР.

**Основные положения, выносимые на защиту:**

1. Патофизиологические особенности формирования ранних стадий диабетической ретинопатии (функциональное состояние эндотелия, биохимических, иммунологических, гормональных и гемостатических показателей крови и слезной жидкости), позволяющие дополнить современные представления о механизмах ее развития.
2. Диагностические методы, позволяющие повысить эффективность выявления ранних стадий диабетической ретинопатии и возможность манифистации.
3. Патогенетически ориентированный метод инфракрасного светодиодного излучения, позволяющий стабилизировать течение диабетической ретинопатии.

Выводы.

1. Выявлено, что одновременное повышение уровня коагуляционной активности СЖ и концентрации в ней глюкозы, хотя бы на одном глазу для каждого из показателей или превышение суммарной асимметрии 75% свидетельствует о наличии ДР и высокой вероятности ее развития, разработан прогностический алгоритм, представленный математической моделью.
2. Установлено, что в процессе развития ДР повышается содержание в СЖ ЛДГ и ITT и увеличивается степень выраженности асимметрии (дополнительный диагностический критерий). Наличие асимметрии свидетельствует о степени выраженности локального патологического процесса. Диагностическая ценность положительного и отрицательного результатов исследования уровня содержания ферментов в СЖ составляет соответственно 87,5% и 81,2%. Снижение активности ЩФ в СЖ свидетельствует о наличии у больных с ДР патологии зрительного нерва и является одним из критериев для раннего выявления диабетической нейропатии у больных с сахарным диабетом.
3. Выявлено, что в ранних стадиях ДР увеличение локального гемостатического потенциала обусловлено повышением уровня катехоламинов (А, ДА) на системном уровне, т.е. их роль на стадии формирования ДР из компенсаторной переходит в патологическую.
4. Установлено, что в функциональной и субклинической стадиях происходит постепенное повышение содержания в сыворотке крови растворимой адгезивной молекулы (sVCAM), оксида азота, уровня эндотелина и фактора Виллебранда, что свидетельствует о нарастающей активности эндотелия в этих стадиях. В манифестной стадии сохраняется тенденция к повышению уровня sVCAM, эндотелина и фактора Виллебранда, а

***4***

уровень t-PA и оксида азота снижается, отмечается повышение уровня гомоцистеина, что свидетельствует о развитии в этой стадии эндотелиальной дисфункции эндотелия, которая в дальнейшем продолжает нарастать. Наиболее выраженная дисфункция отмечается в препролиферативной стадии без выраженных клинических проявлений. На снове исследования эндотелиальных факторов и цифрового анализа состояния сосудов глазного дна разработан дифференцированный

***л***

диагностический метод для ранних стадий ДР, чувствительность и специфичность данного метода составляют 94,1% и 92,3% соответственно.

1. Выявлено, что в функциональной стадии ДР повышается активность цитокинового звена иммунитета на системном уровне, преимущественно за счет увеличения содержания ИЛ-1р, в субклинической стадии развиваются патологические нарушения всех звеньев иммунитета не только на системном, но и на локальном уровне - увеличивается содержание всех классов иммуноглобулинов, цитокинов и ЦИК, что способствует повреждению сосудистой стенки, развитию в ней иммунного воспаления, увеличение ИЛ-1Р в СЖ свидетельствует об активации воспалительного звена интраокулярного иммунитета, в манифестной стадии продолжает увеличиваться содержание IgG, цитокинов в сыворотке крови и СЖ, развивается дисфункция интерферонового звена иммунной системы, в препролиферативной стадии патологический процесс становится генерализованным. •
2. Установлено, что нарушения сосудисто-тромбоцитарного и локального коагуляционного гемостаза характерны для пациентов, как с ранними стадиями, так и с препролиферативной ДР, нарушения системного гемостаза

развиваются в препролиферативной ДР; изучены патофизиологические особенности и разработаны прогностические критерии развития тромбоза при ДР - сегментарность утолщения артериальной стенки сохраняется во всех стадиях, высокая степень выраженности структурных изменений венул и эндотелиальной дисфункции, увеличение локального гемостатического потенциала.

1. Определен оптимальный режим воздействия инфракрасного светодиодного излучения для органа зрения - частота 10 Гц, время экспозиции - 10 минут, выявлено, что инфракрасное светодиодное излучение обладает способностью стимулировать аэробные метаболические процессы , повышать окислительно-восстановительный потенциал в тканях глаза и снижать локальный гемостатический потенциал.

БИБЛИОГРАФИЯ

1. Агаева Р.Б. Особенности развития ПОЛ и нарушения функциональной активности тканей глаза при интравитреальном кровоизлиянии на фоне

экспериментального диабета: Автореф.дис канд мед. наук. - Тбилиси,

1. -13с. •
2. Акташева Е.Л. // Актуальные вопросы патологии заднего отдела глаза.- Одесса. 1989,- С. 55-56.
3. Александровский Я. А. Молекулярные механизмы развития диабетических осложнений // Биохимия. - 1998. - Т. 63 - №11. - С. 1470­1479.
4. Аль-Хасан С.М.Х. Нарушения микроциркуляторных и биофизических свойств эритроцитарных мембран в патогенезе поражения сетчатки глаз при I и II типах сахарного диабета и их коррекция препаратами эссенциале: Автореф.дис. ... канд.меднаук.-Ташкент, 1993.-С. 14-19.
5. Андрианов С.И., Макогоненко Е.М., Лежен Т.И., Кудинов С.А. Роль крингловых структур молекулы плазмина в осуществлении фибринолитической функции // Биология и медицина: Докл. АН УССР.- 1988.-№12,- С.47-50.
6. Андреенко Г.В. Фибринолиз (биохимия, физиология, патология) - М.: Медицина, 1979. - 352 с.
7. Андриенко Г.И. Методы исследования фибринолитической системы крови.- М., 1981,- С. 43-45.
8. Архангельская Е.И. Исследование состояния агрегации эритроцитов и тромбоцитов у больных с диабетической ретинопатией // Автореф. дис. ... канд.мед.наук - М., 1985. - 19с.