

ВОЕННОМЕДИЦИНСКА АКАДЕМИЯ

**Катедра „Очни болести, ушни, носни и гърлени болести
и орална хирургия“**

Доц. д-р ХРИСТИНА НИКОЛАЕВА ВИДИНОВА, дм

**МАКУЛНА ДЕГЕНЕРАЦИЯ, СВЪРЗАНА С ВЪЗРАСТТА –
ПРОГНОСТИЧНИ РИСКОВИ ФАКТОРИ,
УЛТРАСТРУКТУРНИ ПРОМЕНИ,
ДИАГНОСТИЧНИ И ТЕРАПЕВТИЧНИ РЕШЕНИЯ**

ДИСЕРТАЦИОНЕН ТРУД

за присъждане на научна степен

„ДОКТОР НА НАУКИТЕ“

по научната специалност „ОФТАЛМОЛОГИЯ“

София, 2021

СЪДЪРЖАНИЕ

ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ	
ВЪВЕДЕНИЕ	
ГЛАВА I. ЛИТЕРАТУРЕН ОБЗОР	
1.1. Клинична анатомия на ретината и макулата.....	
1.2. Макулна дегенерация, свързана с възрастта. Определение	
1.3. Епидемиология на МДСВ.....	
1.4. Патогенеза и класификация.....	
1.5. Клинична картина и диагностика	
1.6. Диагностика на МДСВ.....	
1.7. Терапевтично поведение.....	
1.8. „Терапии на бъдещето“ при МДСВ.....	
ГЛАВА II. ЦЕЛ и ЗАДАЧИ.....	
2.1. Цел	
2.2. Задачи	
ГЛАВА III. МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ.....	
3.1. Материал	
3.2. Методи.....	
3.3. Автофлуоресценция	
3.4. Оптична кохерентна томография.....	
3.5. ОСТ-А – оптична кохерентна томография – ангиография.....	
3.6. Електронномикроскопски и хистохимични методи	
3.7. Статистически методи.....	
ГЛАВА IV. РЕЗУЛТАТИ.....	
4.1. Резултати от изследването на пациентите със суха форма на МДСВ – рискови фактори	
4.2. Резултати от изследването на пациенти с влажна форма на МДСВ – рискови фактори за прогресия при влажна форма на заболяването.....	
4.3. Резултати от патоморфологични изследвания на субретинни мембрани на пациенти с влажна форма на МДСВ	
4.4. Резултати от приложението на анти-VEGF препарати при пациенти с влажна форма на МДСВ.....	
ГЛАВА V. ДИСКУСИЯ.....	
ГЛАВА VI. ИЗВОДИ	
ГЛАВА VII. ПРИНОСИ НА ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД	
ГЛАВА VIII. КНИГОПИС.....	

ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ

АФ	– автофлуоресценция
БЛД	– базални ламинарни депозити
ДО	– дясно око
ЗО	– зрителна острота
МА	– макулна атрофия
МДСВ	– макулна дегенерация, свързана с възрастта
НВМ	– неоваскуларна мембрана
ППВ	– pars plana vitrectomy (парс плана витректомия)
ПХВ (PCV)	– полипoidна хориоидална васкулопатия
РАП (RAP)	– ретинални ангиоматозни пролиферации
РПЕ	– ретинен пигментен епител
ФА	– флуоресцеинова ангиография
ФАФ	– фундусова автофлуоресценция
ХНВ (CNV)	– хориоидна неоваскуларна мембрана
ВМІ	– body mass index
CRT	– централна ретинна дебелина
IPL	– вътрешен плексиформен слой
OCT	– оптична кохерентна томография
OCT-A	– оптична кохерентна томография-ангиография
OPL	– външен плексиформен слой
PCV	– полипoidна хориоидална васкулопатия
PRN	– pro re nata
TAE	– протокол Treat and extend
VEGF	– vascular endothelial growth factor

ВЪВЕДЕНИЕ

Макулната дегенерация, свързана с възрастта (МДСВ), е социално значимо заболяване, водещо до трайно увреждане на зрителната острота поради засягане на централната зона на окото. Среща се най-често при хора над 65 год. и е една от водещите причини за слепота в икономически развитите страни. В САЩ и Великобритания макулната дегенерация, свързана с възрастта, е причина за 50% от случаите на слепота и честотата ѝ се увеличава с удължаване продължителността на живота. Смята се, че до 2025 г. случаите биха се увеличили двойно. Големи епидемиологични проучвания показват, че заболяването се среща в 2% от населението на възраст 55-65 години и в 11% от населението над 65-годишна възраст. При хората на 80 и повече години рискът от развитието на тази патология нараства 4 пъти.

Макулната дегенерация, свързана с възрастта представлява мултифакторно дегенеративно заболяване, засягащо централното зрение и водещо до необратима слепота. Заболяването е по-характерно при бялата раса и по-рядко при представителите на черната раса. Засяга обикновено двете очи, макар и асиметрично, с тенденция за прогрес.

Социалната значимост на макулната дегенерация, свързана с възрастта, се определя от непрекъснато нарастващата честота на заболяването (около 30% след 75 год.) и изисква редовен скрининг, ранно диагностициране, профилактика, проследяване и своевременно лечение на засегнатите пациенти. Освен рутинния офталмологичен преглед, включващ анамнеза, зрителна острота, биомикроскопия и офталмоскопия, от особено значение в диагностицирането и проследяването на това заболяване са специализираните методи на диагностика, към които спадат флуоресцеиновата ангиография (ФА), оптичната кохерентна томография (ОСТ), автофлуоресценция, индоцианин грийн ангиография и ангиооптичната кохерентна томография (Ангио-ОСТ). Диагностичните възможности, които тези методи ни предоставят, играят важна роля в прогнозата на изхода от заболяването и планирането на подходящо

лечение. От важно значение е също изучаването на все още непроучените промени в ХНМ под действието на различни терапевтични средства.

От не по-малък интерес са и въпросите за ефективността на различните терапевтични средства – кортикостероиди, анти-VEGF препарати, нови видове ревитализиращи лазерни системи, както и вътреочни импланти за подобряване зрението при пациенти с МДСВ.

Възможностите на бъдещето като генна терапия и трансплантация на колонии от стволови клетки, както и електронните чипове са също важни аспекти в терапевтичните решения при МДСВ.

Нашата цел е да представим най-важните данни в литературата, свързани с МДСВ, да обсъдим диагностичните и терапевтичните възможности и дадем отговори на някои от все още недоизяснените въпроси, свързани с рисковите и прогностичните фактори на това застрашаващо зрението заболяване.

Познаването на рисковите фактори, прогнозирайки възможностите за прогресия или не, ние ще сме в състояние да контролираме хода на заболяването.

ГЛАВА I. ЛИТЕРАТУРЕН ОБЗОР

1.1. Клинична анатомия на ретината и макулата

Ретината, известна още като „мрежовица“, представлява най-вътрешната обвивка на очната ябълка. Тя може да бъде сравнена с фотолентата на филмова камера, защото е отговорна за приемането, преработването на светлинните стимули и предаването на информацията под формата на електричен импулс към мозъчната кора (1, 15, 29).

Ретината покрива цялата вътрешна част на окото, заден полюс и достига напред циркуферентно на 360 градуса точно в *ogta serata* (2, 47).

Цялата площ на ретината е около 1.100 mm^2 . Циркуферентният ѝ диаметър на екватора на здрав възрастен е около 69 mm (64). Средната дебелина на ретината на здрав човек е около 250 μm , като дебелината ѝ може да нарасне до 400 μm в областта на макулата и да намалее до 150 μm в областта на фовея централис (3, 18, 120). Дебелината на ретината намалява към екватора, а на *ogta serata* е вече 80 μm .

Ретиналният неврофибриларен слой формира зрителния нерв. Той е разположен назално и в същата равнина на анатомичния център на ретината.

Няма ретинна тъкан, покриваща диска на зрителния нерв, който е с овална форма и с размери 1.75 mm вертикален размер и 1.5 mm хоризонтален размер. Дискът на зрителния нерв се разполага на около 4.5 mm назално от анатомичния център на окото (5, 63).

В центъра на ретината се намира макулата, отговорна за най-финното, централно зрение – формено зрение. В макулата се намира и фовея централис, разположена на 3-3.5 mm темпорално от темпоралния ръб на диска на зрителния нерв. Тази зона има по-специална структура и е изградена само от конусчета, обхващаща зона от 500 μm в диаметър (7, 39, 82). Конусчетата на фовеята са по-големи – 2.5 μm и разположени много плътно едно до друго. Ретината е най-тънка в центъра на фовеята, защото там липсват биполярният и ганг-

лийният клетъчен слой, а светлинните лъчи достигат директно до фоторецепторните клетки (4, 9, 52).

Обикновено ретината с изключение на съдовете, минаващи през нея, е напълно прозрачна за изследващия до външния слой на ретинния пигментен епител (РПЕ). Тази прозрачна част е известна като невросензорна ретина. При офталмоскопия виждаме тази прозрачна ретина на фона на оранжевия цвят на меланин-съдържащия РПЕ и изпълнената с кръв хориоида (6, 8, 10). Невросензорната ретина е здраво свързана с РПЕ в областта на диска на зрителния нерв, както и в областта на *orra serata* (11). Потенциалната възможност за наличие на пространство между невросензорната ретина и РПЕ създава условия за възникване и развитие на много патологични процеси в ретината, включително и МДСВ.

Микроструктурна анатомия на ретината

Ретината е изградена от милиони клетки, образуващи здраво свързана и перфектно функционираща система от отделни елементи, отговорни за превръщането на светлината в невроелектричен импулс и неговото провеждане към зрителната кора. Можем да разделим клетките на ретината в 3 основни клетъчни типа: фоторецепторни клетки, нервни клетки и глиални клетки (12, 19, 26).

Фоторецепторни клетки

Фоторецепторните клетки на ретината са два вида – пръчици и конусчета. Конусчетата функционират най-добре при добро осветление – фотопични условия, и са отговорни за цветното и форменото зрение (13, 28, 71). Пръчиците функционират при сумрак и са отговорни за скотопичното и мезопичното, както и за периферното зрение (14). Обикновено човешкото око съдържа около 120 милиона пръчици и 6 милиона конусчета. В ретината имаме 3 вида конусчета, специфични за трите основни цвята и чувствителни за светлинни лъчи с определена дължина на вълната (16, 27). Фоторецепторните клетки

имат тяло и аксон. При конусчетата имаме педикул в края на аксона, а при пръчиците – сферула.

Всички фоторецептори имат външен и вътрешен сегмент. Във външния сегмент при пръчиците се намира пигментът родопсин по повърхността на дисковете, а при конусчетата това е пигментът йодопсин (30, 50). Във вътрешния сегмент се намират клетъчното ядро и органели (фиг. 1А).



Фиг. 1А. Сканираща електронна микроскопия на фоторецепторните клетки в човешката ретина – пръчици и конусчета (Coppin et al., 1976)

В централната ретина преобладават конусчетата, а в периферната – пръчиците. Най-голяма концентрация на конусчета има в центъра на макулата във фовеята (31, 66, 79). Смята се, че съществуват и трети вид фоторецептори в ретината в добавка към пръчиците и колбичките. Това са много по-рядко срещани се фоточувствителни ганглийни клетки, които могат да се стимулират от светлина, дори в случай, че пръчиците и конусчетата не реагират (33, 51). Тези клетки съдържат пигмента меланопсин и тяхното изучаване продължава и до днес. Смята се, че те са отговорни за усещането за светлина, без възприемане на образи, както и за контролиране на размера на зеницата при различни условия на осветеност (38).

Нервни клетки в ретината

Невралните или нервни клетки в ретината са: биполярните клетки, ганглийните клетки, хоризонтални и амакринни клетки.

Биполярните клетки се разполагат само в ретината и свързват фоторецепторните и ганглийните клетки (34, 55, 70). Тези клетки са вертикално ориентирани, перпендикулярно на повърхността на ретината. Има 9 типа биполярни клетки. Биполярните клетки са постсинаптични на конусчетата и пръчиците (23, 37, 53, 122).

Ганглийните клетки имат дендрити, които образуват синапси с биполярните клетки. Аксоните на ганглийните клетки образуват ретинния неврофибриларен слой, а по-нататък влизат в състава на влакната на зрителния нерв, завършващи в мозъка. Обикновено 2-3 биполярни клетки се свързват с 1 ганглийна клетка (25, 67, 116). Единствено в областта на фовеята 1 биполярна клетка се свързва само с 1 ганглийна клетка, за да се осигури най-точното предаване на светлинния стимул към мозъчната кора.

Хоризонталните клетки свързват биполярните клетки в ретината една с друга. Хоризонталните клетки представляват междусвързващи неврони във външния плексиформен слой на ретината (OPL). Те се разполагат хоризонтално, паралелно на ретинната повърхност и са отговорни за адаптацията на окото към силна светлина и сумрак (26, 40, 83, 117).

Амакринните клетки свързват биполярните и ганглийните клетки една с друга. Амакринните клетки се разполагат във вътрешния плексиформен слой (IPL), втория синаптичен слой на ретината, където се намират синапсите на биполярните клетки и ганглийните клетки (26, 42, 76). Има около 40 вида амакринни клетки, повечето от които нямат аксони. Отделните видове амакринни клетки се свързват с точно определен вид биполярни клетки и отговарят за специфична невротрансмисия. Подобно на хоризонталните клетки и амакринните се разполагат хоризонтално в ретината и подпомагат предаването на информацията от биполярните клетки.

Подпорни клетки в ретината

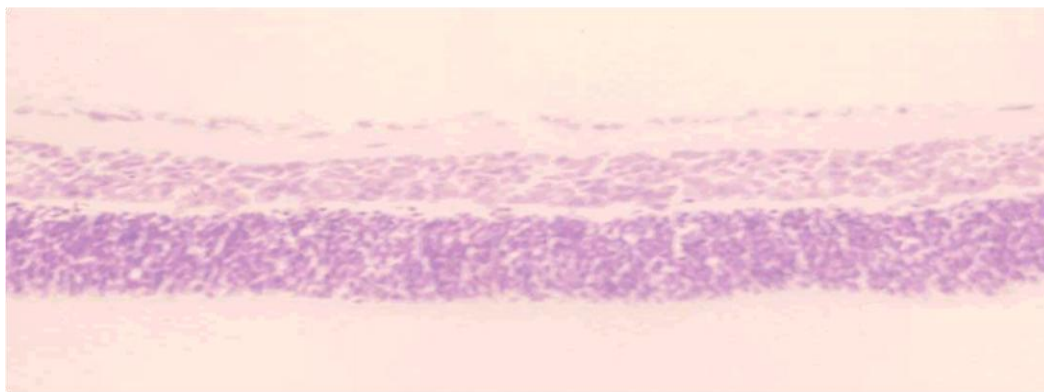
Глиалните клетки в ретината имат подпорна функция и са разпръснати на различни нива из цялата ретина, като най-чести са между аксоните на ганглийните клетки и в състава на зрителния нерв (17, 32, 49, 65). В групата на глиалните клетки на ретината се включват: мюлеровите клетки, астроцитите и клетките на микроглията (24, 41, 69, 83).

Мюлеровите клетки са основните представители на глиалните клетки в ретината, които образуват с телата и израстъците си подпорен матрикс и се простират между външната и вътрешната гранична мембрана на ретината. Телата на мюлеровите клетки се разполагат във вътрешния нуклеарен слой, а от тях произлизат различни по дебелина израстъци към вътрешната и външната гранична мембрана на ретината. При патологични процеси, когато се унищожат мюлеровите клетки (35, 40, 118) се създават условия за образуване на кухини и пространства в ретината, които най-често се запълват с течност и трайно се нарушава нормалната анатомична структура.

Астроцитите са глиални клетки, чиито тела и израстъци са разположени единствено и само в ретинния неврофибриларен слой (44, 52, 73, 80). Микроглиалните клетки са също с подпорна функция, но имат мезодермален произход. За разлика от мюлеровите клетки и астроцитите те не са невроглиални клетки.

Анатомичните слоеве в ретината са следните:

1. Membrane limitans interna
2. Слой на нервните влакна – неврофибриларен слой
3. Слой на ганглийните клетки
4. Вътрешен плексиформен слой
5. Вътрешен нуклеарен слой.
6. Външен плексиформен слой
7. Външен нуклеарен слой
8. Слой на пръчиците и конусчетата – фоторецепторен слой
9. Слой на ретинния пигментен епител.



Фиг. 1В. Хистологичен препарат на ретината – добре се виждат отделните слоеве

Вътрешната гранична мембрана, още известна като *membrana limitans interna*, е границата между ретината и стъкловидното тяло. Тя се изгражда от астроцитите, израстъците на мюлеровите клетки и базалната ламина. В последно време се приема теорията за общата витреоретинна повърхност, при която границата не е една мембрана, а обща повърхност, като колагенните влакна от периферната част на стъкловидното тяло директно се впитат в клетъчната мембрана на мюлеровите клетки и астроцити и образуват обща повърхност (36, 44, 52, 59, 94). Граничните повърхности са и местата, където най-често се развиват различни пролиферативни патологични процеси в очното дъно. Слойт на нервните фибрили се състои от аксоните на ганглийните клетки, които отиват към диска на зрителния нерв и го образуват.

Слойт на ганглийните клетки се състои от телата на ганглийните клетки (95). Тук се разполагат и амакринните клетки, както и фоточувствителните ганглийни клетки, отговорни за възприятието на ярка дневна светлина. Вътрешния плексиформен слой е мястото на синаптичните свързвания между дендритите на ганглийните клетки, амакринните клетки и аксоните на биполярните клетки (43, 62, 78, 117).

Вътрешният нуклеарен слой се състои от телата на хоризонталните, амакринните и биполярните клетки. Този слой е по-дебел в централната зона на ретината, отколкото в периферията и заради по-голямата концентрация, по-гъсто разположени биполярни клетки, свързани с конусчетата от централната зона на ретината. Тук се намират и телата на мюлеровите клетки (150).

Слоят на РПЕ е най-външният слой на ретината. Той контактува пряко с хориоидния слой на окото и участва в кръвно-ретинната бариера. Представлява един слой от кубоидни клетки с неврален произход. Те съдържат меланин, който абсорбира светлинните лъчи и намалява разсейването от тях (45, 60, 75, 114). РПЕ има значение за нормалния метаболизъм на фоторецепторните клетки и преработката на метаболитните продукти на обмяната на тези клетки. Нарушаването на тяхната функция на „чистачи“ на отпадни продукти може да доведе до депозити от отпадните материали между фоторецепторните клетки и до условия за развитие на МДСВ.

Има 6-7 милиона конусчета в ретината и около 125 000 000 пръчици (46). Фовеята съдържа само конусчета, като тук светлинните лъчи попадат директно върху фоторецепторните клетки, без да минават през останалите слоеве на ретината (48, 77, 84, 119). Конусчетата се свързват синаптично с 8 различни типа биполярни клетки. Пет от тях се наричат дифузни биполярни клетки и се свързват синаптично с до 20 конусчета. Другите видове биполярни клетки се свързват синаптично само с едно-единствено конусче и са известни като Midget биполярни клетки (54, 58, 92,104). Тъй като в ретината има 150 милиона фоторецепторни клетки и само 1 милион нервни фибрили в зрителния нерв, се получава конвергиране на сигналите от отделните фоторецепторни клетки (61, 85, 125), като с помощта на хоризонталните клетки е възможно отделни области на ретината да влияят на други.

Кръвоснабдяване на ретината, кръвно-ретинна бариера

От анатомична гледна точка ретината се разделя на две части, с различно кръвоснабдяване – **вътрешна** ретина, съдържаща 2 съдови плексуса, и **външна** ретина, представляваща аваскуларна тъкан, кръвоснабдена изцяло от хориоидеята (68, 73, 91, 121). Двата съдови плексуса на вътрешната ретина са повърхностен и дълбок съдов плексус. Съдовата мрежа на ретината е повърхностна и дълбока, като тя се осъществява от артерия офталмика, клон на артерия каротис интерна.

Външните и средните ретинни слоеве, включително и външният плексиформен и нуклеарен слой, фоторецепторните клетки, РПЕ се хранят от задните цилиарни артерии – *a. cilliares posteriores breves et longi*, които навлизат в очната ябълка през задния полюс (56, 72, 81, 115). Тези съдове са клонове на *a. ophthalmica*.

Централната ретинна артерия има 4 основни клона вътре в ретината. Те се появяват в диска на зрителния нерв и се насочват радиално от него. Темпоралните съдове се разполагат към и около фовеята (86, 124). Съдовете на макулата произхождат от клонове на горно- и долнотемпоралния артериален съд. Съществува т.нар. макулна аваскуларна зона, която е с размер около 500 μm диаметър и център фовеята (73, 74, 86, 123). В нея не се наблюдават кръвоносни съдове и капиляри. При 1 от 10 човека, вътрешните слоеве на макулата са с двойно кръвоснабдявани и от цилиоретинните артерии, произхождащи от задните цилиарни артерии.

Кръвоносните съдове на ретината са от нефенестриран тип и заедно с брукховата мембрана и клетките на РПЕ, които са здраво свързани помежду си образуват кръвно-ретинната бариера на окото. За разлика от тях съдовете на хориоидеята са от фенестриран тип. Ако се погледнат електронномикроскопски съдовете на ретината, се вижда, че те имат точно определена структура

Изградени са от един тънък слой ендотелни клетки, свързани помежду си със здрави междуклетъчни свързвания тип Tight Junction или Zonulae occludens. Те са изключително здрави, високоспециализирани междуклетъчни контакти и не позволяват преминаването на течност и белтъци от лумена на съда към екстравазалното пространство (19, 126).

Разположени са на здрава базална ламина и са обвити с един слой перипити, които имат подпорна функция. Всякакви промени в броя на перипитите и ендотелните клетки, които често съпътстват редица заболявания като диабет, хипертония водят до нарушения в стабилността и пропускливостта на съдовите стени с произтичащите от това усложнения в окото.

Венозният отток от окото се извършва от централната ретинна вена – *v. centralis retinae*. Ретинната микроциркулация се състои от ретинните прекапи-

лярни артериоли, капиляри и венули, засягането на които е основно при диабетна ретинопатия (88, 100).

Венозната кръв се дренира извън окото през една или две вортикозни вени, излизаци от всеки от 4 квадранта на очната ябълка. Те пробиват склерата и се вливат във v. ophthalmica.

1.2. Макулна дегенерация, свързана с възрастта. Определение

МДСВ представлява мултифакторно дегенеративно заболяване, засягащо централното зрение и е водеща причина за слепота в световен мащаб, предимно при хора над 50-годишна възраст. Във възрастта след 75 години честотата ѝ достига от 35 до 50% (20, 87, 127). Заболяването се среща по-често при бялата раса (кавказката) и по-рядко при представителите на черната раса. Засяга обикновено двете очи, макар и асиметрично, с тенденция за прогрес.

Според определението за МДСВ на Европейското ретинално общество това е заболяване, при което се уврежда зрителната острота, дължащо се на развитието на друзи и последваща атрофия на ретинния пигментен епител (РПЕ) или на патологични промени при развитието на субретинна неоваскуларна мембрана (88, 97, 101). В най-крайните етапи се оформя фиброваскуларен цикатрикс в зоната, отговорна за най-финото зрение. Разграничават се две клинични форми – “суха”, атрофична форма и “влажна”, ексудативна форма на МДСВ. Сухата форма представлява 85% от случаите, а ексудативната – 20% (90, 111, 156).

Първата от тях е сухата форма на МДСВ, или наричана още неексудативна. Тя има сравнително бавен прогрес и е по-често срещаната форма – около 85-90% от цялата МДСВ. Основното при нея е наличието на извънклетъчни депозити, разположени на ниво ретинен пигментен епител и брехова мембрана, наричани друзи. В състава им влизат различни протеини, липиди и амилоид В (95, 106, 110). Според размера си те се класифицират като малки, средни и големи, а спрямо очертанията си – съответно като твърди, меки и конfluиращи.

Географската атрофия представлява краен стадий на този тип МДСВ.

Вторият вид МДСВ е влажната форма, наричана още ексудативна, или неоваскуларна. Тя съставлява от 10 до 15% от всички пациенти с МДСВ. Има бърз ход на развитие и се отъждествява с наличието на хориоидална неоваскуларизация (НВМ) и съпътстващите усложнения: екстравазация на течност и хеморагии под РПЕ, отлепване на РПЕ, отлепване на невросензорната ретина и др. (89, 93, 102). НВМ представлява пролиферация на неосъдове през нарушената цялост (дефект) на брукховата мембрана, които достигат РПЕ и/или субретиналното пространство, образувайки фиброваскуларен комплекс (99). Краен стадий в развитието на влажната форма на МДСВ е оформянето на дисциплиформен цикатрикс с дефинитивна загуба на зрителните функции.

1.3. Епидемиология на МДСВ

В САЩ и Великобритания макулната дегенерация, свързана с възрастта е причина за 50% от случаите на слепота и честотата ѝ се увеличава с удължаване продължителността на живота на населението. Смята се, че до 2025 г. случаите биха се увеличили двойно (21, 96, 100).

МДСВ е прогресивно увреждащо зрението заболяване, значително влошаващо качеството на живот на пациентите, водещо до невъзможност да изпълняват ежедневните си задължения. Приблизително 11 милиона души са диагностицирани с МДСВ в САЩ, а в световен мащаб техният брой достига до 170 милиона. МДСВ е основната причина за зрителна инвалидизация в индустриално развитите страни и е на трето място като причина за слепота в световен мащаб (103, 112, 132) (табл. 1).

Таблица 1. Основни причини за слепота в света

Причини за слепота в световен мащаб.

Катаракта	48%
Глаукома	12%
Макулна дегенерация, свързана с възрастта	12%
Роговични заболявания	5%
Диабетна ретинопатия	5%

Възрастта се смята за най-важният рисков фактор за развитие на заболяването, ето защо се смята (98, 105), че до 2050 г. броят на болните в САЩ ще достигне до 22 милиона, а в световен мащаб броят им ще достигне до 288 милиона до 2040. Тази цифра е близка до броя на болните от инвазивен карцином в САЩ и двойно повече от болните от болестта на Алцхаймер в световен мащаб (98, 105, 109). С нарастване на преживяемостта на населението се смята, че пропорционално ще нараства и броят на пациентите с МДСВ.

Най-основните рискови фактори за развитието на МДСВ могат да се обобщят по следния начин:

- Възраст – > 65.
- Наличие на МДСВ в едното око.
- Пол – жените са двойно по-застрашени от мъжете.
- Хипертонична болест и сърдечно-съдови заболявания.
- Фамилна обремененост.
- Тютюнопушене.
- Продължително излагане на слънчева светлина и синя светлина.
- Хранене – диета, бедна на витамини и каротеноиди.
- Инфекции – *Chlamidia pneumoniae*.

Наличието на един от гореизброените фактори (22) увеличава двойно риска от развитие на заболяването, а фамилната обремененост увеличава рис-

ка 8 пъти. Вече са изолирани и гените, отговорни за развитието на МДСВ, и с фамилната обремененост се обяснява "Malatia levantinese" – рядка форма на МДСВ, засягаща млади хора след 40 години, които са в близкородствени бракове (107, 112, 145).

Доказано е също, че наличието на заболяването в едното око води до появата му и в другото око в рамките на 4 години.

Рисковите фактори за появата на МДСВ са важни, защото тяхното познаване би предотвратило развитието на заболяването и би помогнало за правилния подход при терапията (110, 135, 158). Тези рискови и прогностичните фактори са обект на много дискусии и проучвания, включително и на настоящия дисертационен труд.

Все още остават ненапълно изяснени причините за по-ранната проява на заболяването, както и прогностичните фактори за неговата прогресия или зстой.

1.4. Патогенеза и класификация

Патогенезата на макулната дегенерация е все още ненапълно изяснена. Смята се, че в основата на процеса са стареенето на клетките и оксидативният стрес. В цитоплазмата на РПЕ се натрупват липофусцинови гранули – белег на стареенето, които изпълват почти цялата цитоплазма и клетката не може да се справя със своята основна функция (128, 146) да фагоцитира външните членчета на фоторецепторните клетки. В резултат на това се формират остатъчни отпадни продукти, които се отлагат върху брукховата мембрана под формата на базални ламинарни депозити (БЛД). При по-нататъшното прогресиране на процеса РПЕ напълно дегенерират и атрофират, а БЛД образуват почти цял допълнителен слой над брукховата мембрана, като част от тях навлизат в самата мембрана и променят нейната структура (133, 139, 162). Така се създават условия за компрометиране на нейната непроницаемост и преминаване на неосъдове през нея към субретинното пространство. Навлизането на глиални и фиброглиални елементи пък води до формирането на фиброваскуларен цикатрикс в крайните етапи на заболяването.

Патогенезата може да се свърже също и с генетична предиспозиция (> 70%). Ключов елемент е развитието на оксидативен стрес в тъканите, който генерира ензимен дистрес, свързан с натрупване на отпадни метаболитни продукти(друзи). Друзите нарушават целостта на брукховата мембрана, водят до атрофия на пигментния епител, намаляване на транспортните механизми и вторична дегенерация и деструкция на конусчевия апарат. Нарушената функция на външната кръвно-ретинна бариера стимулира продукцията на растежни фактори, които водят до неоангиогенеза (113).

Механизмите на Неоангиогенезата остават все още ненапълно изяснени. Смята се, че растежните фактори VEGF, заедно с плацентарния растежен фактор играят ключова роля за появата на неоваскуларна мембрана (129, 136).

Съвременната класификация на МДСВ според AREDS (2013) се разделя на суха форма и на влажна форма, които от своя страна имат своите подвидове:

Сухата форма на макулна дегенерация според AREDS (2013) има 4 стадия (257):

1-ви стадий – малки твърди друзи < 63 μ

2-ри стадий – интермедиерни друзи с размер 63-124 μ

3-ти стадий – множество меки конфлуиращи друзи или ретикуларни друзи

4-ти стадий – географска атрофия.

Влажната форма на макулна дегенерация се характеризира с наличие на хориоидална неоваскуларизация (CNV). CNV може да бъде:

Тип 1 – под RPE (окултна)

Тип 2 – над RPE (класическа)

Тип 3 – RAP (ретинални ангиоматозни пролиферации) анастомоза между ретиналното и хориоидалното русло

Тип 4 – Смесен тип под и над RPE.

Данните от AREDS (2013) показват, че рискът от прогресия за 5 години се удвоява за всеки стадий. Така той се изчислява на 25% за трети стадий и

50% за пациентите с четвърти стадий на суха форма на макулна дегенерация (175).

1.5. Клинична картина и диагностика

МДСВ се характеризира с типична клинична картина. Обикновено основните оплаквания на пациентите са:

- Намалено до напълно загубено централно зрение. Не могат да различават лицата на хората, като виждат очертанията на главата.
- Централен скотом. Тъмно петно пред окото.
- Метаморфопсии – изкривявания на правите линии.
- Намалена контрастна чувствителност.

При специалните офталмологични изследвания с теста на Amsler се доказва изкривяване на линиите в централната зона, а ако се постави пред окото стенопична дупка така, че светлините лъчи да преминават само към макулната област, то зрението на изследвания пациент рязко се влошава и това потвърждава диагнозата (131, 179, 216).

Заболяването протича в две основни клинични форми: “суха”, атрофична и „влажна”, ексудативна.

1. „Суха“, или атрофична форма. Тя се среща при 85% от пациентите с МДСВ и има бавен прогредиентен ход в течение на години. Характерни са друзите в очното дъно и последващите атрофични промени в РПЕ клетки, като в крайните стадии се формира географска атрофия на макулата.

2. „Влажна“, ексудативна форма. Среща се едва в 20% от случаите, но на нея се дължи слепотата вследствие на МДСВ в световен мащаб. Протича сравнително бързо за месеци, а дори има и форми, при които прогресията е за дни. Формират се неосъдови мембрани в субретинното пространство, като в крайните стадии се оформя един фиброваскуларен цикатрикс с трайно увреждане на зрителната острота (12).

3. Атипични форми на МДСВ – ретинални ангиоматозни пролиферации (RAP).

Според съвременните класификации RAR е една билатерална ексудативна макулопатия, която се разглежда като особена форма на макулна дегенерация, свързана с възрастта (6, 8). Смята се, че статистически се среща в 15% от случаите на МДСВ. По типична е при по-възрастни пациенти към 80-годишна възраст и по-често при мъже 2:1 спрямо жените (12, 13). Приема се, че за разлика от класическите форми, където патогенезата се свързва с патологични промени в РПЕ клетки, то тук патологичните промени са в ретинните съдове. По недоизяснени досега причини се наблюдава пролиферация на ретинните капилляри с развитие на телеангиектазии, кръвоизливи и в крайните фази – на ретино-хориоидални анастомози. Патологичните промени тръгват от ретината към хориоидеята, за разлика от стандартния случай, когато неосъдове от хориоидеята прорастат към субретинното пространство (9). Досега са описани 3 стадия на ретинални ангиоматозни пролиферации. През първия стадий е налице интратретинна неоваскуларизация. Това се наблюдава в ретината при RAR I с наличие на пролиферация на ретиналните капилляри, кръвоизливи и изразен макулен оток (6, 13). През следващия втори стадий RAR II налице е неоваскуларизация в субретинното пространство. Виждат се анастомози между ретинните артериоли и венули, увеличен е макулният едем, като се появяват пре- и субретинални кръвоизливи. Наблюдава се серозно отлепване на РПЕ (8, 9). Най-тежкият трети стадий, RAR III, е стадият на хориоидална неоваскуларизация. При него са налице ретинно-хориоидални анастомози, клинически или ангиографски видима хориоидна неоваскуларизация, фиброваскуларно отлепване на РПЕ и серозно отлепване на невросензорната ретина (12, 15). Обикновено заболяването е билатерално, като дори в момента на прегледа да не се проявяват изменения във второто око, то в 50% от случаите изменения се развиват до 4-годишен период. Ето защо е необходимо да се правят периодични контролни прегледи и да се търсят изменения във второто око. Обикновено се достига до пълна загуба на централното зрение. В диференциалната диагноза трябва да се имат предвид клинично видимите белези на ретино-хориоидални анастомози като увеличено количество твърди ексудати премакуларно, точковидните кръвоизливи, характерния ход на ретинните

съдове, които до края си запазват един и същи лумен. На ангиографските плаки при по-напредналия стадий на заболяването се визуализират добре самите анастомози. За съжаление, понастоящем не съществува доказана терапия, която да може да подобри зрителната острота и спре развитието на процеса.

4. Атипични форми на МДСВ – полипоидна хориоидална васкулопатия – PCV

Полипоидната хориоидална васкулопатия е заболяване на хориоидалните съдове, което впоследствие обхваща и невросензорната ретина. То се среща с еднаква честота и при двата пола, като се характеризира със серозно или серохеморагично отлепване на РПЕ, последвано от фиброза (134, 140, 165). За първи път състоянието е описано от L. Yannuzzi през 1982 г. Името на тази форма хориоидална полипоидна васкулопатия идва от факта, че и до днес се смята, че при него е налична мрежа от разширени, разклонени съдове на хориоидеята с полипоидни аневризмално разширени терминални окончания като полипи (152, 153). Среща се най-вече във възрастта 50-65 год. и има главно унилатерално засягане. В Япония полипоидната хориоидална васкулопатия (PCV) е по-честа при мъжете, отколкото при жените.

Клиничната картина се характеризира с повтарящи се хеморагични или серозни отлепвания на РПЕ, като най-точна диагностика на заболяването се постига чрез индоцианин грийн ангиография (IGA).

Известни са 2 основни типа на PCV (176):

– Тип 1 – полипоидна неоваскуларна мембрана – налице е полипоидно разширен съд с добре отграничена мрежа от неосъдове.

– Тип 2 – налице са един или няколко полипоидни разширения на хориоидалните съдове, без мрежа от неоваскуларна мембрана.

И в двата случая се наблюдават офталмоскопски жълтеникави, кръгли полипообразни лезии в субретинното пространство, като в първия случай се визуализира и развиваща се неоваскуларна мембрана (3, 191).

Основната разлика между тази атипична форма и влажната форма на МДСВ е в доброто повлияване от фотодинамична терапия и анти-VEGF тера-

пията при PCV. Описани са случаи на спонтанно излекуване и изчезване на полипите при някои от пациентите, което също потвърждава тезата, че става дума за заболяване на хориоидалните съдове. Въпреки многото търсения, точните диагностични белези на прогресия на заболяването, както и терапевтичните подходи остават обект на дискусия.

1.6. Диагностика на МДСВ

Изследването на пациентите освен задълбочена анамнеза и пълен очен статус с офталмоскопия на очното дъно, задължително трябва да се допълни с резултатите от теста на Amstel и проверка на зрението със стенопична дупка. Клиничната форма и степента на увреждането на макулата се обективизират с помощта на флуоресцеиновата ангиография (ФА), на която се отчита наличието или липсата на неосъдова мембрана, отлепването на РПЕ и др. Тя е въведена от Филип Гас през 1967 г. в диагностиката на ретиналните заболявания (141, 149, 211). В почти всички европейски страни и до днес ФА се приема за „златен стандарт“ в поставянето на диагнозата на МДС В. Тя е и задължително условие за доказване на заболяването, първоначално, а проследяването му може да се извърши с помощта на други методи.

На базата на ФА изследване и критерии влажната форма на МДСВ се раздели на класически тип и окултен тип влажна форма на МДСВ (172). Те се характеризират с различни ФА характеристики. При класическия тип се касае за активна неоваскуларна мембрана, която най-често се намира над РПЕ и се характеризира с ранно светене под формата на колело или листенца на цветето астра, като в късните фази хиперфлуоресценцията се запазва и се наблюдава активно изтичане на багрило (130, 167, 219). Класическият тип неоваскуларни мембрани са считани за най-благодатния тип за лечение с анти-VEGF препарати.

При окултния тип неоваскуларна мембрана се касае за по-напреднала форма на заболяването, с наличие на мембрана под РПЕ, отлепване на РПЕ или образуване на фиброваскуларен цикатрикс. Ето защо имаме дифузна хиперфлуоресценция без характерна форма, често пъти съчетана с ФА белезите

на отлепването на РПЕ (147, 155). Тези случаи се характеризират с късно светене в ангиографските фази и имат неблагоприятна прогноза по отношение на лекарствената терапия.

ФА белези на „класическа форма“ на МДСВ:

- Ранна хиперфлуоресценция.
- Лезията е с добре очертана форма като „дантела“ или „колело“.
- Хиперфлуоресценцията се запазва и в късните фази има дифузия и изтичане на флуоресцин.

ФА белези на „окултна форма“ на МДСВ:

- Хиперфлуоресценцията се появява в късните фази.
- Лезията е с неправилна форма, без ясни граници.
- Хиперфлуоресценцията се запазва и в късните фази, но няма дифузия на флуоресцин.

През 2000 г. Yanuzzi въвежда една модификация на ФА, наречена индоцианин-грийн ангиография, където вместо багрилото флуоресцеин натрий се използва индоцианин грийн (159, 166, 215). С помощта на това изследване се обективизират по-добре хориоидалните съдове и могат да се диагностицират по-точно случаите на РАП, както и полипоидната хориоидална васкулопатия.

От 2000 г. в диагностичната практика широко навлезе и оптичната кохерентна томография (ОСТ), наричана още „оптична биопсия“ на окото, при която могат да се огледат очните структури подобно на хистологичен препарат (168, 218). David Huang и Drexler през 2001 г. се смятат за създатели на технологията на Time domain ОСТ. Това е модерен метод за неинвазивна диагностика на ретината и зрителния нерв (160, 213). Принципът на действие е подобен на в-ехографията, но се използва сноп светлина с дължина на вълната 840 nm, както и явлението нискочестотна интерферометрия. Изследването се извършва на тясна зеница и дава много ценна информация за стадия на заболяването (137). През 2006 г. Pullaflto и Coscas доусъвършенстват апаратурата и предлагат по-новата технология на Spectral Domain ОСТ.

Тази нова технология дава възможност за по-голяма скорост на сканиране, откриване на повече детайли и подробности, както и усъвършенствани системи за количествен анализ, измерване не само на общата ретинна дебелина, но и на всеки един слой поотделно, както и проследяване на прогресията на заболяването във времето (194). Основните предимства на OCT диагностиката при заболяванията на макулата се свеждат до следното:

Методът е неинвазивен, повторяем, лесно изпълним.

- Само с OCT диагностиката може да се открие и проследи натрупването на течност в ретината, дори и в минимални количества.

- Могат да се видят промените в невросензорната ретина, фоторецепторните клетки, брукховата мембрана, отговорни за развитието на заболяването.

- Възможна е количествената оценка на ретинната дебелина, както и оценка на прогресията на МДСВ.

В съвременната практика навлизат все по-нови технологии и апарати, като например технологията на Swept source OCT-SS OCT. При нея се използва по-голяма дължина на вълната от порядъка на 1050 nm (138, 161, 173), което осигурява по-дълбоко проникване в тъканите и възможност по-добре да се изобразят слоевете на РПЕ, брукхова мембрана и хориоидея. По-добрата визуализация на хориоидеята е много важна при диагностицирането на МДСВ и нейните атипични форми, но един от недостатъците на тези апарати е по-ниската аксиална резолуция на изображенията (174).

През 2014 г. беше представена още по-нова и модерна технология на OCT-A-OCT ангиография. Това е неинвазивна технология за диагностика на микроциркулацията на ретината и хориоидеята (148). При нея се използва отражението на светлината от повърхността на движещите се еритроцити на кръвта и се получава информация за състоянието на съдовете на различни нива в ретината. Едно от основните предимства на изследването е, че то е неинвазивно, не се налага вкарване на багрило в организма и може да се повтаря многократно, нещо, което с нормалната ангиография не е възможно (162). Друго важно предимство е, че се виждат както повърхностният, така и дълбо-

кият съдов плексус на ретината и се създава възможност за 3D изображение на ретината.

Основните характеристики на ОСТ-А и сравнението ѝ с нормалната, класическа ФА са (163):

1. Неинвазивна технология за изобразяване на ретиналното и хориоидно кръвообращение.

2. ОСТ-А показва в детайли повърхностния и дълбок ретинален плексус и хориоидея.

3. Дава статичен поглед на ретиналния кръвоток – една 3 D снимка, без динамиката на флуорографските фази.

4. Показва силно стеснено поле – 3x3 mm на изследване, което е минус в сравнение с ФА.

5. Силно се влияе от движението на очите на пациента – артефакти от движението.

Въпреки някои от посочените негативи, тази нова технология намери своето място, заедно с останалите диагностични методи за изследване на пациенти с МДСВ, давайки възможност за много точна и ранна диагностика на неоваскуларните мембрани, особено в случаи на кръвоизливи или окултен тип мембрана.

От диагностичните методи с особено значение за диагностиката на сухата форма на МДСВ е методът на автофлуоресценцията.

Това е също съвременен неинвазивен метод за визуализация на очното дъно, при който се използват флуоресцентните свойства на липофусцина на ниво РПЕ (142, 185). Най-общо казано, това е метод, с който можем да съдим *in vivo* за здравето състояние на ретината. Липофусцинът и меланолипофусцинът са основните източници на автофлуоресценция от ретината (174). Възрастово обусловените промени в РПЕ клетки, водещи до натрупване на флуорофори в тях предизвикват патологична автофлуоресценция, която можем да отчитаме и проследяваме. Промените във ФАФ могат да ни покажат най-началните промени (170), свързани с развитието на МДСВ, както и да бъдат един прогностичен фактор за по-нататъшната прогресия на заболяването.

Диагностичните търсения за по-доброто и детайлно изследване на пациентите с МДСВ продължават, търсят се и алгоритми за изследване на пациентите с оглед оптимално бързото поставяне на диагнозата и проследяването на заболяването.

1.7. Терапевтично поведение

Все още се проучват нови лекарствени средства, способни ефективно да спрат развитието на патологичните процеси и да запазят зрителната острота на пациентите. Засега се набляга на комплексния подход и комбинираните лекарствени стратегии, тъй като нито една самостоятелна терапия не е дала достатъчно добри терапевтични резултати във времето (206).

При сухата форма на заболяването особено значение имат правилната диета и допълнителния прием на витамини и микроелементи. Широко се препоръчва:

- Диета, богата на цинк, мед и бета-каротени, каквито се срещат най-вече в морковите, зелето, брюкселското зеле, спанака, царевичката, броколите, граха, доматиите и всички други зелени зеленчуци (164, 169). Освен тяхната повишена употреба е препоръчително ежедневно допълнително да се внасят витамини.

- Допълнително дневно: 500 mg vit C; 400 IU vit E (154); 15 mg бета-каротен; 80 mg цинк; 2 mg мед. Това може да става, като тези витамини и микроелементи се поемат самостоятелно или като комбинирани очни витамини, каквито има много на нашия пазар (143).

- Комбинирани очни витамини при МДСВ: ICAPS, Ocolut, Borovinka + Beta caroten, Vitalux, Ocuvite zinc, Ocuvite lutein, Orthomol Vision, Orthomol AMD extra и др. (144, 171, 181).

Ексудативната форма изисква освен гореспомената диета и предприемането на допълнителни мерки с цел да се спре развитието на неосъдове в макулата. Използваните в днешно време терапевтични подходи включват:

- Фотодинамична терапия с Visudine, Photrex (Rostaporfirin) или друг вертепорфирин (177, 190).

- Интравитреалното въвеждане на антипролиферативни вещества – т.нар. анти-VEGF лекарствени средства.

Фотодинамична терапия почива на принципа, че някои светлочувствителни вещества се активират при облъчване със светлина с определена дължина на вълната и преминавайки в активна форма в присъствието на кислород отделят синглетен кислород и свободни радикали, унищожавачи клетките, в които се намират (178, 188). Visudine е чувствителен на светлина порфирин, който се въвежда венозно в организма и се свързва селективно с неосъдовете, като при облъчването му с нетермален диоден лазер се активира. При взаимодействието на препарата с кислорода от въздуха се отделят синглетен кислород и свободни радикали и ендотелните клетки се унищожават, а неосъдовете оклузират (186, 193). Макар да се възлагаха големи надежди на тази терапия, тя се оказва полезна главно при малки по големина лезии и със специфична ангиографска характеристика – класически тип.

Една от най-модерните терапии за МДСВ са вътреочните инжекции с антипролиферативни вещества и най-вече с anti-VEGF вещества. Те блокират една или всички изоформи на вазопрولیферативния растежен фактор VEGF и пречат на образуването на неосъдове при ексудативната форма на заболяването. Поставят се директно в окото в стерилна обстановка, в операционна, след предварителна местна анестезия (182). Необходимо е да се направят 3, за да се отчете наличието или липсата на ефект от терапията. Инжекциите се правят през 4-6 седмици. Използват се следните медикаменти:

- Macugen (Pegaptanib Sodium). Антагонист на VEGF A 165, блокира действието му, ефикасен при всички форми на МДСВ.

- Lucentis (Ranibizumab). Малък фрагмент от моноклонално антитяло, който може да премине през всички слоеве на ретината и да действа на ниво увредени съдове, с голям афинитет към всички изоформи на VEGF-A (183, 214). Докладвани са много добри клинични резултати от MARINA – проучва-

не за минимално класическа и окултна МДСВ – възстановяване на зрението с 2 реда – 25% при доза 0,3 mg; 33% при доза 0,5 mg (1, 189).

- **Bevacizumab (Avastin, Genentech Inc, South San Francisco, CA).** Хуманизирано моноклонално антитяло срещу VEGF-A фактор. Одобрено от FDA 2005 за лечение на метастатичен колоректален карцином. Приложението на Avastin води до обратно развитие (регресия) на кръвоносните съдове, които снабдяват тумора с кислород и хранителни вещества (180). Медикаментът може да се използва и при лечение на рак на млечните жлези, белия и черния дроб (184). Страничните ефекти при системното му прилагане са повишено кръвно налягане 1.9%, увеличен риск от артериална тромбоемболия 4.4% (183). Поради това, че интравитреалното му приложение е в доза 400 пъти по-малка от тази при един курс системно лечение, теоретично не се очакват системни усложнения, но въпреки това не трябва да се прилага при пациенти със съдови заболявания (187, 196).

- В последните години се появиха нови генерации анти-VEGF препарати.

Такъв препарат е **EYLEA (aflibercept) на фирмата Bayer**. Това е един протеин, създаден да блокира васкуларния ендотелен растежен фактор (VEGF) и плацентарния растежен фактор, два от най-важните протеини, участващи в растежа на абнормалните кръвоносни съдове (192, 212). Прилага се при пациенти, при които не се постига добър ефект с другите анти-VEGF препарати. Едно от основните предимства е по-големият интервал на инжекциите, които могат да се прилагат през 8 седмици, за разлика от другите препарати, прилагани на 4 седмици. Понякога още след първата инжекция се наблюдават много добри резултати (189, 217).

Най-добри резултати се получават при комбинираните терапии, фотодинамична терапия най-напред и интравитреална анти-VEGF терапия, кортикостероиди и анти-VEGF, лазер терапия и анти-VEGF и др.

Терапевтичните търсения по отношение на препарати, терапевтични схеми и индивидуални терапии и до днес продължават.

1.8. „Терапии на бъдещето“ при МДСВ

Както всяко едно заболяване, чиято патогенеза и патофизиология не са напълно изяснени, така и МДСВ поставя редица въпроси за бъдещи терапевтични търсения (207).

- Комбинирана терапия. Анти-VEGF и фотодинамична терапия, анти-VEGF и кортикостероиди.

- Тирозин киназни инхибитори.

- Генна терапия.

- Инхибитори на комплемента – APL-2 на Apellis Pharmaceuticals инхибира C3 фактора на комплемента. Намалват развитието на географската атрофия – инжектира се в окото всеки месец.

Въпреки предложената терапия на МДСВ получените резултати са субоптимални. Интравитреалните инжекции подобряват състоянието, но са инвазивни, повтарящи се процедури, свързани с продължително мониториране на пациентите и риск от множество компликации (195, 202, 222). Ето защо в разработка са множество нови препарати и продукти. Проучват се нови видове анти-VEGF препарати като Brolicizumab (RGN258) – човешко фрагментирано антитяло с голям афинитет срещу всички изоформи на VEGF-A. Молекулата е по-малка – 26 kDa (доста по-малко от ranimizumab – 48 kDa и още повече от aflibercept – 115 kDa), което води до по-добра пенетрация в тъканите и по-продължително действие на препарата (197, 214).

Друг многообещаващ препарат е разработваният от Roche faricimab. Това е първият от 15 години препарат за МДСВ, който има нов механизъм на действие, различен от този на досега използваните анти-VEGF препарати. Фарисимаб е първото биспецифично антитяло, специално разработено за човешкото око. То въздейства на два отделни механизма в патогенезата на МДСВ – на ангиопоетин 2 каскадата и на VEGF-A. Именно заради подобрения си механизъм на действие лекарството показва по-добри резултати от тези на Eylea, както и по-продължително действие при по-малко интравитреални апликации. Все повече се убеждаваме, че растежните фактори не са единствените фактори, включени в патогенезата на МДСВ (198). Именно за това използването на комбинирани терапии е бъдещето на терапията на МДСВ.

Сред препаратите на бъдещето спада и продуктът abicipar (Pegol), който представлява анти-VEGF-A специфичен протеин, генетично модифициран така, че да има повишена специфичност и повишен афинитет на свързване с останалите анти-VEGF медикаменти. Препаратът е разработка на Allergan и се смята, че ще има по-продължителен ефект на действие в сравнение с досегашните препарати. През последните години се появиха нови лекарствени средства сред които инхибиторите на тромбоцитния растежен фактор. Тромбоцитният растежен фактор (PDGF) е протеин, който се свързва с тирозин киназния рецептор на пероцитите. Смята се, че неговото блокиране води до спиране на процесите на неоангиогенеза и подобряване на дългосрочните резултати (199, 220).

Такъв препарат е **pegpleranib (Fovista®)**. Той е DNA аптамер, който се свързва с PDGF-BB и PDGF-AB, и така се спира неоваскуларната каскада.

През последните години се обръща особено внимание на ангиопоетиновата каскада, като възможен начин за въздействие върху патогенезата на неоваскуларизацията (204, 210).

Angiopoietin-2 (ANG2) е от особено важно значение за развитието на ретиналните съдове и предизвиква нарушаване на кръвно-ретинната бариера и повишена съдова пропускливост. Подобно на растежните VEGF фактори ANG2 се открива в ретината и хориоидеята при процесите на неоваскуларизация и исхемичните зони увеличават неговата продукция. Новите стратегии са свързани с инхибирането на ANG2 или активацията на Tie2 за спиране на патологичните промени при МДСВ.

Такъв препарат от ново поколение е **nesvacumab (REGN-910-3)**.

Той представлява човешко IgG1 моноклонално антитяло срещу ANG2, което блокира взаимодействието с Tie2 рецептора (207, 224). Производители на това лекарствено средство са Regeneron® и фирмата Bayer®. Смята се, че препаратите на бъдещето са именно тези, свързани с блокирането на двата пътя на неоангиогенезата, както и на прилагането на генната терапия. Големи надежди се възлагат на генната терапия и препарати като Cand5 (Acuity Pharmaceuticals), Sirna-027 (Sirna Therapeutics), електронните чипове, замест-

ващи фоторецепторните клетки и макулната транслокация (200, 225). Едно е сигурно, терапевтичното повлияване на това социално значимо заболяване е неизменно свързано и с неговата превенция.

МДСВ не е задължително заболяване на старостта, необходима е своевременна профилактика, навременни изследвания и проследяване, за да се избегнат тежките му усложнения.

ГЛАВА II. ЦЕЛ И ЗАДАЧИ

2.1. Цел

Целта на настоящия дисертационен труд е да се проучат, обобщят и анализират рисковите фактори за възникване и прогресия на МДСВ, както и да се оцени ефективността на отделните диагностични методи. Да се анализират резултатите от различните терапевтични лекарствени средства при МДСВ.

2.2. Задачи

1. Да се проучат и представят общите и клиничните рискови фактори, определящи появата и прогресията на МДСВ.

2. Да се анализира ефективността на различните методи за диагностика на МДСВ – ФА, ОСТ, автофлуоресценция, ангио-ОСТ, и да се препоръча диагностичен алгоритъм (работен протокол) – комплекс от диагностични методи с най-висока ефективност при откриването на различните форми на заболяването.

3. Да се проучи ултраструктурната характеристика на неоваскуларната тъкан и ретиналните друзи при влажна форма на МДСВ. Да се изучат на ултрасструктурно ниво промените в неоваскуларните мембрани след анти-VEGF терапията.

4. Да се сравни ефективността на различните терапевтични лекарствени средства – Avastin (bevacizumab), Lucentis (ranibizumab), Eylea (aflibercept), като се изтъкнат и възможните компликации от проведената терапия.

5. Да се проучат и анализират специфичните особености в диагностиката и терапията на особените форми на МДСВ – ретинални ангиоматозни пролиферации и полипоидна хориоидална васкулопатия.

ГЛАВА III. МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

3.1. Материал

В нашето проучване бяха включени 274 пациенти, диагностицирани и лекувани в МЦ „Зрение“ – София и Очна клиника, ВМА – София през периода 2008-2020 г. (11 години). От тях 154 бяха мъже, а 130 жени. Пациентите бяха на възраст между 61 и 83 години, средна възраст 69,6 години. Те бяха разделени в три основни групи:

- 1. Пациенти със суха форма на МДСВ – 134.*
- 2. Пациенти с влажна форма на МДСВ – 126 .*
- 3. Атипични форми на МДСВ – 14 пациенти от тях 9 с РАП и 5 с ПХВ.*

От групата на пациентите с влажна форма на МДСВ беше обособена отделна подгрупа, на пациенти с МДСВ и хемофталам – 11 очи, при които се наложи извършването на ППВ, при която беше взиман материал – субретинна тъкан за електронномикроскопско и имунохистохимично изследване.

От Катедрата по анатомия, хистология и ембриология на МУ – София, беше предоставен трупен материал – 2 очи за анализ на ултраструктурата на ретиналните друзи при пациенти с МДСВ.

В зависимост от терапевтичните средства, прилагани при лечението на пациентите с влажна форма на МДСВ, имахме 3 подгрупи:

- 1. Пациенти с влажна форма на МДСВ, лекувани с Avastin (bevacizumab) – 41 пациенти.*
- 2. Пациенти с влажна форма на МДСВ, лекувани с Lucentis (ranibizumab) – 12 пациенти.*
- 3. Пациенти с влажна форма на МДСВ, лекувани с Eylea (aflibercept) – 73 пациенти.*

Всички пациенти от извадката бяха изследвани подробно офталмологично, за зрителна острота, решетка на Амслер, както и с ОСТ, флуоресцеинова ангиография и автофлуоресценция. ОСТ изследването се провеждаше на апа-

рати Optovue (RTe Vue), Topcon 3 D OCT 2000 и Cirrius 500 Angiophlex (Zeiss). Цветните снимки, ФА снимките, ФАФ се извършваха на Topcon 2000 Fa plus. Използвани бяха програмите за количествен анализ на OCT апаратите – EMM5, EMM5 прогресия и Macular cube 213. Чрез система за компютърен анализ беше измервана и оценявана големината на лезиите при автофлуоресцентните снимки.

3.2. Методи

3.2.1. Диагностични методи

В нашето проучване използвахме следните клиничко-диагностични методи при изследваните пациенти: ФА, автофлуоресценция, оптична кохерентна томография.

3.2.2. Флуоресцеинова ангиография

При ФА се използват флуоресцентните свойства на флуоресцеина. За възбуждане на флуоресценция е необходимо осветяване със синя светлина – 465-490 nm, а възбудената светлина е жълто-зелена – 520-530 nm.

- За извършване на изследването се използва фундускамера, с помощта на която се изпраща възбуждаща синя светлина чрез син филтър и се фотографира флуоресценцията, като се използва специален втори филтър, който е жълт.

- Флуоресцеин натрий е използваната флуоресцентна сол, която се инжектире в кубиталната вена. Тя в 70-80% се свързва с протеините на кръвта и след 24 h се отделя през бъбрека и по-малко през черния дроб.

Основните характеристики на флуоресцеиновата ангиография и значението им за диагностиката на МДСВ могат да се обобщят по следния начин. ФА е златен стандарт за диагностика на МДСВ. Винаги при поставяне на диагнозата макулна дегенерация се изисква ФА диагностика. Изследването ни дава детайлно двуизмерно изображение на повърхностния ретинен капилярен плексус. По-трудна е визуализацията на дълбоките ретинални капиляри и хо-

риоидея. Едно от основните предимства на метода е голямото поле на заснемане на изследването – цялата макула. Това позволява безпогрешна ориентация къде се разполагат лезиите и невъзможност нещо да бъде пропуснато.

ФА е единственото изследване, което позволява динамично проследяване на ретинната циркулация. Могат да бъдат проследени отделните фази на изпълване на ретинните съдове и тяхното изпразване. Налични се определени ФА фази, които ни дават информация за динамиката на кръвния ток в ретината.

Основните циркулаторни времена на ФА са следните:

- Брахио-ретинно време – времето, за което флуоресцеиновият енбол достига до a. centralis retinae.
- Хориоидно преретинно време – 1-2 sec преди ретинните съдове – зазоряване.
- Артериално ретинно време – багрилото изпълва артериалните съдове от ретинната кръвоносна система.
- Артерио-венозно време – изпълнени са артериалните съдове и венозните капилляри без големите венозни съдове.
- Венозно време – изпълва се цялата венозна система – вените са с по-голяма флуоресценция.
- Късно тъканно време – съдовете се изпразват от багрилото, налице е светене от склерата и ламина криброза.

Познавайки особеностите на отделните циркулаторни времена, ние можем да оценим разглежданата структура на ретината и да открием наличието на нормални или патологични признаци на ФА.

Нормалните особености на ФА са следните:

- ранно светене от хориоидеята – зазоряване.
- артериалните съдове – бързо се изпълват, с голям интензитет на флуоресценция.
- Венозните съдове имат по-бавно изпълване, по-малък интензитет.

- Макулата изглежда винаги по-тъмна на флуорографските плаки – поради особеностите на РПЕ, липофусцин и меланин, ксантофилен пигмент във външния плексиформен слой.

Наличието на патологична хипо- или хиперфлуоресценция показва патологични изменения в макулата и тяхното проследяване и оценка са особено важни за диагностиката. Макар и особено ценен и базисен метод на изследване при МДСВ ФА има и своите недостатъци. Тя е инвазивно изследване, което не може да бъде повтаряно, технически е по-трудно за изпълнение и понякога може да доведе до сериозни странични ефекти. Едни от най-честите странични ефекти са:

- Оцветяване на кожата, лигавиците и урината – 24 часа
- Гадене, повръщане – при бързо инжектиране на багрилото
- Главоболие
- Флебит
- Алергична реакция от типа на уртикариален сърбеж до тежък анафилактичен шок.

Именно наличието на странични ефекти, както и нуждата да се наблюдават по-детайлно промените в РПЕ и фоторецепторните клетки са причината за появата и използването в съвременната диагностика на МДСВ на ОСТ и ОСТ-А изследванията.

3.3. Автофлуоресценция

Фундусовата автофлуоресценция е неинвазивен метод за визуализация на очното дъно, при който се използват флуоресцентните свойства на липофусцина на ниво ретинен пигментен епител (РПЕ). Автофлуоресценцията е спонтанен процес, при който се освобождава светлина с определена дължина на вълната при облъчване на определени вещества – флуорофори със светлина с различна дължина на вълната. Много често се наблюдава в клетките, в които се среща пигментът на стареене липофусцин, каквито са клетките на РПЕ.

Липофусцинът е флуорофор, който се натрупва в клетките в резултат на тяхното стареене или преждевременна дегенерация. Патолозите често го наблюдават в митохондриалните клетки, когато се изследват през кобалтово син филтър. Макар този пигмент да се натрупва във всички клетки, в най-големи количества, достатъчни да предизвикат автофлуоресценция, го наблюдаваме в постмитотичните клетки – невроните, ретината и мускулната тъкан. Установено е също, че липофусцин се натрупва не само в процеса на стареене, но също и при някои патологични процеси. В тези случаи автофлуоресциращият материал се нарича церуид. Най-често натрупването на церуид се наблюдава при всички невродегенеративни заболявания. Обикновено липофусцинът се отлага в клетъчните лизозоми, представлява жълто-кафяв пигмент, който облъчен със светлина с дължина на вълната 320-460 nm, отделя светлина с дължина на вълната 460-630 nm. Макар да се проучва многократно както хистохимично така и електронномикроскопски структурата на липофусцина остава ненапълно уточнена. Различни проучвания показват, че липофусцинът в 19-51% се състои от липиди, а в 30-58% от протеини. Липидите от своя страна са изградени от триглицериди, холестерол и свободни мастни киселини. Протеините са по-хетерогенна група, състояща се от амилоид-В прекурсорен протеин.

Основните механизми на натрупване на липофусцин в клетките са 3, лизозомална дисфункция, автофагия и оксидативен стрес.

Лизозомалната дисфункция се смята за една от основните причини за автофлуоресценцията при МДСВ. Под въздействието на стареенето ензимът цистеин протеиназа намалява своята активност в лизозомите и това води до натрупване на липофусцин. Автофагията е процес, при който в лизозомите се транспортират големи макромолекули за дезинтеграция, а оксидативният стрес е водещ фактор за увреждането на клетките и на лизозомите, което подпомага натрупването на липофусцин в тях.

В РПЕ клетки липофусцинът се натрупва в централната част на клетката като сферични, свързани с клетъчната мембрана, гранули, с диаметър от 1-2 μm . *Ex vivo* и *in vivo* изследвания показват увеличаване на съдържанието на

липофусцин в клетките на РПЕ до 70 годишнина на човек. Цитологично е доказано, че обемът от цитоплазмата на клетките, който се заема от липофусциновите гранули се увеличава с напредването на възрастта. Feeny-Barns et al. (1984) установяват, че при 40-годишния човек едва 8% от цитоплазмата на РПЕ клетки е изпълнена от липофусцинови гранули, докато при 80-годишния човек вече 25% от цитоплазмата са заети от липофусцин. Разбира се, това дава своето отражение върху метаболитната активност на тези клетки, компартиментализацията на органелите и активността на лизозомите, с което можем да обясним намалената функционална активност на клетките на РПЕ с времето.

Изследването на фундусовата автофлуоресценция започва още от времето на флуоресцеиновата ангиография, когато за първи път е наблюдавана автофлуоресценция на първоначалните снимки преди вкарването на багрилото, дължащи се на друзи на папилата или дистрофията на Бест. Стандартните камери за флуоресцеинова ангиография не са подходящи за отчитане на автофлуоресценцията, най-вече поради факта, че при използване на познатите ни филтри за възбудената и емитираната светлина се създават условия автофлуоресценцията от ретината да се поглъща от лещата. Това е особено изразено при възрастни хора с помътняване на лещата. За по-добра визуализация на АФ са предложени някои допълнителни модификации – фундусов спектрофотометър, сканиращ лазерен офталмоскоп и модифицирана фундус камера.

Фундусовият спектрофотометър е предложен от Delogi и неговата цел е да измерва и анализира емисията на АФ от малки части на ретината. Основният недостатък на спектрофотометъра е малката площ, която изследва.

Конфокалният сканиращ лазерен офталмоскоп изпраща нискоенергиен лазерен лъч към ретината и анализира отразената от ретината светлина. Дава възможност за отчитане на АФ от по-големи части на ретината. При тази техника разсеяната от ретината светлина е премахната и се получава по-контрастен образ на автофлуоресцентната снимка.

Съвременните камери са модифицирани фундус камери, които по идея на Spide (2003) използват два нови допълнителни филтъра, измествайки емитиращата и екскретиращата светлина към червената част на спектъра. По този

начин се преодолява абсорбиращият ефект на лещата. Поради голямото разпространение на стандартните фундус камери и лесното добавяне на допълнителните филтри модифицираната фундус камера се използва днес най-вече за отчитане на АФ.

В нашето проучване използвахме две камери за отчитане на АФ – Cannon CX1 и Topcon 2000 FA plus, и двете представляват модифицирани фундус камери. При тях ексцитиращият филтър е с 500-610 nm, а бариерният филтър за вълни в диапазона между 675-715 nm. Получените снимки бяха анализирани с помощта на специална компютърна програма и Image analyser. С него беше отчитана и измервана големината на патологичните автофлуоресцентни лезии и така отчитахме прогресията на заболяването. Възможно беше да се измерва до микрони големината на дадена автофлуоресцентна лезия и тя да се сравнява по големина и площ с друга такава, получена при следващото изследване на пациента. Прието е, че хиперавтофлуоресценцията е сигнал за дегенериращи клетки, с натрупан в тях липофусцин. Именно наличието на такива зони в ретината е от особен интерес в нашето изследване, защото е белег за клетъчна дегенерация и съответно за прогресия на заболяването. Именно с помощта на анализа с Image analyser и статистическата обработка на данните се опитахме на базата на автофлуоресценцията да изработим карта на риска от прогресия при различните групи пациенти с МДСВ.

3.4. Оптична кохерентна томография

ОСТ е една от най-модерните съвременни технологии за диагностика на заболяванията на ретината и зрителния нерв. Това е един сравнително нов, модерен метод за неинвазивна диагностика. При него се получават „оптични срези“ на изследваната тъкан, чиято информативност се равнява с тази получена при хистологични препарати (1, 5). Именно по тази причина, още при появата си методът е бил наречен „оптична биопсия на окото“ (4). Принципът на действие на ОСТ апаратите е сходен с В-ехографията, но вместо ултразвук се използва сноп светлина от нискокохерентен лазерен източник с дължина на

вълната от 840 nm. Поглъщането и разсейването на светлинните лъчи от тъканите се отчита на базата на феномена нискочестотна интерферометрия (7, 12).

Първите OCT апарати са на фирмата Zeiss – 1996 г. – OCT 1,2. По-късно същата фирма разработва и един от най-широко разпространените оптични кохерентни томографи – Stratus OCT (2002). Всички тези апарати са т.нар. Time Domain, при които сканиранията се извършват едно след друго във времето. Напоследък, с развитието на техниката в офталмологичната практика широко навлязоха т.нар. Fourier domain, или още известни като спектрални OCT апарати, при които благодарение на допълнителна камера и спектрофотометър е възможно да се правят множество симултанни сканирания за единица време (1, 5, 7, 13). Представител на този клас е OCT – RTVue на фирмата OPTOVUE (2006) както и апаратът Topcon 3D OCT 2000 FA plus. Основните характеристики на спектралните OCT апарати, описани накратко, се изразяват в следното: Средната скорост на сканиране е 26 000 аксиални скана за секунда, което е многократно повече в сравнение с Time Domain апаратите (максимум 400 scan/sec). Резолуцията на изображението е също по-голяма – 5 микрона, докато за другия тип апарати тя е 10 микрона. Именно по тази причина изследването със спектрална OCT е доста по-бързо и няма артефакти от движението на пациента, сканира се за по-кратко време по-голяма площ и се откриват повече детайли. Софтуерната програма на апарата дава възможност за измерване дебелината на ганглийния слой за получаване на 3D изображение на диска на зрителния нерв, както и отчитане на прогресията на заболяването (13).

Основните възможности за изследване, които OCT технологията ни дава са следните:

- Да се открият морфологичните промени в тъканите.
- Оценка на ретинната дебелина.
- Оценка на състоянието на витреоретинната повърхност.
- Количествен и качествен анализ на данните.
- Сравнително проследяване във времето.

За целите на настоящето проучване разработихме протокол от програми при OCT изследването на пациентите, който ни позволяваше най-точната и детайлна оценка на данните и достатъчна пълнота за изследваната патология.

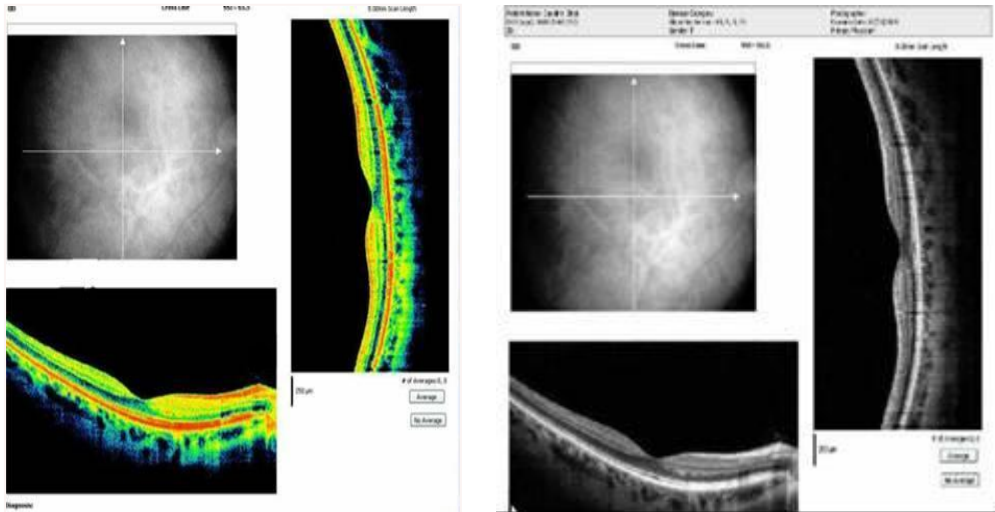
Протоколът за OCT изследване на пациентите с МДСВ на аппарата OCT – Optovue (Rtevue) включваше следните програми:

- HD Line
- Cross line
- 3D Reference Test
- EMM5

Програмата HD line всъщност означава high definition line и е сканиране в една равнина, при което се получава сборен образ от няколко последователни сканирания, който е с голяма резолюция.

Макар и информативен този тест не е достатъчен при диагностиката на МДСВ, защото много често е възможно срезът да не премине през лезията и да не я диагностицираме. Ето защо ни е нужен целият протокол от OCT програми, за да бъдем сигурни, че сме анализирали напълно очното дъно и нищо не е пропуснато.

Тестът Cross Line дава изображения на ретината в хоризонтална и вертикална посока от определена точка. Неговите технически характеристики са следните: 2048 A scan (pixel), времетраене на сканирането 78 msec, площ 2x6 mm (6, 7). Дава по-точна информация от изследването Line, което сканира само в хоризонталната равнина и може да пропусне лезия по вертикалата. Допълнително се добавя и образ на очното дъно. Софтуерната програма позволява изображенията да се получат цветни или черно-бели за по-добър контраст и откриване на минимални промени. Също е възможно и инверсно черно-бяло изображение за откриване на патология в слоя на РПЕ и хориоидеята (фиг. 2).



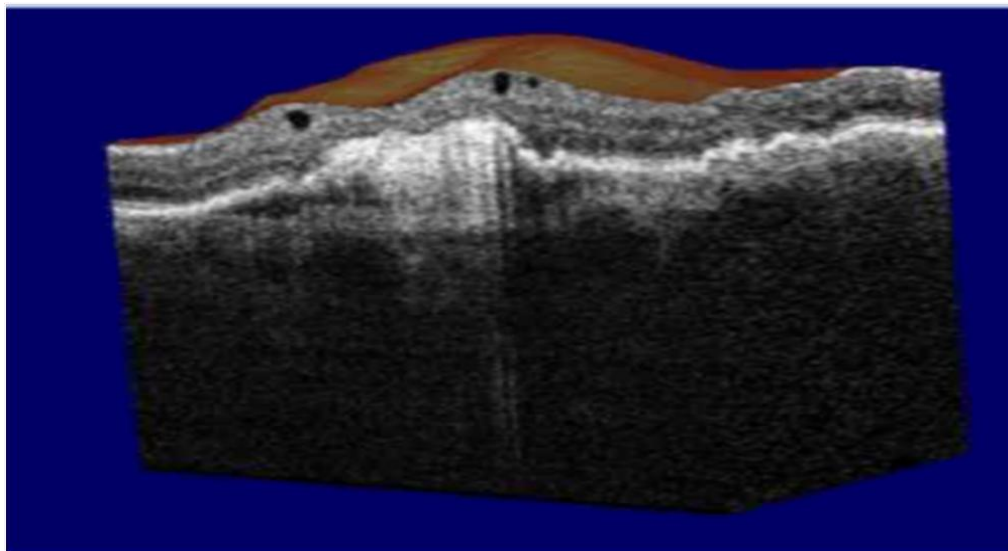
Фиг. 2. Цветно и черно-бяло изображение на нормална ретина при изследването Cross line. Виждат се добре линиите на сканиране в хоризонтална и вертикална посока

Изследването 3D Macular Test показва триизмерно изображение на ретинната повърхност, или т.нар. 3D карта. Неговите технически характеристики са 512 A scan, площ 4x4 μm , време 2 сек. Чрез него получаваме информация за топографията на ретинната повърхност, витрео-ретинните взаимоотношения, патологичните лезии в дълбочина. Програмата е интерактивна и дава възможност триизмерното изображение да се появи на целия екран и да се разгледат всички сканирания едно след друго слой по-слой, като се получава точна представа за пространственото разположение на патологичните промени. 3 D Reference test е по-нова софтуерна версия на 3 D Macular Test. Получава се триизмерно изображение на ретината с център фиксационната точка, подобно на това, получено от сканиращ лазерен офталмоскоп SLO (141В скана, покриващи площ 7x7 mm). Полученото изображение дава:

- детайлно повърхностната топография на ретината
- точна локализация на големите ретинни съдове.
- стандарт при изграждане на картата за квантитативен анализ – EMM5.

Тази програма е изключително важна, тъй като позволява да се определи позицията на основните ретинни съдове и при всеки следващ преглед машината да ги позиционира на същото място (6, 8, 13). Така се гарантира просле-

дяването на промените във времето и прецизна локализация спрямо ретинните съдове.



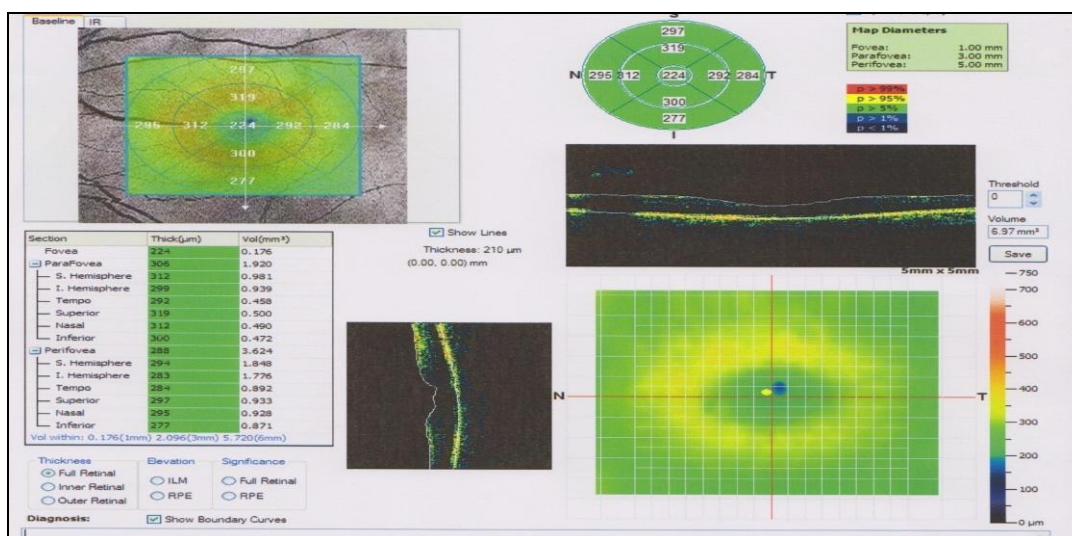
Фиг. 3. Триизмерно изображение на ретината с възможност за оглеждане чрез по срез при програмата 3D Macular Test

- ММ5 тестът е програма за количествен анализ на ретинната дебелина и измерване на ретината слой по слой. При него се сканира се под формата на решетки: 5 x 5 μm на разстояние 0,25 μm , за време 750 msec (19 496 A scan). Може да се направи измерване на цялата ретинна дебелина от VRI-IS/OS или пък измерване на отделните слоеве: на външна ретинна дебелина – от IS/OS-IPL, на вътрешна ретинна дебелина – от VRI-IPL или само на дебелината на слоя на РПЕ/хориоидеята (8, 9).

- ЕММ5 – количествен анализ на ретинната дебелина е по-нова софтуерна версия на ММ5. Изображението се получава при съчетаването на изображенията получени чрез съвместяване на повърхностно топографския образ от сканиращия лазерен офталмоскоп (3D Reference) с допълнителни сканирания във вертикална и хоризонтална посока под формата на решетка (9). Възможностите на програмата са значително по-големи и се изразяват във:

- точна локализация спрямо ретинните съдове.
- изчисляване дебелината и площта на изследваната лезия.
- отчитане дебелината на ретината слой по слой.
- проследяване прогресията на заболяването – ЕММ5 прогресия.

На разпечатката от изследването в долния десен ъгъл се появява карта на ретината, а отстрани на нея таблица (13, 17), където са представени в микрометри дебелините на ретината във фовеята, парафовеоларно и периферно. Използва се и една допълнителна цветна скала, за да можем дори визуално да се ориентираме за промените в ретинната дебелина. Съгласно нея най-тънките участъци на ретината се изобразяват в синьо – 150 μm , а най-дебелите в червено и бяло над 450 μm дебелина (фиг. 4).

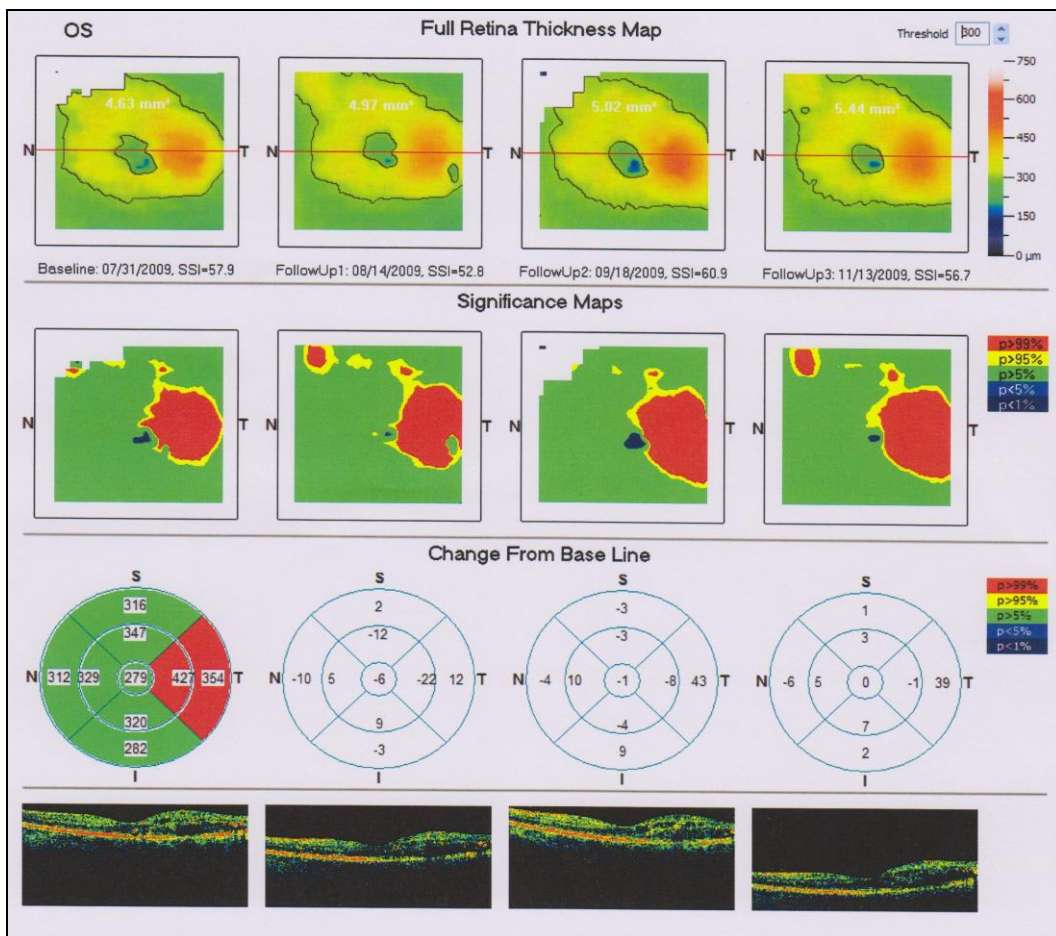


Фиг. 4. EMM5 карта – отчита се ретинната дебелина и се дава в табличен вид и чрез специална цветна скала се показват отклоненията от нормата

Програмата EMM5 прогресия дава възможност да се документират промените в големината и дебелината на изследваните лезии. Това се случва като:

- Проследява и сравнява резултатите в до 4 последователни прегледа.
- Сравняват се промяната на площта спрямо първоначално дефинираната при първия преглед.
- Сравнява промените в ретинната дебелина – положителни или отрицателни в сравнение с тази при първия преглед (10).
- Графично отчита прогресията на заболяването.

Всичко това дава възможност с точност до микрон да се отчетат промените в изследваната патологична лезия и да се отчете ефектът или липсата му от проведената терапия (фиг. 5).



Фиг. 5. Резултати от изследването EMM5 прогресия – отчитат се и най-малките промени в изследваната лезия

При оценка на данните за количествен анализ винаги трябва да се имат предвид нормалните стойности на ретинната дебелина, които за различните OCT апарати варират (15, 21). Известно е, че спектралните OCT апарати мерят ретината малко по-дебела в сравнение с Time Domain, защото те имат по-висока прониквателна способност и могат да измерват и слоя на РПЕ (16, 21). Това е невъзможно при другите модели апарати. За OCT OPTOVUE нормалните стойности на ретинната дебелина са следните:

Фовея:

Норма: 150 +/- 20 µm.

Гранична стойност: 170-210 µm.

Едем: > 210 µm.

Централна зона – 1 mm диаметър:

Норма: 170 +/- 20 μm .

Гранична стойност: 190-230 μm .

Едем: > 230 μm .

Перифовеоларна и периферна зона:

Норма: 230 +/- 20 μm .

Гранична стойност: 250-290 μm .

Едем: > 290 μm .

Всичко това трябва да се има предвид при анализ на получените резултати от ОСТ изследването.

3.5. ОСТ-А – оптична кохерентна томография – ангиография

В исторически план това е една сравнително нова технология, която се развива от 2014 г. насам.

ОСТ-А е неинвазивен метод за диагностика на ретината, нейното кръвообращение и това на хориоидеята. Получават се изображения много бързо едно след друго и технологията отчита движението на кръвната колона – еритроцитите в съдовете на ретината. Всичко това позволява да се получи едно изображение както на ретиналните структури, така и на съдовете на ретината и хориоидея, които са съвместени в един общ образ. ОСТ-А е по-бърз и по-лесен за изпълнение метод, позволяващ да се получат cross-sectional и en face изображения на ретината и хориоидеята, с триизмерна визуализация на хориоидалните лезии. Дава се възможност за сегментиране на ретинната структура на повърхностен и дълбок ретинален васкуларен плексус. ОСТ-А сегментира ретината и дава информация за съдовата микроциркулация в 3 зони – повърхностен ретинен плексус, показва съдовата мрежа между ILM и IPL, дълбок ретинен плексус – показва ретинната съдова мрежа между IPL и OPL. Този плексус не може да бъде визуализиран с ФА. Последната зона, която се вижда на ОСТ-А, е аваскуларна.

Въвеждането на OCT-A технологията ни даде възможност да визуализираме неоваскуларните мембрани.

Получената информация позволява по-точна оценка и диагностика на МДСВ, както и на много съдови заболявания на окото, като диабетната ретинопатия, оклузия на ретинните вени, васкулопатии и колагенози.



Фиг. 6. Изображение на очното дъно на OCT-A от AngioPlex, Zeiss

Както се вижда от схемата началото на OCT диагностиката е поставено през 2001 година, като се започва с Time domain OCT апарати, през 2006-2009 г. се доразвива технологията с въвеждането на по-новото поколение Spectral domain OCT, както и Swept source OCT, за да се стигне до най-съвременните модели на OCT-A.

В нашите проучвания използвахме OCT-A – AngioPlex, Zeiss. С нейна помощ се получават сканирания с висока резолюция и 3D изображения на микроваскулатурата на ретината. Дава възможност да се получат количестве-

ни данни за резглежданите структури на ретина и зрителен нерв, както и на перфузията в тях, което е от голямо клинично значение. Zeiss AngioPlex позволява не само да получим изображения и да видим дали има, или не, нормален кръвоток, но също така да измерим плътността на капилярите в изследваната зона, разклоняването на съдовете, тяхната големина. Информацията за плътността и морфологията на ретинните съдове е важен фактор за оценка на тежестта на заболяването, както и критерии за повлияване от терапията. Основните характеристики на ОСТ-А могат да бъдат обобщени по следния начин:

- Неинвазивна технология за изобразяване на ретиналното и хориоидното кръвообращение.
- Показва в детайли повърхностния и дълбокия ретинален плексус и хориоидеята.
- Статичен поглед на ретиналния кръвоток.
- Силно стеснено поле – 3x3 mm
- Силно се влияе от движението на очите на пациента – артефакти от движението.

Макар ФА да е „златен стандарт“ за доказване на някои заболявания като МДСВ, тя ни дава само двуизмерно изображение на повърхностните ретинални съдове. ОСТ-А ни дава 3 измерно изображение и ни показва дълбокия съдов плексус, който остава невидим с ФА. Освен това изтичането на багрило от съдовете, както и неговото събиране в определени пространства, например под РПЕ при неговото отлепване, води до блокиране на видимостта към подлежащите структури. ФА трудно дава изображение на хориоидалните съдове, тъй като хиперфлуоресценцията от хориоидеята е екранирана от слоя на РПЕ. Не на последно място това е инвазивна процедура, която не може да се повтори в същия ден, свързана е с инжектиране на багрило и възможност от странични реакции като повръщане, гадене, анафилактични прояви и др. ОСТ-А е по-лесна за изпълнение, може многократно да се повтори. Не е свързана с въвеждане на багрило и няма странични реакции. Методът ни показва дълбокия съдов плексус и съдовете на хориоидеята. С него за първи път можем да ви-

дим самата структура на развиващата се неоваскуларна мембрана, дори и когато е в субклиничен стадий. Можем със сигурност да кажем къде в ретинната структура, на каква дълбочина се намира неоваскуларизацията и да проследим развитието ѝ във времето. Тази технология позволява по-детайлното изучаване на неоваскуларните мембрани и доказва, че не всички те са еднакви. Позволява отчитане на прогресията на заболяването и рисковите фактори за прогресия. Ограниченията на методиката за момента са:

- малкото поле на сканиране – 3x3 или 6x6,
- по-трудно технически,
- голямата чувствителност на артефакти или мигания от страна на пациентите.

Ако трябва накратко да обобщим приликите и разликите между двата метода, то това би било така:

ФА

- инвазивен метод.
- изисква се внасяне на багрило.
- изображения с ниска резолюция.
- голяма площ на изображенията.
- не се влияе от движения.
- двуизмерно изображение, без възможност за сегментация.
- изображение само на повърхностните ретинни слоеве и повърхностния съдов ретинален плексус.

– динамичен метод – динамично се проследяват фазите на изпълване и изпразване с кръв на ретиналните съдове.

- средно време за изпълнение между 5 и 30 мин.

ОСТ-А

- Неинвазивен и повторяем метод.
- Не се налага вкарване на багрило.
- Снимки с висока резолюция на изображението.
- Малко поле на заснемане – най-много 12 x 12 mm.

- Силно се влияе от движенията на очите и мигането.
- 3D изображение с възможност за сегментация на образа.
- Изобразяват се повърхностният и дълбокия съдов ретинален плексус, както и външната ретина и съдовете на хориоидеята.
- Статично изследване – моментна снимка на ретинното кръвообращение.
- Време за изпълнение < 5 min.

Както се вижда от посоченото по-горе, и двата метода имат своите положителни и отрицателни страни, като в някои случаи те взаимно се допълват, давайки ни допълнителна информация. Не можем да кажем, че единият ще измести другия, подобно на инструментите в един оркестър те се допълват и ни дават по-точна диагностика на заболяванията на макулата.

3.6. Електронномикроскопски и хистохимични методи

Хистохимично материалите бяха обработвани по стандартната методика на Nissl и Paraniolau. Електронно-микроскопските препарати бяха изготвяни по стандартна методика за електронна микроскопия. По-специфична беше техниката със Safranin O за изследване на протеогликановите комплекси в междуклетъчния матрикс.

Снимките от електронномикроскопското изследване бяха гледани на електронен микроскоп Hitachi A 11. Използваше и програма за анализ с Image analyzer за оценка на промените в протеогликановите комплекси при оцветяването им със Safranin O. Хистохимичното изследване със Сафранин О е предложено за първи път от Shepard и Mitchel, като с него се цели да се докажат протеогликановите комплекси в екстрацелуларния матрикс. При този метод оцветяването на протеогликановите комплекси се извършваше едновременно с фиксацията и дехидратацията, като от особено важно значение е поддържането на определено Ph на средата (6.8-7.2), при което се запазва целостта на протеогликаните. Този метод даваше възможност за количествен анализ чрез използването на Image analyzer.

Изследването се провеждаше по следния начин:

1. Късчета с най-голяма дебелина до 1 mm фиксирахме в 2% глутаралдехид в 0.1 М какодилатен буфер, съдържащ 1% Safranin O.

2. Изплаквахме ги в какодилатен буфер, съдържащ 0.5% Safranin O.

3. Допълнително се фиксираха в 1% разтвор на осмиев четириокис, съдържащ 0.25% Safranin O.

4. Изплакваха се в буфер, съдържащ 0.25% Safranin O.

5. Дехидратираха се във възходяща редица алкохоли.

6. Включваха се в смола.

7. Рязане и наблюдение, като при стандартната електронна микроскопия.

Получените скенограми подлежаха на компютърна обработка за отчитане големината и концентрацията на протеогликановите комплекси в междуклетъчния матрикс.

8. Компютърна обработка на електронограмите

Получените от изследването със Safranin O електронограми – задължително с еднакво увеличение, обработваме с Image analyzer “Olimpus”, като за целта се използваше специален софтуер – CUE-2.

Първоначално сканирахме определени полета от електронограмите всички с еднакво увеличение и ги запаметихме в съответен файл. Изчислявахме средната големина на една протеогликанова субединица. След това глобуларните субединици на протеогликановите комплекси се калибрираха на малки, средни и големи. Изброихме субединиците от всеки вид поотделно и с помощта на компютъра изчислихме тяхното съотношение. Впоследствие се определяше преобладаващият тип субединици и се построяваха хистограми.

3.7. Статистически методи

1. Дескриптивна статистика

– Количествените променливи са представени чрез обобщаващите статистически характеристики – средна аритметична (Mean), медиана (Median), стандартно отклонение (SD);

– Категорийните променливи са представени чрез *абсолютни честоти (n)* и *относителни честоти (%)*

2. Тест на Колмогоров-Смирнов при една извадка (One-Sample Kolmogorov-Smirnov test) за проверка на формата на честотните разпределения при количествените променливи.

3. Хи-квадрат тест (Chi-square test) – при изследване на зависимости между описателни (категорийни) данни с две или повече категории.

За установяване на статистическа зависимост между две качествени променливи, представени в табличен вид, беше използван критерият хи квадрат (Chi-Square Tests). Чрез него се проверява хипотезата, че между променливите, формиращи редовете и колоните на таблицата, има зависимост. Не се определят силата и посоката на зависимостта.

4. Непараметричен тест на Ман-Уитни (Mann-Whitney test) при сравняване на две независими групи, когато формата на честотното разпределение е различна от формата на нормалното разпределение.

5. Непараметричен тест на Кръскал-Уолис (Kruskal Wallis Test) при сравняване на повече от две независими групи, когато формата на честотното разпределение е различна от формата на нормалното разпределение.

5. Непараметричен тест на Уилкоксон (Wilcoxon Signed Ranks Test) при сравняване на две свързани групи (повторни измервания) – при рангови данни или когато формата на честотното разпределение е различна от формата на нормалното разпределение.

Приетото критично ниво на значимост е $\alpha = 0,05$.

Съответната нулева хипотеза се отхвърля, когато р стойността (p-value) е по-малка от α .

За допълнителна статистическа обработка на данните бяха използвани следните методи:

1. Тест за нормалност (test of Normality Kolmagorov-Smirnov) на разпределение на количествена променлива.

2. Вариационен анализ на количествени променливи – признаци. Чрез този анализ определяме средната стойност (Mean), стандартното отклонение (Std. deviation),

3. Стандартната грешка на средната (STD Err of Mean) и някои други статистически характеристики.

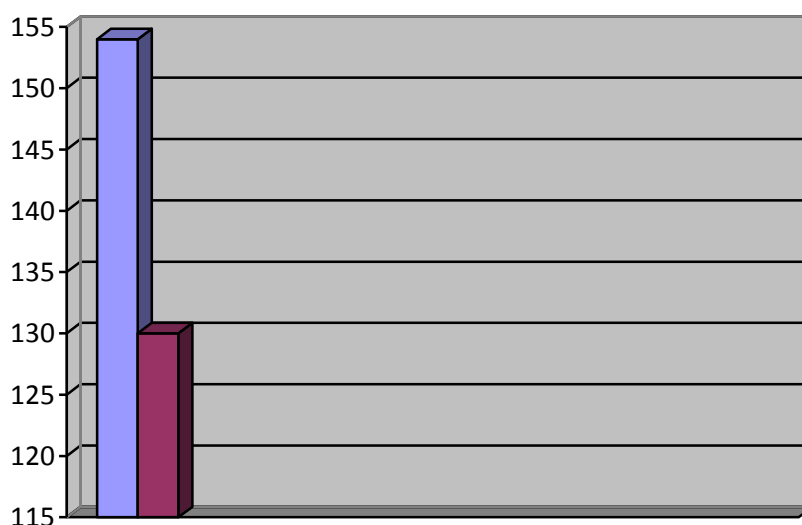
4. Интервални оценки на средни стойности (95% от доверителния интервал)

5. Чрез ANOVA беше извършен дисперсионен анализ на количествена променлива при наличието на един фактор (независима променлива), който има повече от две категории. Дисперсионният анализ позволява да се тества хипотезата, че няколко средни стойности са равни. Нулевата хипотеза (всички средни стойности са равни) се отхвърля, ако $p < 0.05$.

За обработка на данните от проучването е използван специализираният статистически пакет SPSS (Statistical Package for the Social Sciences), версия 16.0.

ГЛАВА IV. РЕЗУЛТАТИ

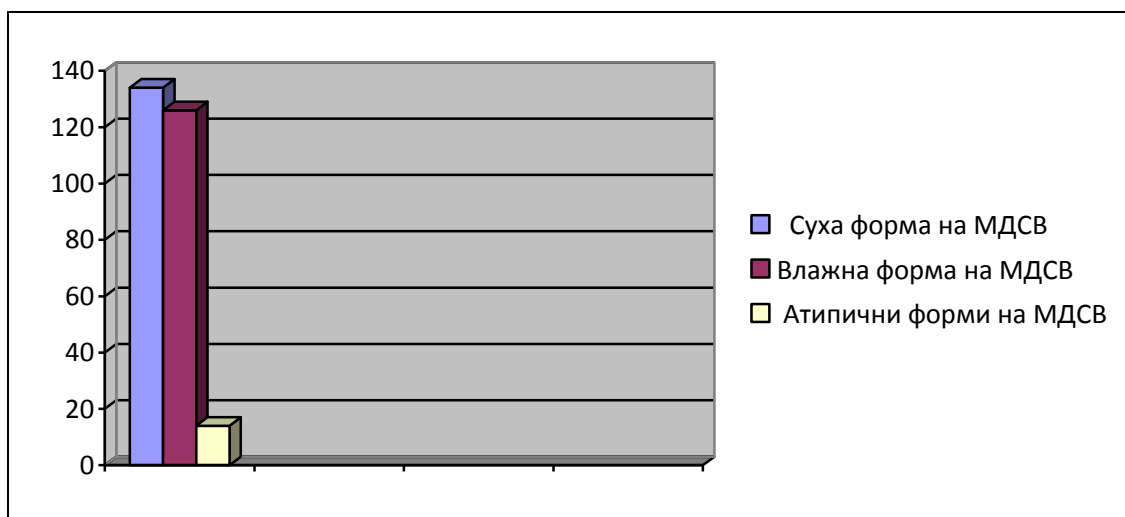
В нашето проучване бяха включени 274 пациенти, диагностицирани и лекувани в МЦ „Зрение“ – София, и Очна клиника, ВМА – София през периода от 2008-2020 г. (11 години). От тях 154 души бяха мъже, а 130 жени – фиг. 7. Пациентите бяха на възраст между 61 и 83 години, средна възраст 69,6 години.



Фиг. 7. Разпределение на пациентите по пол – 154 мъже и 130 жени

Те бяха разделени в три основни групи:

1. Пациенти със суха форма на МДСВ – 134 пациенти.
2. Пациенти с влажна форма на МДСВ – 126 пациенти.
3. Атипични форми на МДСВ – 14 пациенти, от тях 9 с РАП и 5 с ПХВ.



Фиг. 8. Разпределение на изследваните пациенти по групи в зависимост от вида на МДСВ – пациенти със суха форма на МДСВ, с влажна форма на МДСВ и атипични форми

Процентното разпределение на изследваните пациенти е, както следва:

Пациентите със суха форма на МДСВ са 50% от цялата извадка.

Пациентите с влажна форма на МДСВ са 46% от цялата извадка.

Пациентите с атипични форми на МДСВ са 4% от цялата извадка.

От групата на пациентите с влажна форма на МДСВ беше обособена отделна подгрупа, на пациенти с МДСВ и хемофталам – 11 очи, при които се наложи извършването на ППВ, при която беше взиман материал – субретинна тъкан за електронномикроскопско и имунохистохимично изследване.



Фиг. 9. Разпределение на пациентите с влажна форма на МДС, използвани за електронномикроскопско изследване

В зависимост от терапевтичните средства, прилагани при лечението на пациентите с влажна форма на МДСВ, ние имахме 3 подгрупи:

1. Пациенти с влажна форма на МДСВ, лекувани с Avastin (bevacizumab) – 41 пациенти.

2. Пациенти с влажна форма на МДСВ, лекувани с Lucentis (ranibizumab) – 12 пациенти.

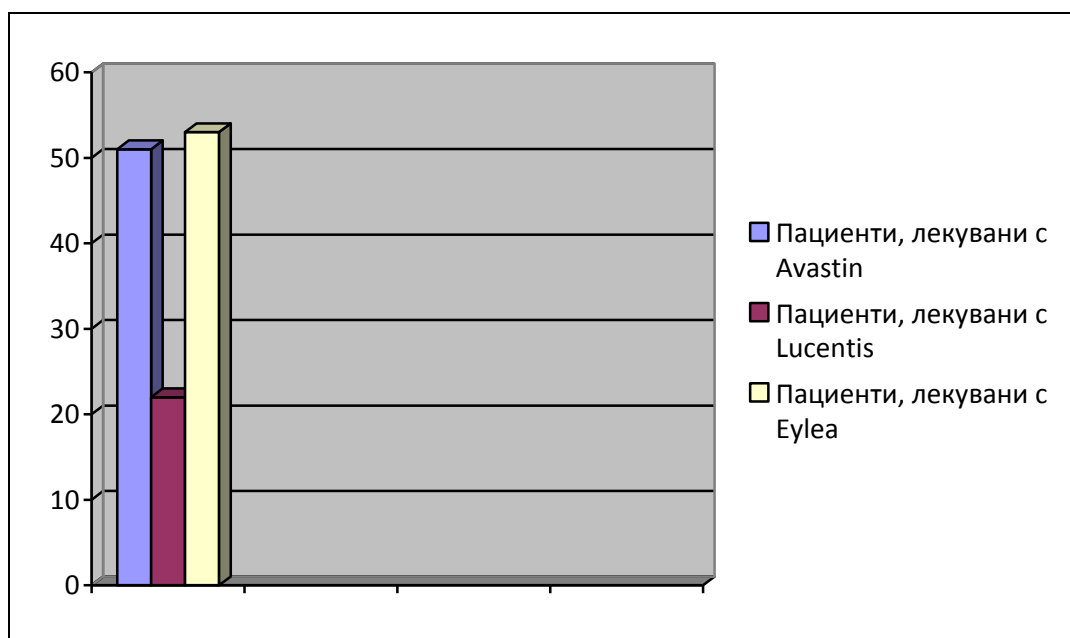
3. Пациенти с влажна форма на МДСВ, лекувани с Eylea (aflibercept) – 73 пациенти.

Процентното разпределение на изследваните пациенти в зависимост от използваните анти-VEGF медикаменти е съответно, както следва:

30,4% от всички с влажна форма на МДСВ са лекувани с Avastin

17,4% от всички с влажна форма на МДСВ са лекувани с Lucentis

42,0% от всички с влажна форма на МДСВ са лекувани с Eylea.



Фиг. 10. Разпределение на пациентите с влажна форма на МДСВ в зависимост от препаратите, с които са лекувани

Става ясно, че сравнително най-голям е делът на пациентите, които се лекуват с Eylea и Avastin, и значително по-малък на тези, лекувани с Lucentis. Причина за това е липсата на достъпност на нашите пациенти до този препарат.

Бяха отчитани основните рискови фактори за развитие на МДСВ и неговата прогресия. Това бяха:

- Възраст на пациентите
- Наличие на придружаващи заболявания – артериална хипертония, висок холестерол, затлъстяване
- Наличие на МДСВ в едното око.
- Клинични характеристики на лезиите водещи до повишен риск.

Най-общо рисковите фактори за развитие на МДСВ можем да разделим в две големи групи:

- Рискови фактори от общ характер
- Клинични рискови фактори
- От рисковите фактори от общ характер от особено значение са възрастта на пациента и съпътстващите придружаващи заболявания.

Основният рисков фактор за развитието на заболяването си остава възрастта.

Нашите изследвания показват, че общият брой на пациентите с МДСВ е средно около 35% от цялата очна патология, което показва и голямата регионална и глобална значимост на заболяването и диагностичните проблеми, свързани с него.

Възрастта си остава основен рисков фактор, като в изследваната от нас извадка се оказа, че най-висок процент от прогресия на състоянието има при пациенти над 65 годишна възраст. С повишаването на възрастта на пациентите рискът от поява на МДСВ и неговата прогресия нараства два пъти за всеки 10 години.

Интерес представлява и фактът, че полът също има значение като рисков фактор за развитието и прогресията на МДСВ. Оказва се, че статистически в

нашата извадка по-често заболяването се развива при жени отколкото при мъже (2:1), като при наличие на заболяването вече в едното око склоността към прогресия е по-голяма ($p = 0,004$).

Таблица 2. Връзка между пола и честота на МДСВ

Chi-Square Tests

Пол		МДСВ в едното око		Общо	χ^2	df	p
		Не	Да				
Мъже	N	86	45	131	8,11	1	0,004
	%	55,1%	37,8%	47,6%			
Жени	N	70	74	144			
	%	44,9%	62,2%	52,4%			
Общо	N	156	119	275			
	%	100,0%	100,0%	100,0%			

Повишеното кръвно налягане е често свързвано с рисковите фактори за прогресия на МДСВ, тъй като при тези пациенти се намалява кръвотока през хориоидеята, което е предпоставка за дегенеративни изменения в тази зона и появата на дегенерация. Още през 1977 г. Kahn et al. в своите проучвания докладват за връзка между МДСВ и хипертонията (Framingham Eye Study). Нашите проучвания показват увеличена честота на МДСВ при пациенти с артериална хипертония.

Таблица 3. 9 пъти по-висок риск от развитие на МДСВ при пациенти, които са хипертоници

Chi-Square Tests

Хипертония		МДСВ в едното око		Общо	χ^2	df	p
		Не	Да				
Не	N	62	26	88	9,93	1	0,002
	%	39,7%	21,8%	32,0%			
Да	N	94	93	187			
	%	60,3%	78,2%	68,0%			
Общо	N	156	119	275			
	%	100,0%	100,0%	100,0%			

Нашите резултати показват и зависимост между развитието на МДСВ и давността на хипертонията. Така например при **давност на хипертонията повече от 10 години** се наблюдава двойно по-висок риск от развитие на МДСВ. При над 60% от пациентите с 10 и повече години давност на хипертонията наблюдавахме прогресия на МДСВ. При наблюдаваните от нас пациенти с хипертония 32% бяха с повишено **диастолично налягане**, като това бяха и пациентите, които прогресираща към влажна форма на МДСВ.

От значение като рисков фактор за прогресията на МДСВ са и повишаването на **серумния холестерол и патологичният липиден статус**. Още през 1992 г. The Eye Disease Case-control Study Group consortium публикува резултати, показващи повишен риск от прогресиране на МДСВ към неоваскуларна форма при пациенти с повишени стойности на серумния холестерол. В нашето проучване наблюдавахме връзка между повишените нива на холестерол и триглицериди в кръвта и прогресията на географската атрофия при пациенти със суха форма на МДСВ. В 30% от случаите на повишен серумен холестерол наблюдавахме прогресия на географската атрофия.

Хората без тези заболявания са 2 пъти по-защитени от развитието на МДСВ. Освен повишения холестерол и **повишеното тегло е риск** за развитие и прогресия на МДСВ. Наднорменото тегло е известен рисков фактор за развитието на МДСВ. Seddon et al. (2003) установяват, че при пациенти с $BMI \geq 30$ рискът от развитие на влажна форма на МДСВ е 2.35 пъти по-висок от тези с нормално тегло.

Сравнителен анализ между пациенти със и без заболяване

Таблица 4. По-висок риск от развитие на МДСВ при пациенти, които имат съпътстващи заболявания – хипертония, лош липиден статус, затлъстяване

Mann-Whitney Test

Показател	МДСВ в едното око	N	Mean	Median	SD	Min	Max	p
Систолно артериално налягане	Не	156	134,28	134,00	14,34	110,00	180,00	0,004
	Да	119	139,24	142,00	15,06	100,00	200,00	
Диастолно артериално налягане	Не	156	88,22	90,00	10,63	60,00	110,00	0,002
	Да	119	91,67	95,00	13,83	10,00	110,00	
Холестерол	Не	156	5,61	5,35	1,27	3,00	8,10	< 0,001
	Да	119	6,25	6,00	1,30	2,00	8,50	
ВМІ	Не	156	29,76	29,00	6,69	20,00	60,00	< 0,001
	Да	119	33,18	33,00	7,33	20,00	58,00	

Съществува правопрпорционална зависимост между повишения ВМІ и развитието на МДСВ. Колкото ВМІ е по-голям, толкова и рискът от развитие на състоянието се увеличава.

Можем да обобщим, че най-високорисков за развитие и прогресия на МДСВ е човек на възраст над 70 години, от женски пол, с артериална хипертония повече от 10 години, с повишено диастолно налягане и с наднормено тегло. Профилактиката на тези общи рискови фактори намалява риска от прогресия на МДСВ.

Освен общите рискови фактори от особено значение са и клиничните рискови фактори, които са строго индивидуални при всеки пациент.

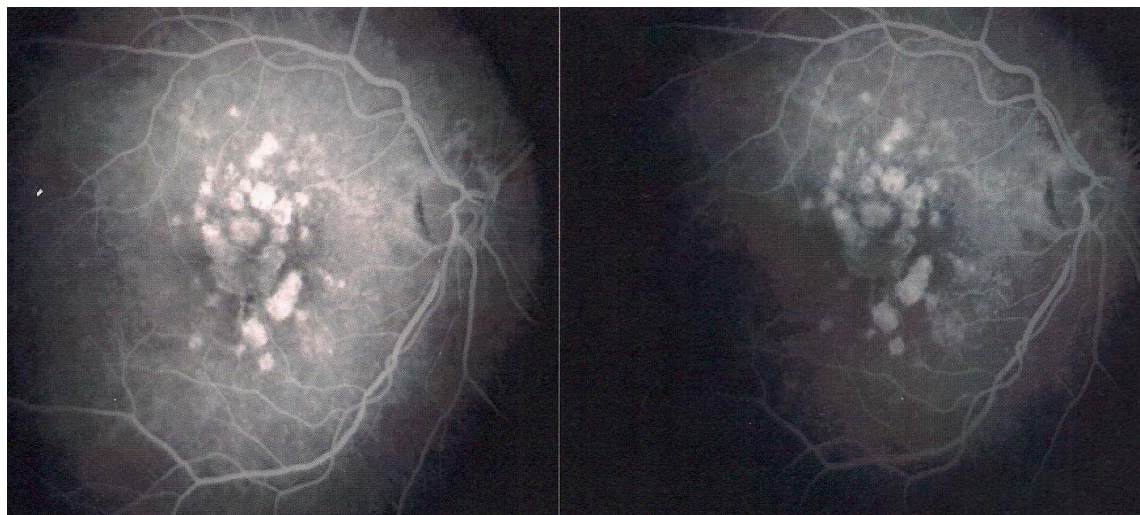
Всички пациенти от извадката бяха изследвани подробно офталмологично, за зрителна острота, решетка на Амслер, както и с OCT, флуоресцеинова ангиография и автофлуоресценция. OCT изследването се провеждаше на апарати Optovue (RTe Vue), Topcon 3 D OCT 2000 FA plus и Cirrius – Angiophlex (Zeiss). Цветните снимки, ФА снимките, ФАФ се извършваха на Topcon 2000 Fa plus. Използвани бяха програмите за количествен анализ на OCT апаратите – EMM5, EMM5 прогресия, Macular cube, 5 scann Macular cube 213

4.1. Резултати от изследването на пациентите със суха форма на МДСВ – рискови фактори

Флуоресцеинова ангиография

При изследването на пациентите използвахме описания в Материал и методи протокол за флуоресцеинова ангиография.

На флуорографските плаки при началните форми на суха форма на МДСВ се наблюдаваха най-често различни, пръснати хиперфлуоресцентни петна – друзи, които понякога конфлуираха помежду си.



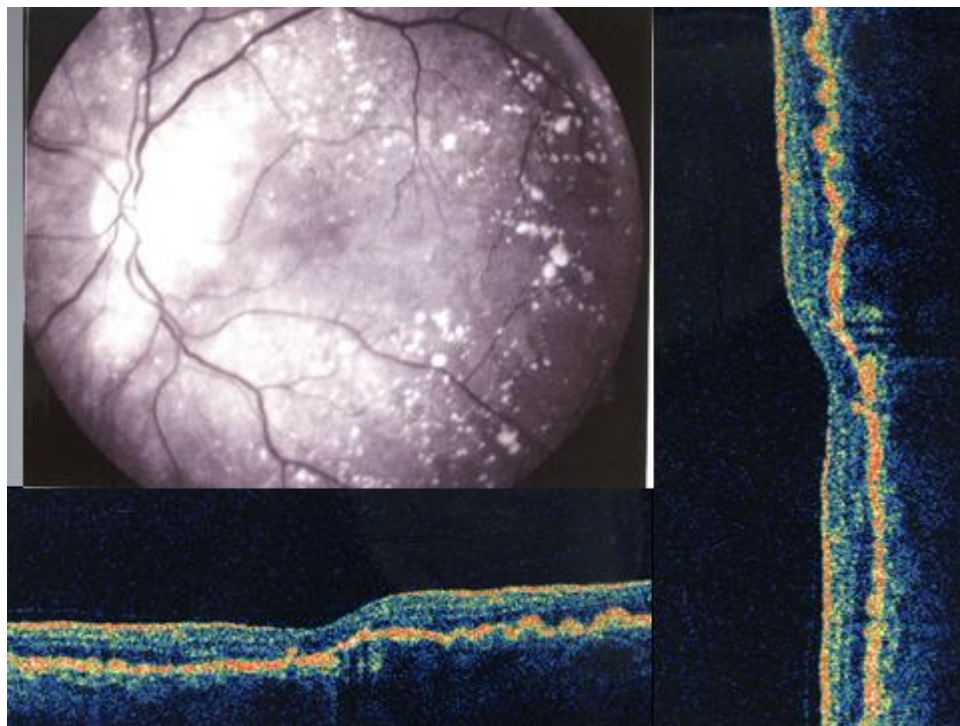
Фиг. 11. Флуоресцеин ангиографско изображение на конфлуиращи меки друзи при суха форма на МДСВ

С помощта на компютърна система беше възможно да се измерят размерите на меките друзи.

В зависимост от размерите им ние ги разделихме на няколко подгрупи:

- Меки друзи с малки размери до 150-200 μ .
- Меки друзи със средни размери – 250-300 μ .
- Меки друзи с големи размери над 350 μ .

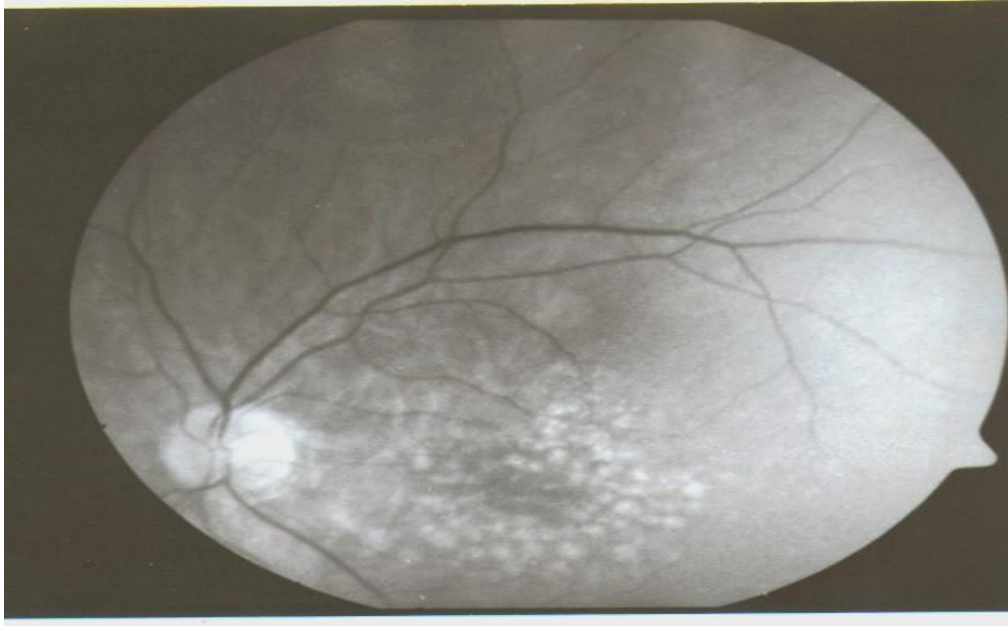
Проследяването на пациенти с налични друзи от посочените групи за времето от 2 години показва прогресия на състоянието най-вече при пациенти с *меки друзи с големи размери 350 μ* и повече, при които се наблюдава активно изтичане на флуоресцеин от лезиите в късните фази на ангиографията. В 65% от изследваните случаи се наблюдава прогресия към влажна форма на заболяването, когато такива друзи се комбинират с друзевидно отлепване на РПЕ (фиг. 12).



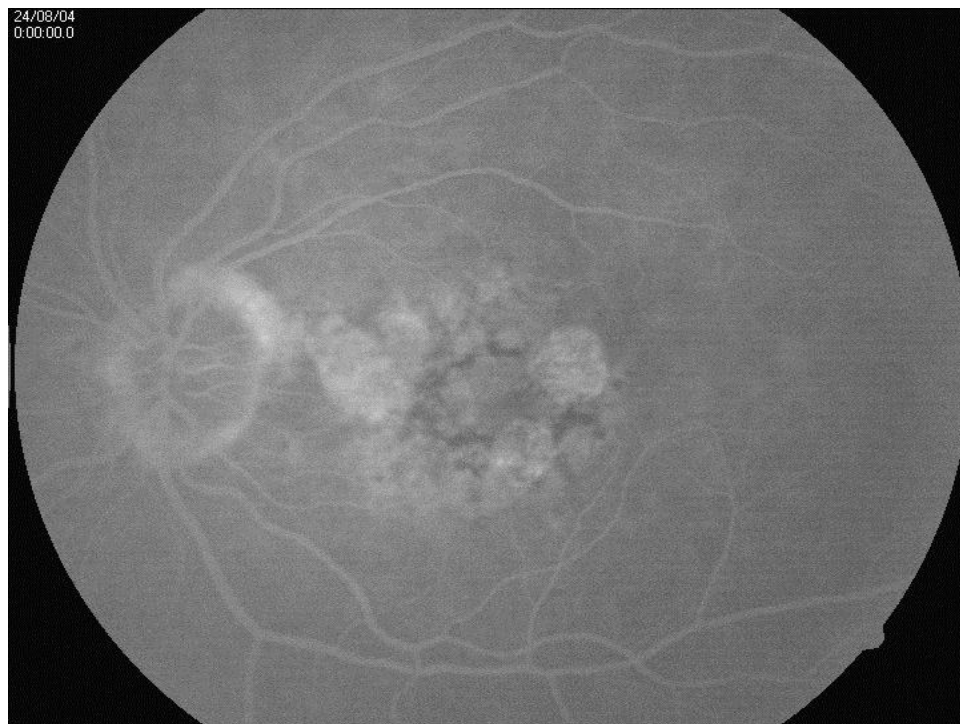
Фиг. 12. Пациент с МДСВ, наличие на конфлуирани меки друзи и отлепване на РПЕ.
Високорисков профил за развитие на влажна форма на МДСВ

При наблюдаваните от нас пациенти със средни по-големина 250-350 μ друзи, често се развиваше атрофична лезия на мястото на конфлуиращите друзи за 2-годишен период. Честотата на атрофията се увеличаваше с 25% в случаите на добавено друзевидно отлепване на РПЕ, едновременно с наличието на такива друзи.

Статистическата обработка на данните и използваният дисперсионен анализ ни позволиха да установим фактора на вероятност от прогресия на заболяването при наличие на отлепване на РПЕ. Оказва се, че наличието на таква увеличава 4 пъти възможността от прогресия или към влажна, или към атрофична форма на МДСВ, за разлика от случаите, когато то липсва.



Фиг. 13. Изображение на конфлуираци, средни по размер меки друзи, с отлепване и на РПЕ



Фиг. 14. Развитие на атрофични лезии при пациент с високорискови, големи по размери меки друзи

ОСТ изследванията на пациенти с начална форма на заболяването дадоха възможност да се отдиференцират ОСТ критериите за различните видове друзи, както и да се получи точна представа за техните основни характеристики –

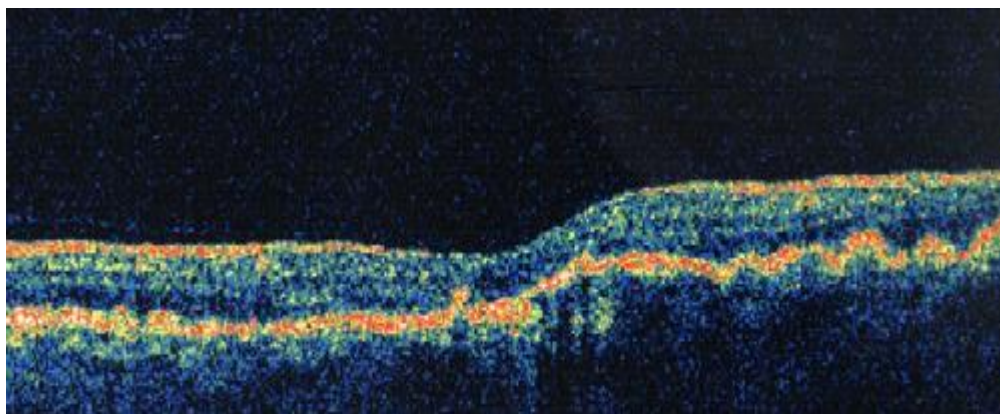
големина, форма, конфлуиране, наличие или липса на увреждане на РПЕ или неговото отлепване.

Според ОСТ критериите успяхме да разделим различните видове друзи на следните няколко типа – твърди, меки и нодуларни друзи.

Видове друзи според ОСТ характеристиката им:

- ясно очертани надигания на линията на РПЕ – твърди друзи.
- множество сливащи се надигания на РПЕ – вълниста линия – меки друзи
- нодуларни друзи.

Нашите изследвания показаха наличие на твърди друзи при по-голямата част от пациентите със суха форма на МДСВ. Те се характеризираха със сравнително малки размери до 200 μ , триъгълна форма на нивото на линията РПЕ и хориоидея, като почти никога не се наблюдаваше прекъсване целостта на тази линия (фиг. 15).

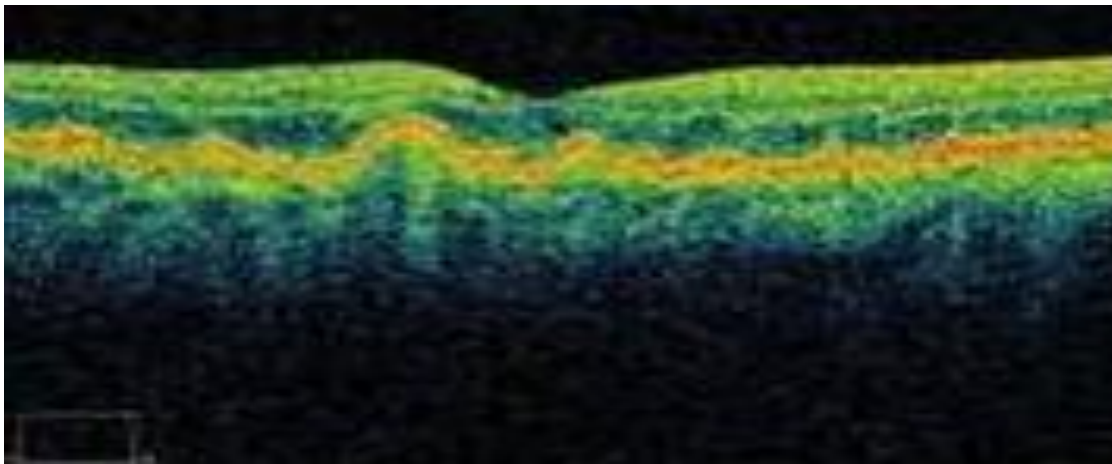


Фиг. 15. ОСТ характеристики на твърдите друзи

Проследяването на пациентите с твърди друзи показва една стабилност на състоянието и значително по-малка честота на прогресия в сравнение с тези, при които се наблюдават и останалите видове.

При над 50% от изследваните пациенти със суха форма на МДСВ и начални изменения бяха налице меки друзи или самостоятелно, или в комбинация с твърди друзи. Макар те да могат да се подозират още на флуорографс-

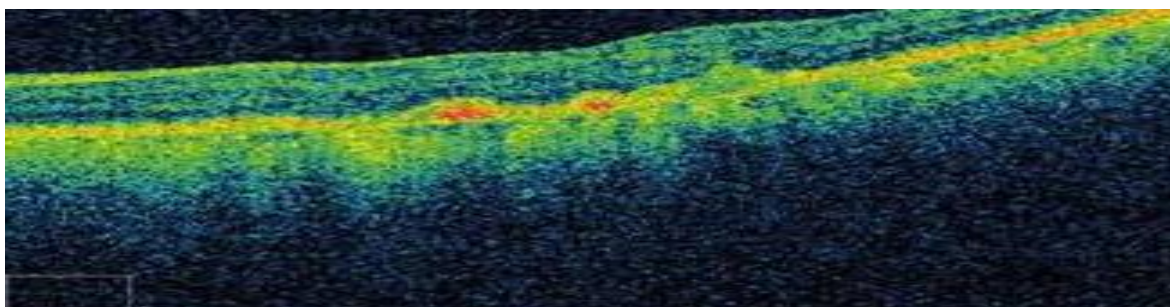
ките плаки, където още от ранните времена се проявяват като хиперфлуоресцентни петна с нарастващ интензитет в късните фази, истинското доказване на меките друзи се установява на ОСТ диаграмите. Обикновено те се визуализират като големи по площ – над 200 μ , ондулиращи линии, често преминаващи от една в друга, придаващи цялостна вълнистост на линията РПЕ/хориоидея. В доста голяма част от случаите налице беше и отлепване на РПЕ – 15%, както и накъсване целостта на линията на РПЕ. Именно тези два фактора – *отлепването на РПЕ и наличието на нарушена цялост на линията РПЕ/брухова мембрана* са утежняващи рискови фактори за прогресия на сухата форма на МДСВ (фиг. 16).



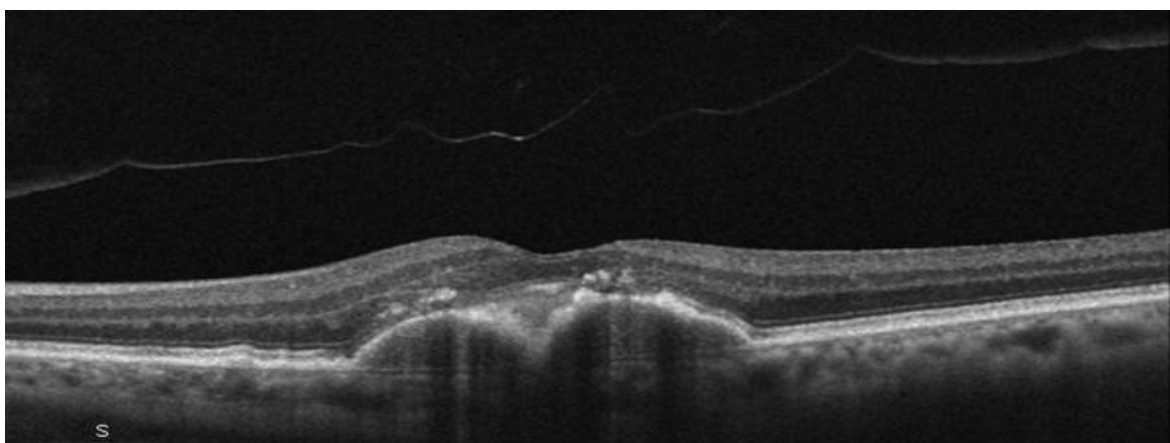
Фиг. 16. ОСТ характеристики на меките друзи – много типична е вълнистостта на линията на РПЕ и хориоидея – все едно друзите преминават една в друга, на места тази линия се прекъсва

Резултатите от нашите изследвания показаха, че с най-голям риск от прогресия в над 65% от случаите е наличието на нодуларни друзи. По своята същност те представляват меки друзи с по-големи размери от обичайните – над 350 μ , които се характеризират с повишена от обичайното хиперрефлексивност. Това най-вероятно се дължи на отлагането на хиалин или калциеви соли в тези структури. При всички нодуларни друзи има увреждане на целостта на бруховата мембрана и накъсване на линията на РПЕ, което е и причината за високия риск от развитие на неоваскуларна мембрана при тези пациенти.

До втората година от проследяването неоваскуларна мембрана се разви при 65% от наблюдаваните от нас пациенти (фиг. 17 и 18).



Фиг. 17. Нодуларни друзи, увреждащи структурата на слоя РПЕ, хориоидеята и брукховата мембрана, високорисков клиничен белег за прогресия на МДСВ



Фиг. 18. OCT изображение на същия пациент след 1 година от проследяването, налице е и друзевидно отлепване на РПЕ, с разкъсване на целостта на слоя и начално оформяне на неосъдове

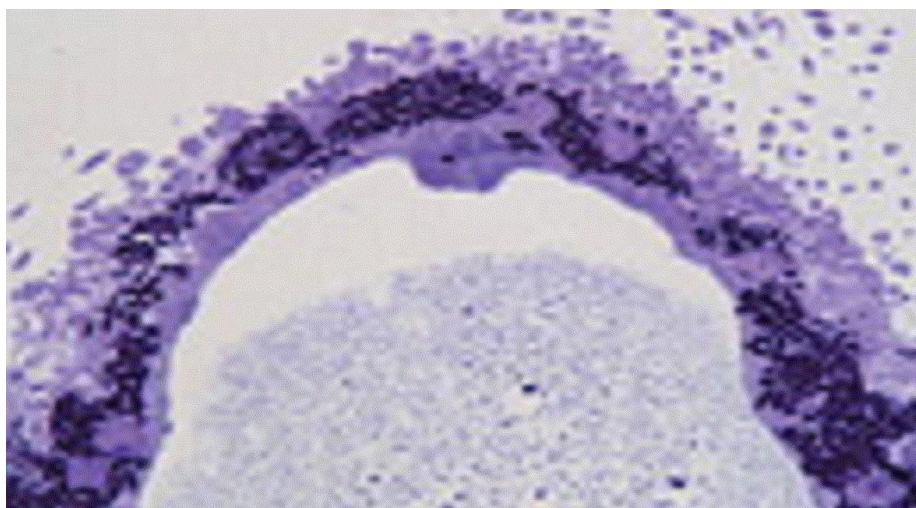
Именно наличието на нодуларни друзи се оказва според нашите изследвания един от най-важните рискови фактори за прогресия на заболяването.

Хистологичните препарати на трупен материал, взет от Катедра по анатомия, хистология и ембринология, МУ – София, на пациенти със суха форма на МДСВ – 2 очи, показва следните резултати:

На препаратите по Нилсън се виждаха добре структурите на изследваните друзи. Най-общо те се състояха от централно ядро с размери до 20 μ и периферна част на друзата. Обикновено ядрото на твърдите друзи или тези от периферната част на ретината беше изградено главно от холестерол и

липиди, като не се наблюдаваха нарушения в покривната обвивка на твърдата друза. Цялата структура изглеждаше хомогенна на хистохимичните препарати.

За разлика от твърдите друзи меките, разположени в централните зони на макулата, имаха по-различна и хетерогенна структура. Ядрото беше хиподенсно и освен липиден компонент съдържаше и голямо количество протеини, които са отговорни за имуногенния ефект на тези друзи. Периферната обвивка е по-тънка, често изградена от амилоидни вещества, но понякога и елементи на междуклетъчния матрикс или малки повърхностноклетъчни протеини. При нашите проучвания се установи повишено количество на витронектин и протеоглики по повърхността на меките друзи. Морфологичните разлики в структурата на твърдите и меките друзи, които ние наблюдаваме на хистохимичните препарати, са в потвърждение на разликата в еволюцията на различните видове друзи и възможността от по-нататъшна прогресия на състоянието при меките друзи, които като цяло са с повишено белтъчно съдържимо и повишен потенциал за възпалителни и имуногенни реакции.



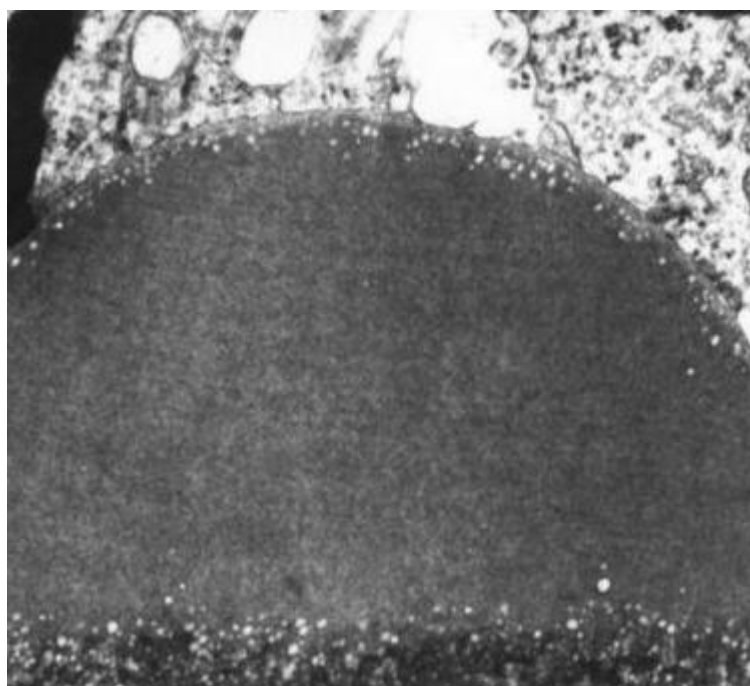
Фиг. 19. Хистохимичен препарат на мека друза, обработена по метода с алцианово синьо

Вижда се ясно хиподенсното ядро, изградено от нехомогенни частици – холестерол, липиди и протеини, и по-ясно очертаната обвивка от амилоид, повърхностно клетъчни протеини и елементи на междуклетъчния матрикс.

Направи ни впечатление, че и при меките друзи, подобно на твърдите не се наблюдаваше нарушаване целостта на повърхностната обвивка и инфилтриране към РПЕ. Най-вероятно това се случва при сливане на няколко друзи една с друга или при отлепване на РПЕ.

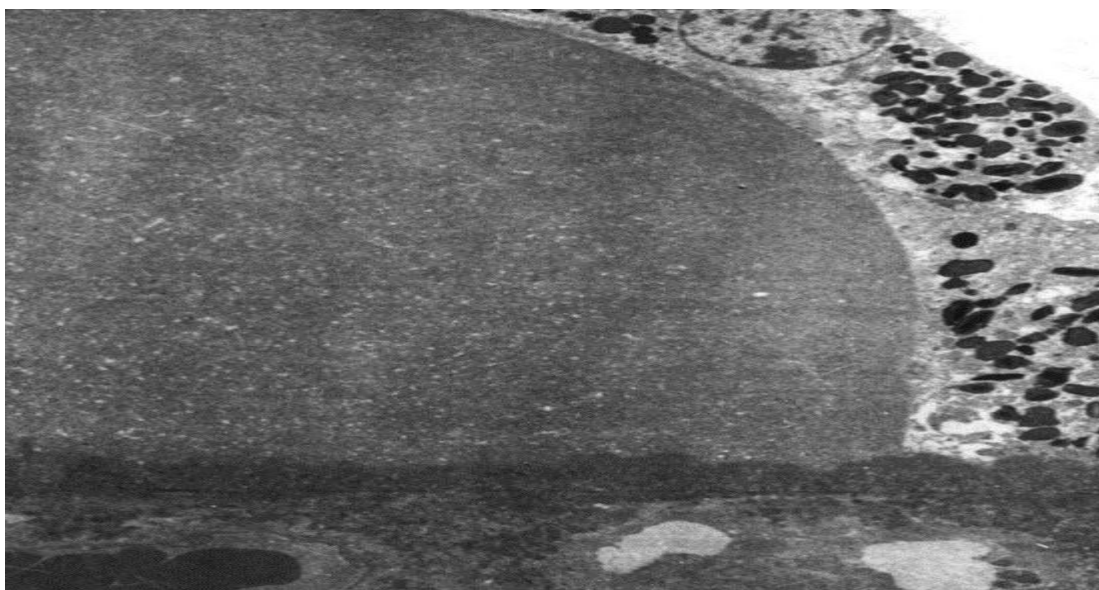
Друга съществена разлика, която наблюдавахме при меките друзи, е наличието на мембранозни тела и капковидни хиалинни отлагания във вътрешния колагенен слой на бруховата мембрана. Наличието на хиалинизирани капчици в бруховата мембрана в основата на друзите е белег, който говори за прогресия.

Смята се, че хиалиновите капчици стимулират отлагането на нов хиалин в структурата на мембраната, стига се до разрушаването ѝ с последващо нарастване на размера на друзите и последващата атрофия. В някои от твърдите друзи не се наблюдаваха подобни отлагания. Тези особености се наблюдават най-ясно на електронномикроскопските снимки.



Фиг. 20. Електроннограма на структурата на мека друза – характерни са хиалиновите отлагания по повърхността и във вътрешния колагенен слой на бруховата мембрана – белег за прогресия

Хистохимичната характеристика на нодуларната друза наподобяваше тази на меките друзи. Особеностите на този вид друзи са по-плътното ядро, богато на аморфни субстанции, калциеви йони и хиалин. Нодуларните друзи се характеризират с повишено количество на протеини както в ядрото, така и периферно, което определя голямата имуногенност на друзата. Налице беше тенденция тези образувания да инфилтрират брукховата мембрана и да променят нейната анатомична структура.

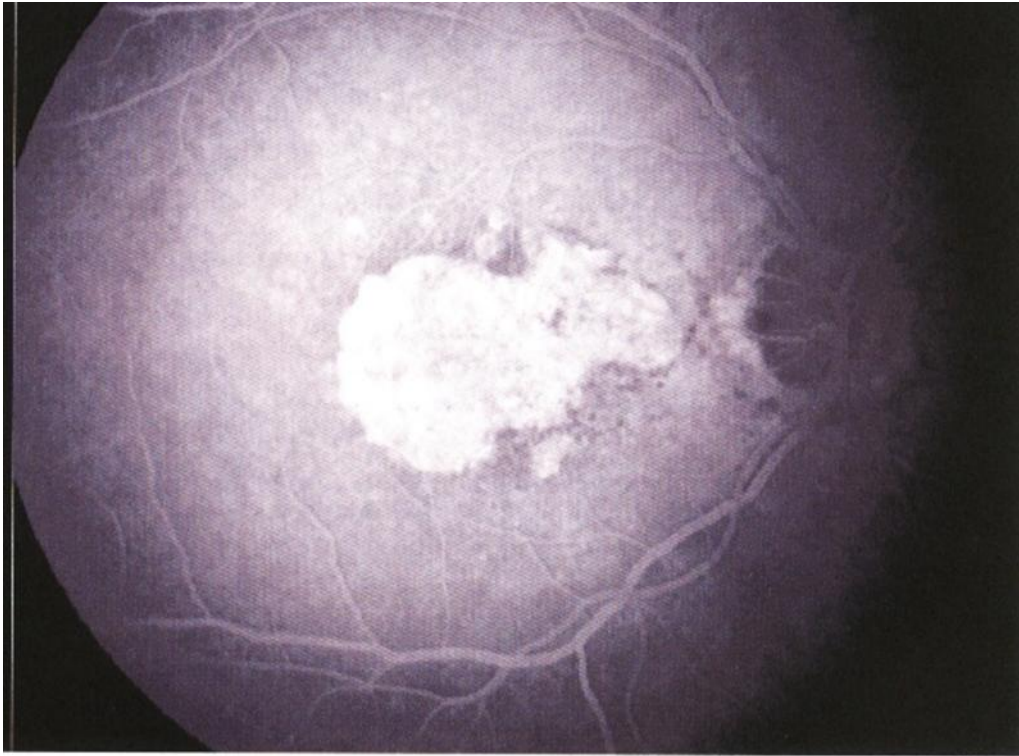


Фиг. 21. Хиалинизирана нодуларна друза, нарушаваща структурата на брукховата мембрана, с хомогенно хиалиново ядро

Резултати при суха форма на МДСВ – рискови фактори при суха форма на МДСВ и географска атрофия

При пациентите с напреднала суха форма на МДСВ най-често наблюдавахме зона на географска атрофия, резултат от атрофия на РПЕ, фоторецепторните клетки и брукховата мембрана в увредената зона.

На флуоресцеин-ангиографските плаки тези зони се изобразяваха като лезии с ясни очертания и изразена хиперфлуоресценция поради загубата на екраниращия ефект на РПЕ (фиг. 22).

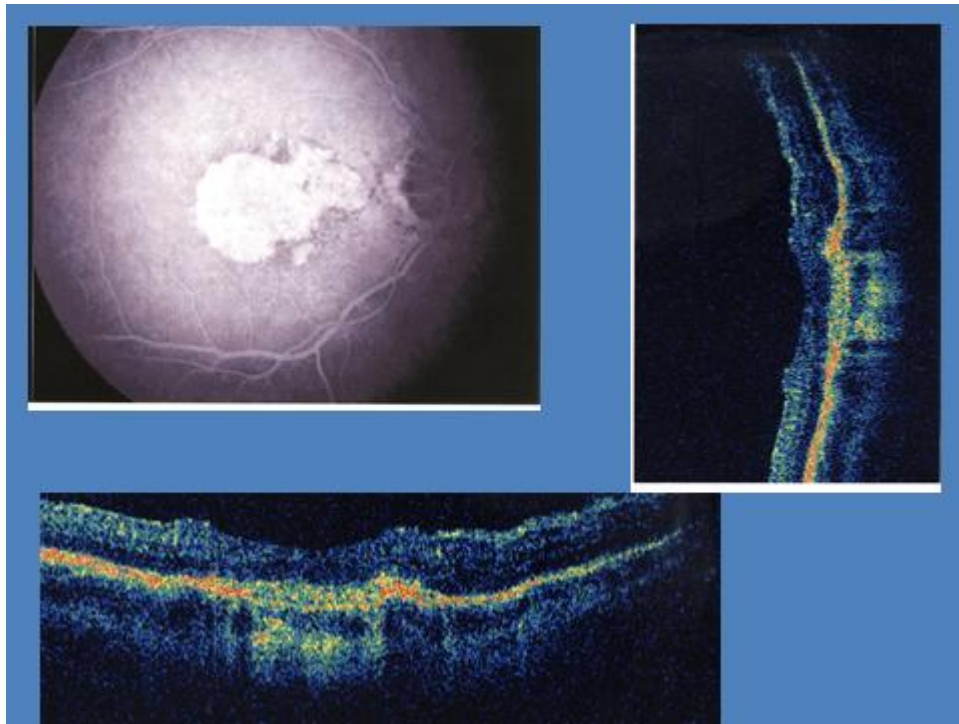


Фиг. 22. Флуоресцеин-ангиографско изображение на географска атрофия на макулата при напреднала суха форма на заболяването

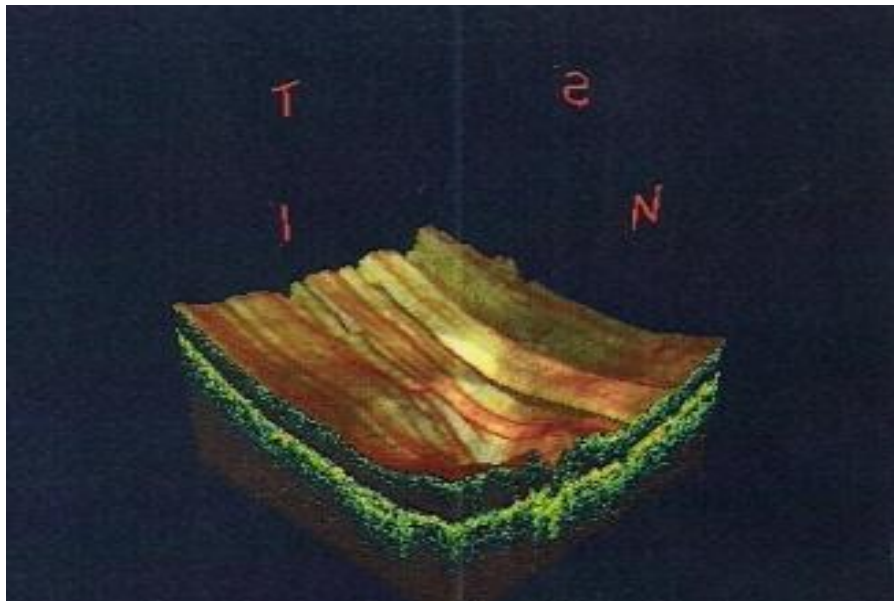
Чрез ОСТ изследването беше възможно да се преценят основните характеристики на лезията, големина, дълбочина, унищожаване на фоторецепторните клетки и брукховата мембрана. В много случаи се наблюдаваше унищожаване на РПЕ почти напълно заедно с фоторецепторните клетки. В тези случаи имахме и унищожаване на линията на РПЕ/хориоидея и една допълнителна сянка на ОСТ изображението, поради свободното преминаване на светлинния сноп през унищожените и липсващи ретинни слоеве (фиг. 23).

В зависимост от дълбочината на атрофичните промени, лезите, които наблюдавахме, разграничихме:

- **начална атрофия – все още е запазена целостта на фоторецепторните клетки**
- **напреднала атрофия, при която всички слоеве в засегнатата зона са напълно унищожени.**

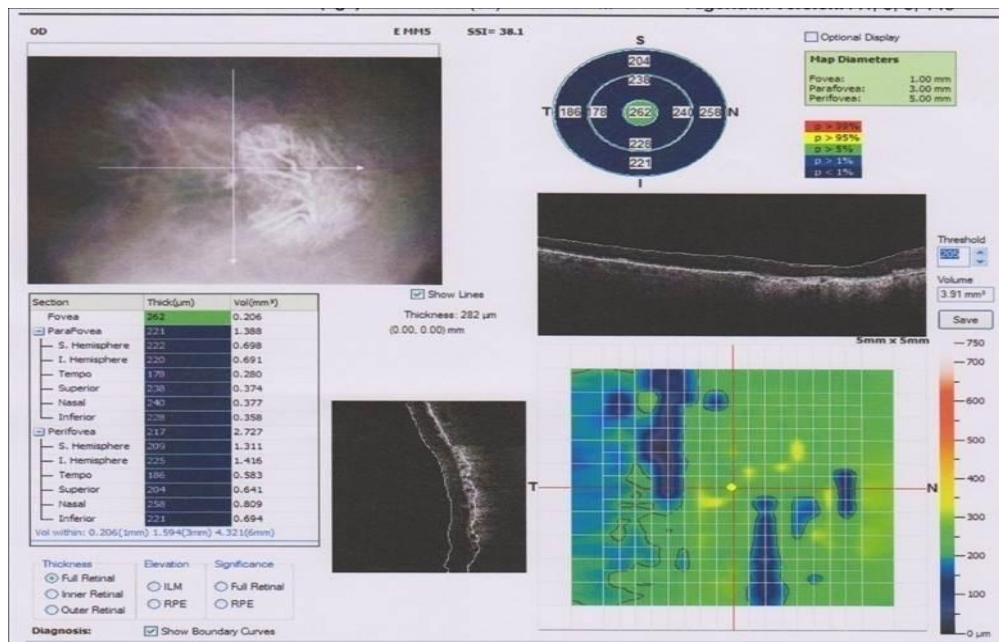


Фиг. 23. OCT изображение на географска атрофия – налице е пълно унищожаване на РПЕ, фоторецепторните клетки и брукховата мембрана в изследваната зона



Фиг. 24. Триизмерно изображение на атрофичната зона – повърхността изглежда като вдлъбната, поради унищожаването на РПЕ клетки и изтъняването на ретината

С помощта на OCT програмите за количествен анализ бяхме в състояние да проследим прогресията на атрофичните лезии във времето.

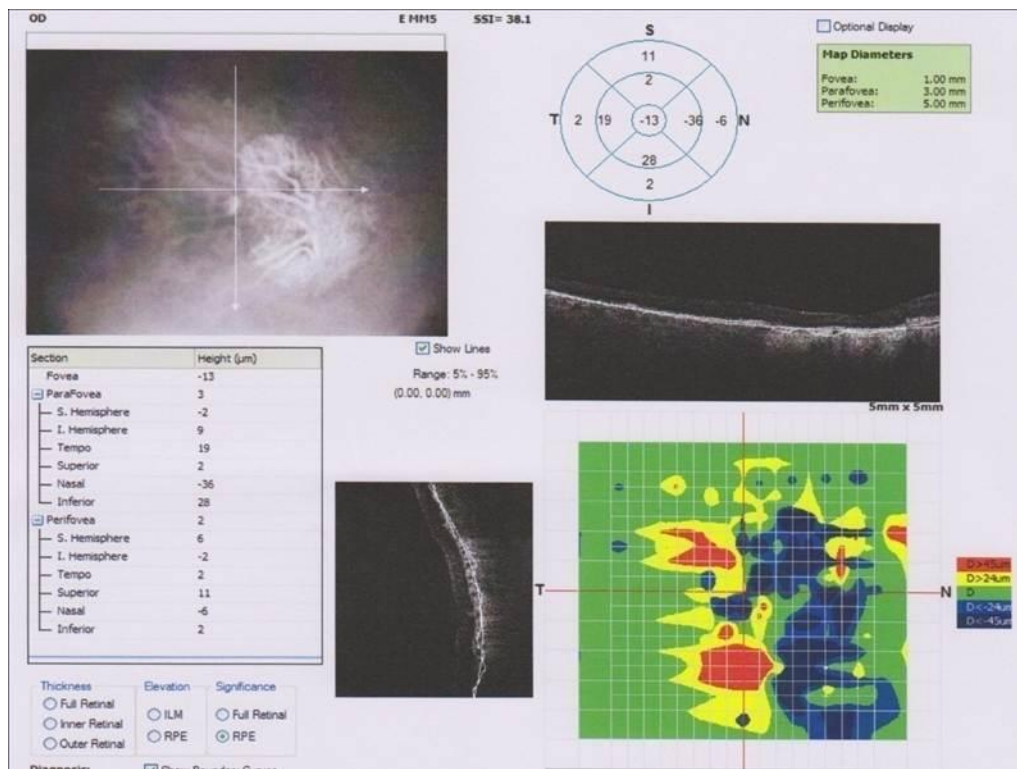


Фиг. 25. В Карта за количествен анализ, чрез която се измерва големината на атрофичната лезия и се показва нейната дълбочина в микрони. При повторното посещение на пациента се сравнява с предишния резултат и се отчита прогресията на състоянието

Чрез софтуерната програма беше възможно да се диагностицират точно зони с намалена дебелина на разглежданата лезия, тоест участъците, в които атрофията прогресира и преминава в тотална. Те се изобразяваха на ОСТ диаграмите като червени участъци на прекомерно изтъняване (фиг. 26).

Флуоресцеиновата ангиография и ОСТ диагностиката ни дават много точна и морфологично детайлна информация за състоянието на атрофичната лезия при МДСВ, но те са методи за диагностика на състоянието, които не дават информация за риска от прогресия.

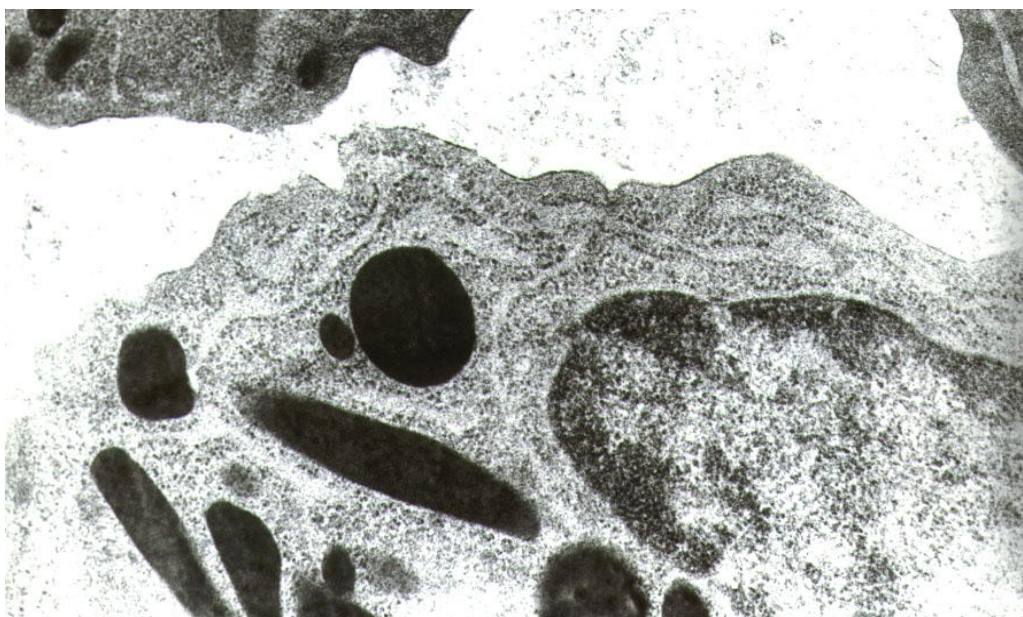
Прогнозата за последваща прогресия или липса на такава при атрофичните лезии получихме от проучванията си върху автофлуоресцентните характеристики на изследваните зони.



Фиг. 26. Програма за количествен OCT анализ, чрез която се проследява дълбочината на атрофията във времето. Участъците, оцветени в червено, са местата на задълбочаване на атрофичните лезии

Фундусовата автофлуоресценция е нов неинвазивен метод за диагностика и визуализация на очното дъно, използваща флуоресцентните свойства на липофусцина на ниво ретинен пигментен епител. Нормалната анатомична характеристика на РПЕ сме наблюдавали на електронномикроскопски препарати от епи- и субретинни мембрани и клетките имат следната характеристика:

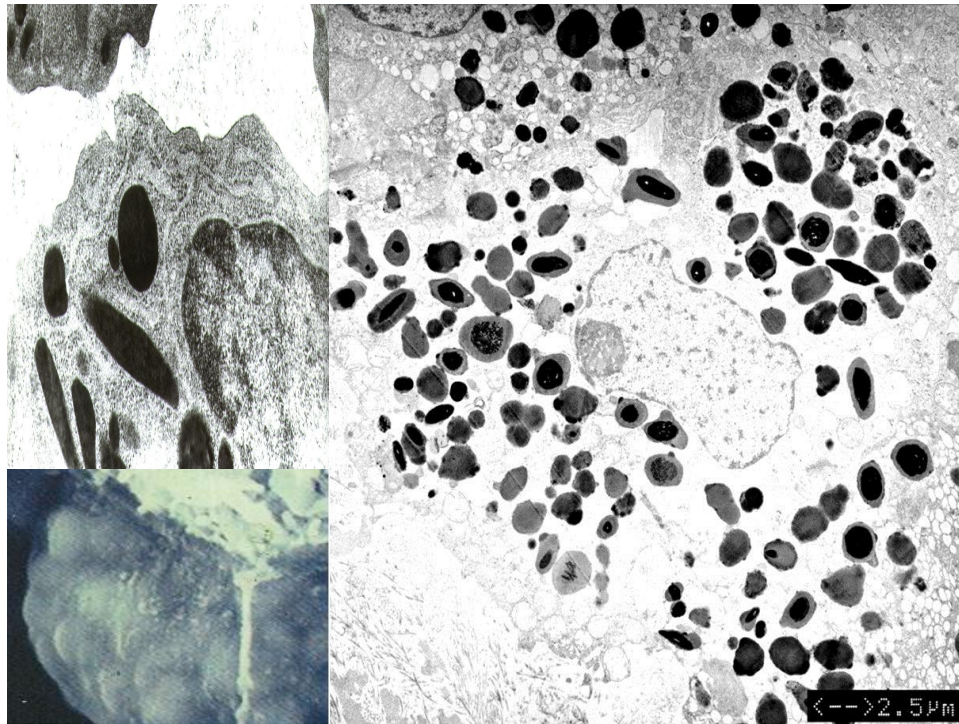
Те представляват полигонални клетки с големи ексцентрично разположени ядра, цитоплазма, богата на меланин, и множество митохондрии. С течение на времето обаче в клетката настъпват дегенеративни промени, които водят до натрупване на пигмента на „износването“ липофусцин в цитоплазмата на клетките. В случаите на МДСВ този пигмент е в изключително големи размери и изпълва цялата клетъчна цитоплазма, избутвайки всички останали клетъчни органели и клетката на практика престава да функционира.



Фиг. 27. Електроннограма на РПЕ от субретинни мембрани при МДСВ

Ако се направи сканираща електронна микроскопия клетката, прилича на „грозд“, изпълнен с липофусциновите гранули (фиг. 28).

Натрупването на липофусцин в клетките е белег за тяхната последваща дегенерация. Откриването на такива участъци от клетки с натрупан в тях липофусцин е възможно с помощта на автофлуоресцентната методика, която дава възможност тези зони да се обективизират като хиперавтофлуоресцентни на флуорографските плаки.



Фиг. 28. Електроннограма, показваща натрупването на липофусцин в РПЕ клетка и скенограма с формата на „грозд“ при засилена дегенерация на РПЕ клетки

Особено ценно е това за зоната на границата между атрофия и нормална ретина, тъй като се явява прогностичен фактор дали лезията ще се разширява, или не.

Всички наши 134 пациенти със суха форма на МДСВ бяха изследвани задължително с флуоресцеинова автофлуоресценция (ФАФ). В зависимост това каква беше автофлуоресценцията в граничната зона атрофия-нормална ретина при изследваните 134 пациенти наблюдавахме следните групи:

- Без патологична автофлуоресценция в граничната зона бяха 52.
- С фокална автофлуоресценция – 24
- С лентовиден (петнист) тип АФ – 14
- С дифузна АФ в граничната зона и около нея – 44.

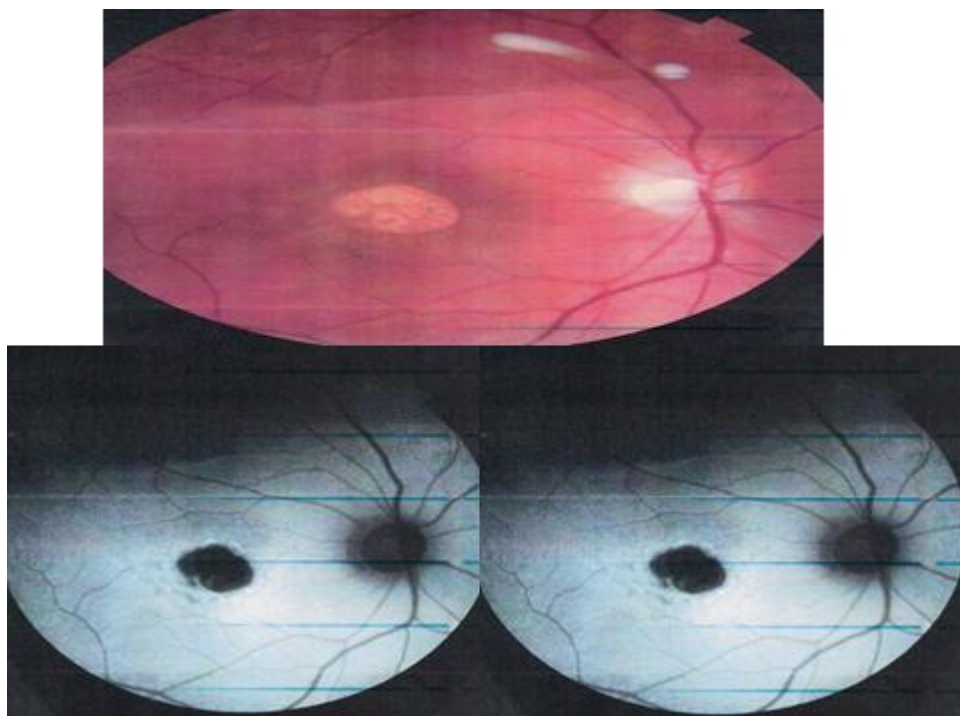
Статистически това разпределение показва, че най чести са случаите, в които няма АФ или тя е от дифузен тип.

Най-вероятно при първите пациенти заболяването е стационарно и съседните клетки на атрофичната зона не натрупват липофусцин, докато при те-

зи с дифузна автофлуоресценция процесите на дегенерация тепърва засягат и съседната на атрофичната зона на ретината.

От изключително значение е проследяването на размера на лезията във времето при пациентите с различен тип АФ в граничната зона.

При проследените от нас пациенти без патологична АФ в граничната зона – 52 души (39%), при 48 не се наблюдава промяна в големината на лезията за времето на проследяване 2 години (фиг. 29, 30, 31).

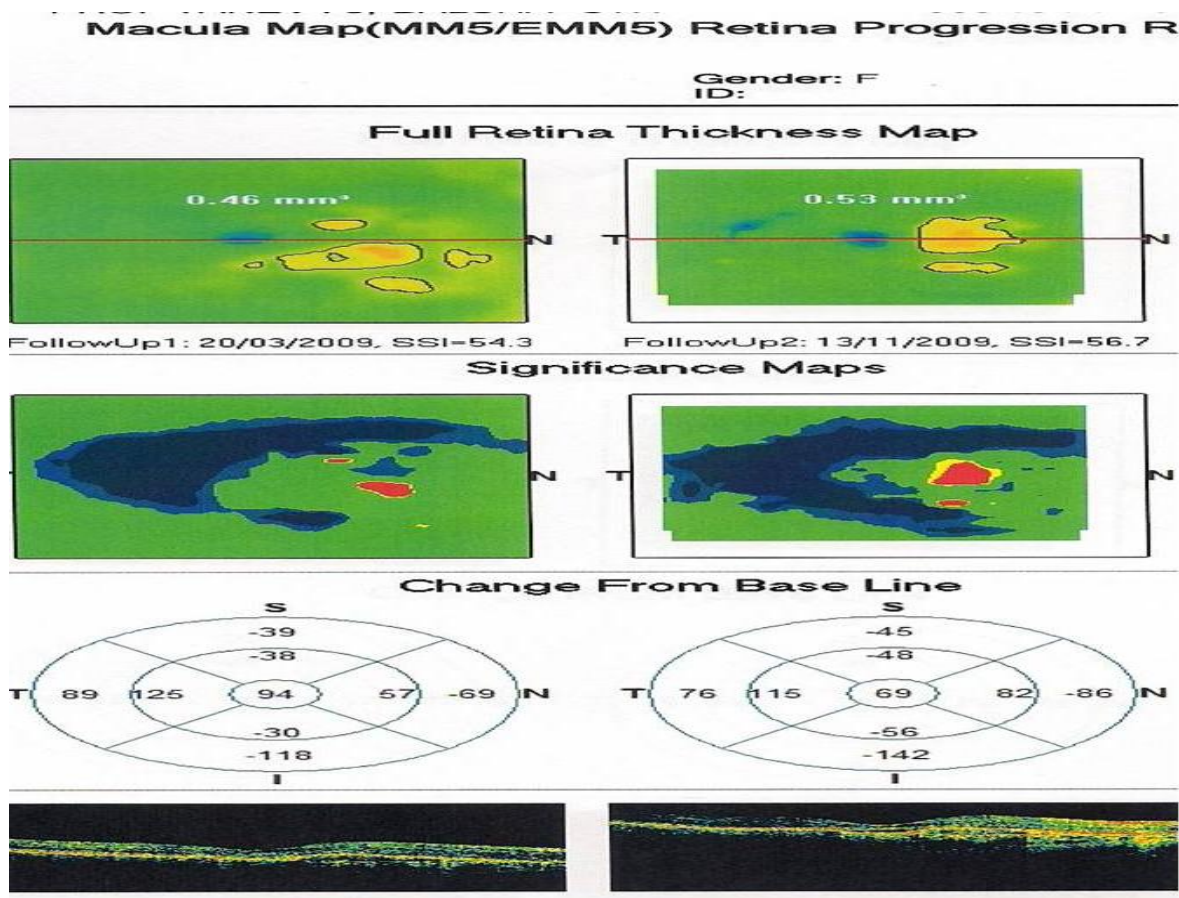


Фиг. 29А. Пациент със суха форма на МДСВ и географска атрофия. На ФАФ липсва АФ в граничната зона. Лезията запазва големината си същата и на 3-та година от проследяването

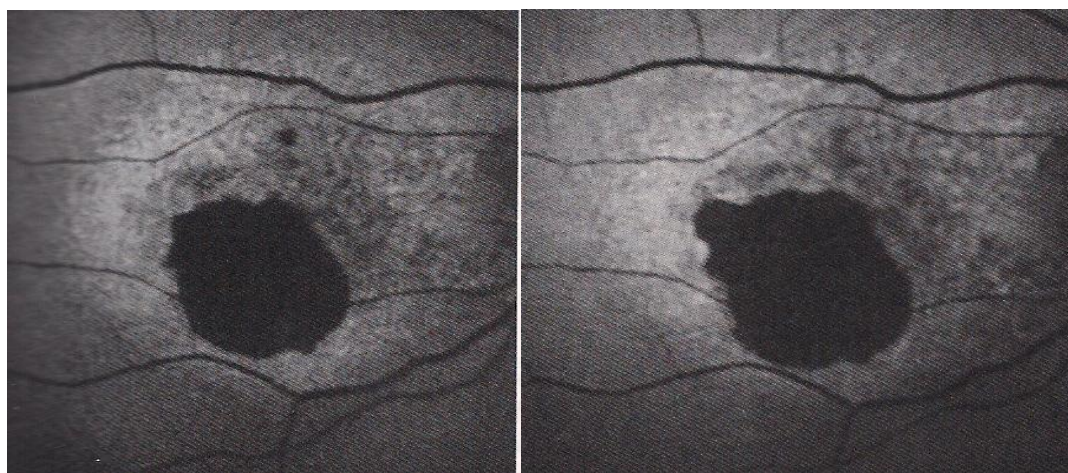
При измерването на големината на лезията с помощта на програмата за анализ на ОСТ се оказва, че за 6 месеца размерът на лезията е променен от 0.46 mm^2 на 0.56 mm^2 , което е приблизително едно и също. Посочената големина се запазва същата във времето на проследяването 2 години.

Подобни бяха резултатите и при останалите пациенти с липса на АФ в граничната зона. При 4 от случаите се наблюдава съвсем леко увеличаване на лезията в срок от 2 години от 4.88 mm^2 на 5.44 mm^2 , което не може да се приеме за статистически сигнификантно.

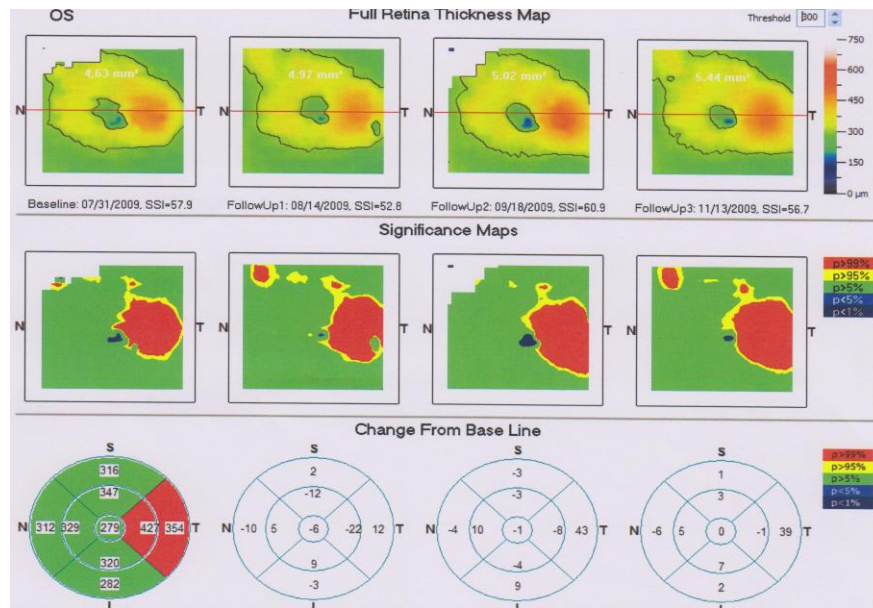
Подобни резултати наблюдавахме и при останалите пациенти с атрофична лезия и липсваща автофлуоресценция в граничната зона.



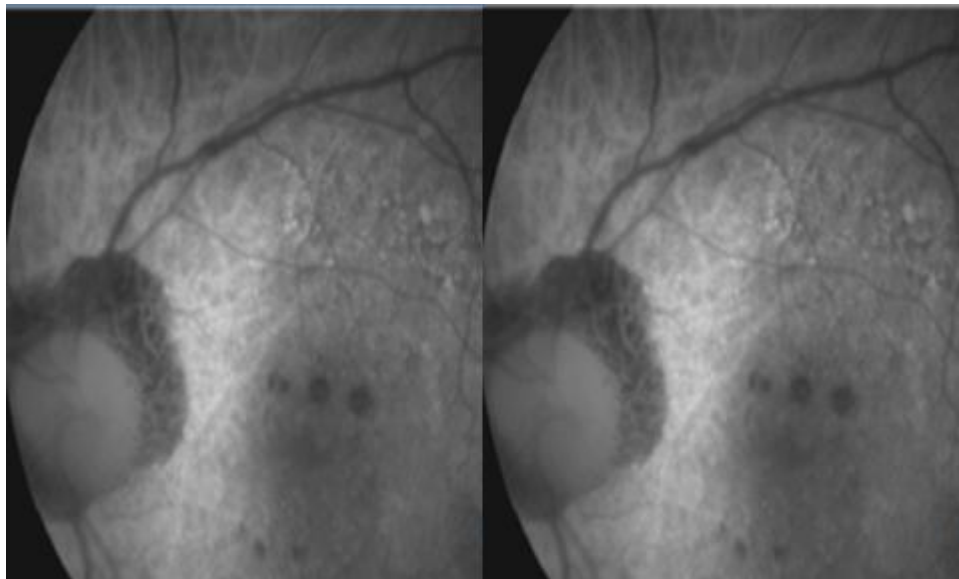
Фиг. 29В. Количествен анализ на прогресията на изследваната лезия, вижда се, че размерът на атрофията се запазва във времето, без да прогресира



Фиг. 30А. Пациент с географска атрофия в началото и на 2-рата година след първоначалната диагноза



Фиг. 30В. OCT проследяване на лезията в продължение на 2 години променя размера си от 4.88 на 5.44 mm²

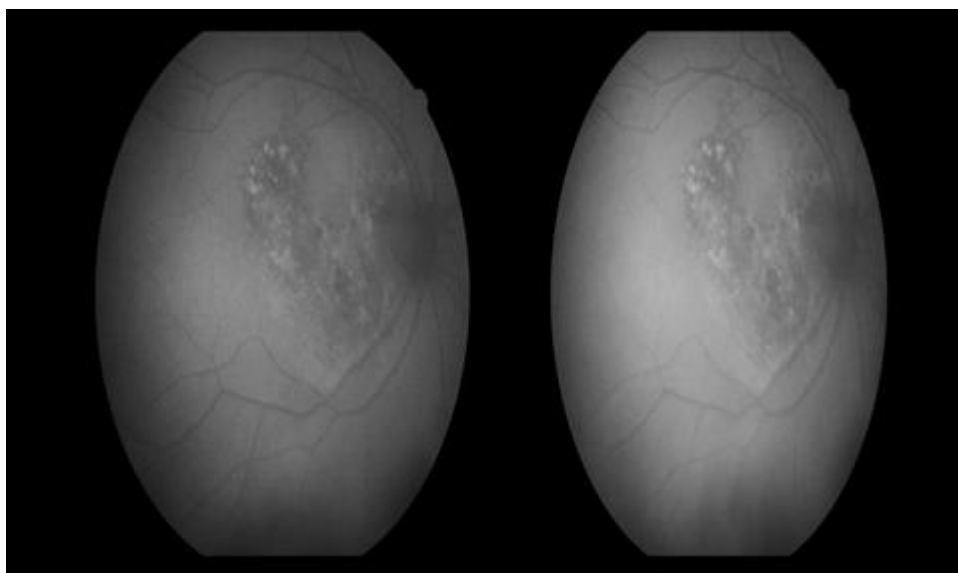


Фиг. 31. ФАФ снимки на пациент с начални атрофични огнища и без автофлуоресценция в граничната зона. Не се наблюдава прогресия на състоянието за 2 години

При 24 от изследваните пациенти (18%) наблюдавахме фокална автофлуоресценция – само в определена зона се проявяваше хиперавтофлуоресценция. Проследявайки тези пациенти за срок от 2 години установихме бавно нарастване на големината на атрофичната зона.

Измерването на големината на лезията с помощта на ОСТ програмите за количествен анализ показва нарастване на големината на атрофичната зона средно с 2-3 mm².

Пациентка на 71 години с развита ГА на дясно око (ДО) и налична зрителна острота (ЗО) на същото око 0.1, показва на ФАФ наличието на фокална АФ по ръба на лезията. Имахме светене в няколко периферни точки на самия край на атрофията и няколко около нея. На 2-рата година от проследяването се наблюдава леко увеличаване на размера на атрофичната зона средно от 3.56 mm на 4.43 mm (фиг. 32). Налице е бавен ход на прогресия на заболяването.



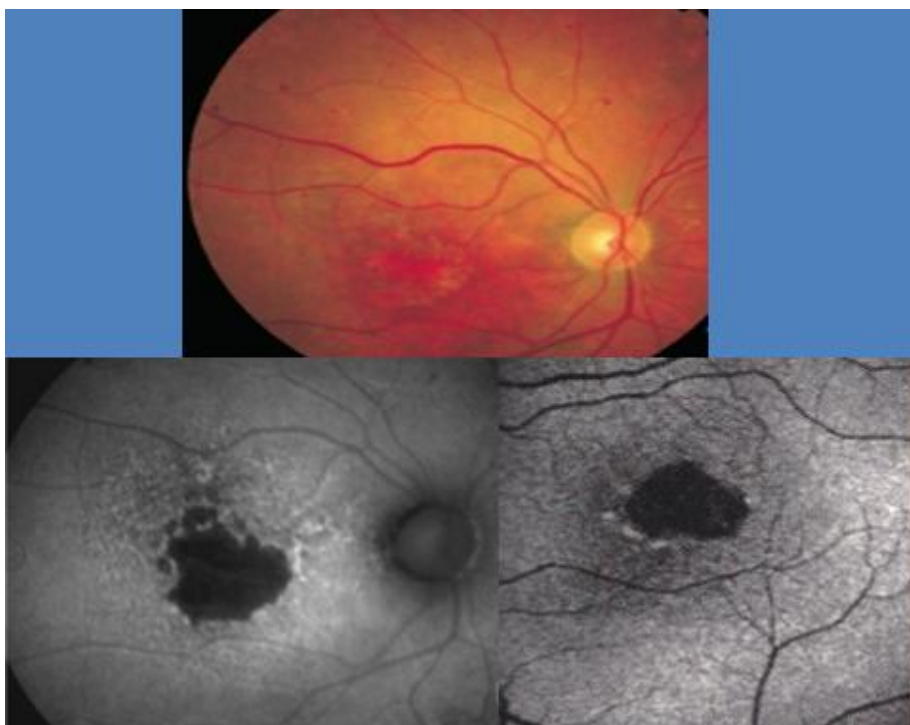
Фиг. 32. Географска атрофия с фокална АФ в граничната зона.
Незначително нарастване на големината на лезията за период от 2 години

Пациентите с АФ само по ръба или лентовиден тип бяха сравнително малка група – 14 от общата извадка (10%) и при тях светенето се наблюдаваше в цялата гранична зона атрофична/нормална ретина.

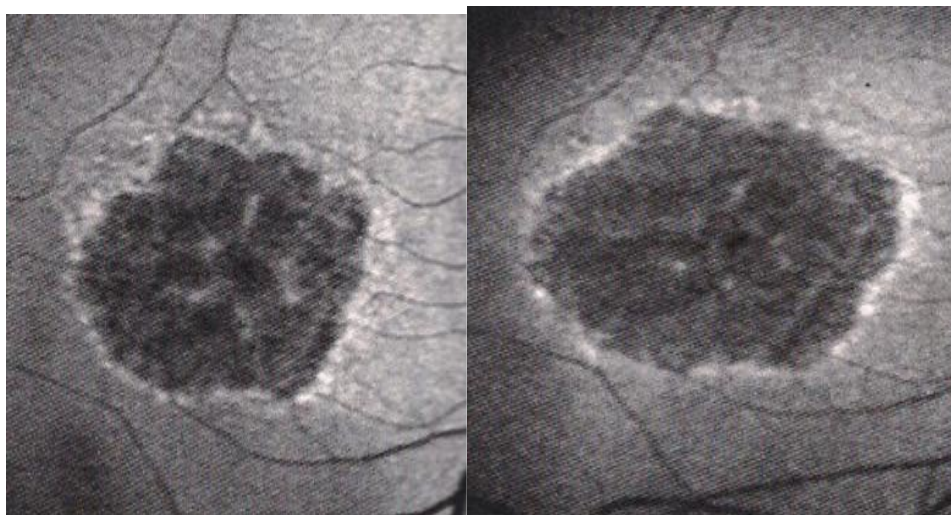
Това, което наблюдавахме при тези пациенти, е увеличаването на размера на атрофията във времето. В общия случай лезията увеличаваше средно с 1/3 своите размери до края на 2-рата година.

При всички пациенти с лентовиден тип АФ в граничната зона се наблюдава прогресия и увеличаване размера на лезията на 2-рата година. Статисти-

ческата обработка на данните показва прогресия средно с $+ 2-3 \text{ mm}^2$ за разглеждания период, което е значително и статистически значимо.

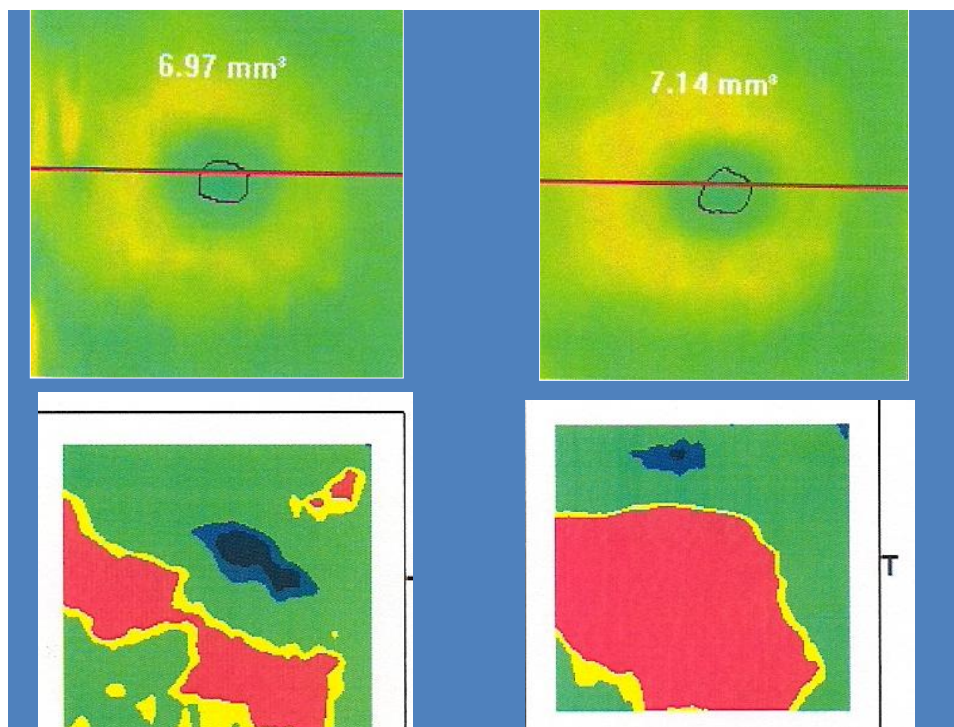


Фиг. 33. Пациент с фокален тип АФ в граничната зона, който показва прогресия на лезията за период от 2 години



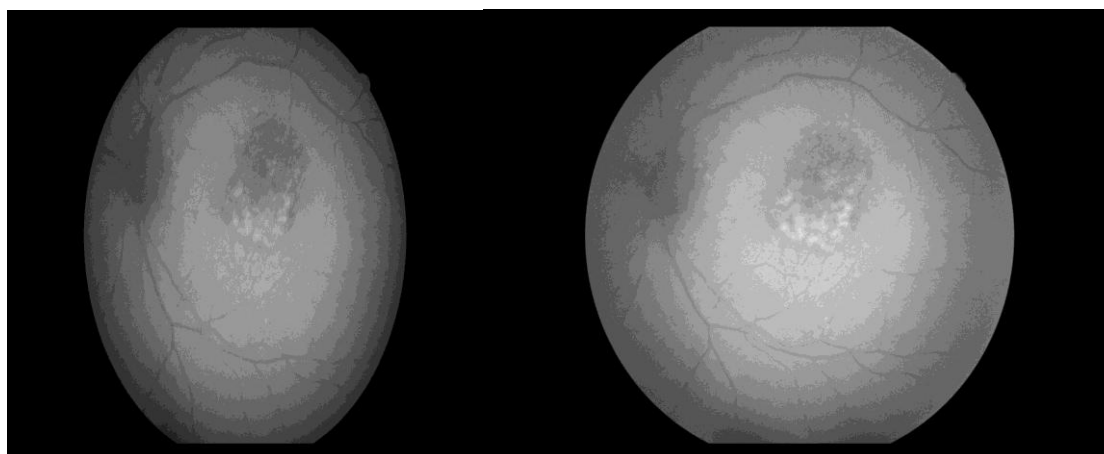
Фиг. 34. Географска атрофия с лентовиден тип АФ по ръба в началото и на 2-рата година от проследяването

ОСТ измерванията на големината на лезиите показаха че средно за 2-годишния период този вид лезия увеличава размера си средно с $2-3 \text{ mm}^2$.



Фиг. 35. OCT количествен анализ на прогресия на големината на изследваната лезия.
Размерът ѝ се е увеличил от 6.97 на 7.14 mm³

Такова увеличение се наблюдава и при останалите пациенти от тази група.



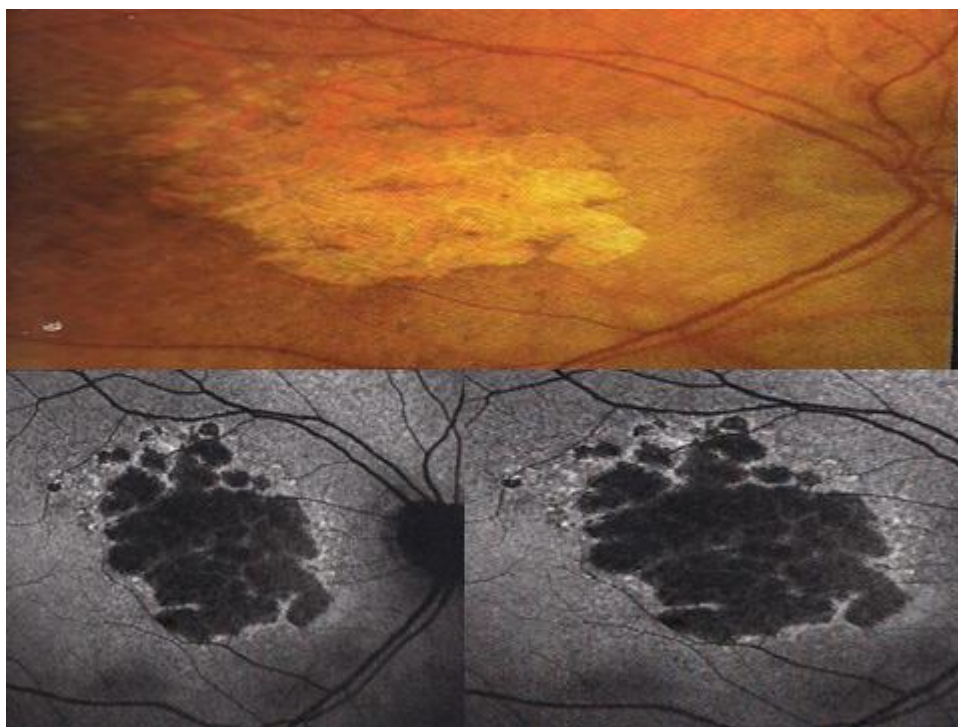
Фиг. 36. Нарастване на лезията при пациент с МДСВ атрофична форма и лентовиден тип АФ в граничната зона

Най-интересна от всички проследявани групи се оказва тази с дифузен тип АФ. При нея се наблюдаваше засилена АФ не само в граничната зона, но

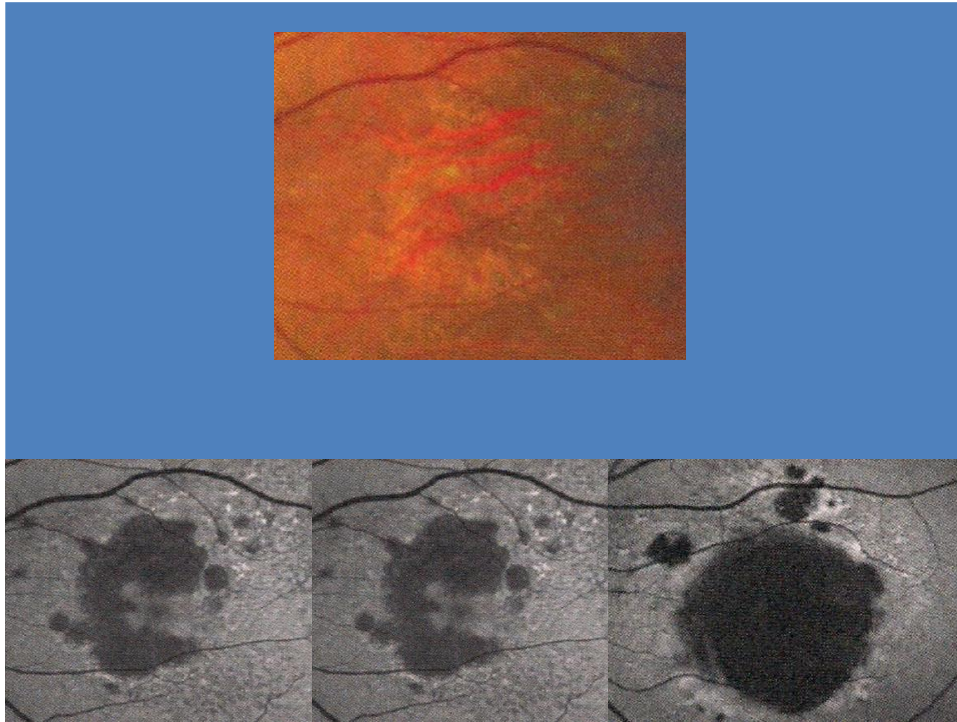
също така и в околната тъкан – дифузно светене. Това наблюдавахме при 44 от изследваните пациенти – 33% от цялата извадка, което е доста често срещан вариант. Този тип АФ е показан на фиг. 38.

Увеличаването на размерите на атрофичната зона се диагностицира и измери с програмата за количествен анализ на ОСТ програмата – ЕММ6. Вижда се, че увеличението в посочения случай е почти двойно от 2.53 mm^2 на 4.09 mm^2 .

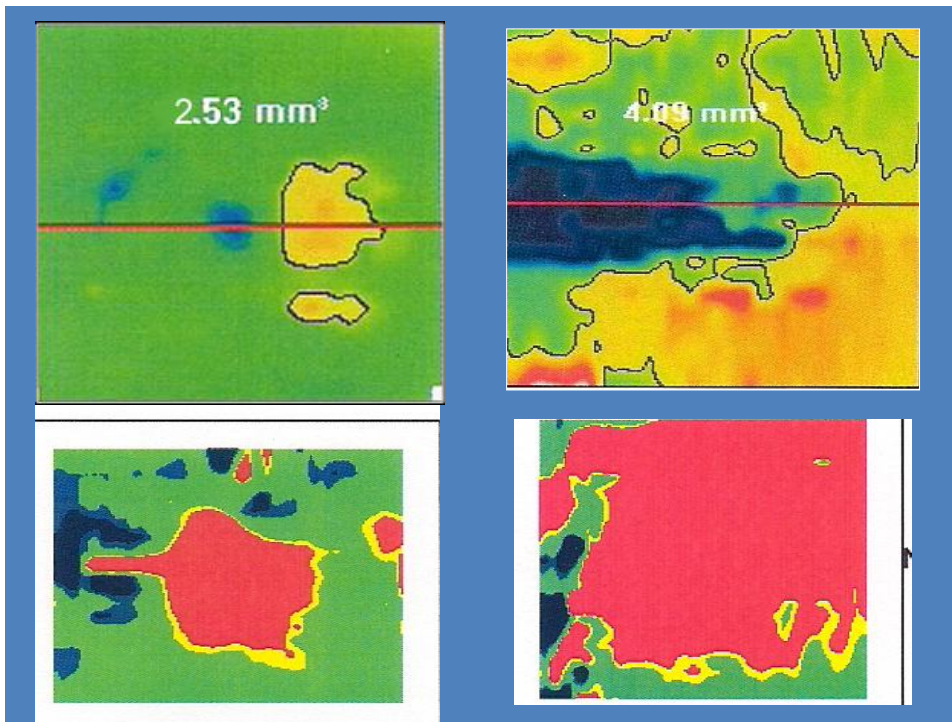
Тази тенденция за увеличаване на атрофията наблюдавахме и при останалите пациенти с дифузен тип АФ, което е добре илюстрирано в описаните примери. Вижда се, че обикновено през първите 6 месеца до 1 година се наблюдава най-голямо нарастване на атрофията, докато във втората година състоянието малко или повече се стационарира и скоростта на прогресия намалява.



Фиг. 37. Друг пример за нарастване на лезията при пациент с МДСВ атрофична форма и лентовиден тип АФ в граничната зона



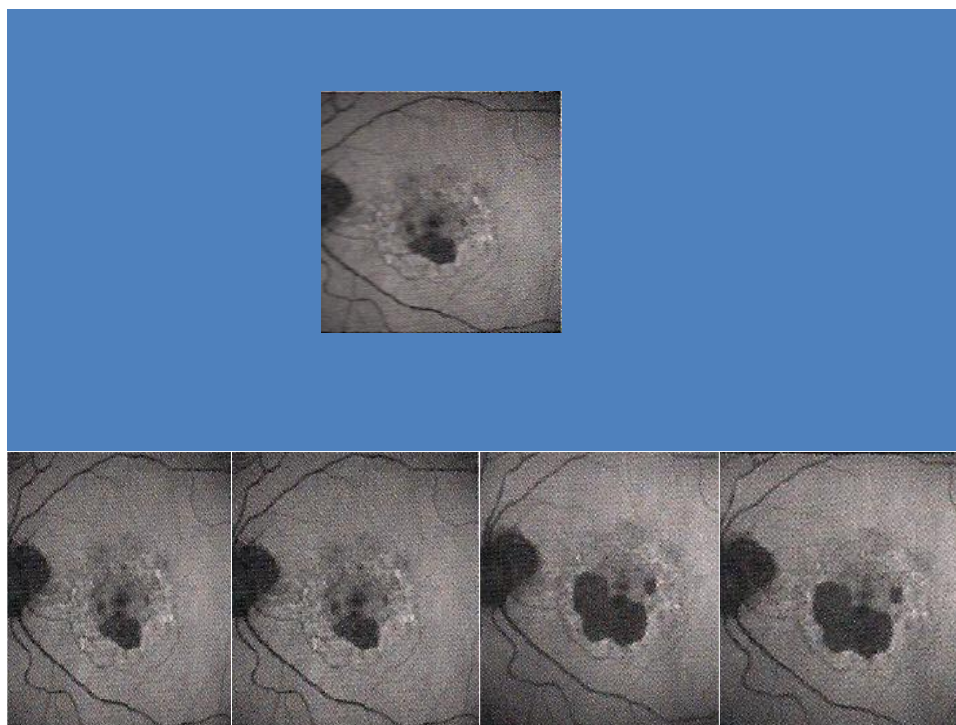
Фиг. 38. Пациентка с дифузен тип АФ в граничната зона в началото на заболяването и на 2-рата година от проследяването. Лезията значително е увеличила размерите си



Фиг. 39. На OCT карта за количествен анализ се наблюдава почти двойно увеличаване на размера на лезията за наблюдавания период

Въпреки това можем да кажем, че в тази група увеличаването на размера на лезията е най-голямо.

Тази прогресия довежда до влошаване на зрителната острота на наблюдаваните пациенти, която намалява почти с 2 реда. В голям брой от случаите зрителната острота от средно 0.3-0.4 намалява на 0.1. Това не се наблюдаваше в останалите случаи на суха форма на МДСВ, където АФ не беше от дифузен тип. Бързият ход на заболяването при тази група пациенти най-вероятно се дължи на дегенеративни промени в РПЕ в пограничната зона, поради което се наблюдава дифузно светене вследствие натрупан в клетките липофусцин.



Фиг. 40. *Случай със суха форма на МДСВ и атрофична лезия с дифузен тип АФ.
Размерите на лезията нарастват двойно в продължение на 2 години*

Статистическата обработка на данните показва, че при:

- географска атрофия без АФ в граничната зона промяната на размера на лезията е с 1 mm^2 за 2 години.
- географска атрофия с фокална АФ в граничната зона промяната в размера на лезията е с $2-3 \text{ mm}^2$ за 2 години.
- географска атрофия с лентовиден тип АФ в граничната зона промяната в размера на лезията е с $2-5 \text{ mm}^2$ за 2 години.

– географска атрофия с дифузен тип АФ в граничната зона промяната в размера на лезията е с 10 mm^2 за 2 години.



*Фиг. 41. Географска атрофия с дифузен тип АФ в граничната зона.
Налице е значително увеличаване на размера на лезията до 2-рата година*

Според хода на заболяването, и най-вече прогресирането или не на атрофичната зона, се установи, че пациентите със суха форма на МДСВ и географска атрофия могат да се разделят на няколко групи според скоростта на прогресията:

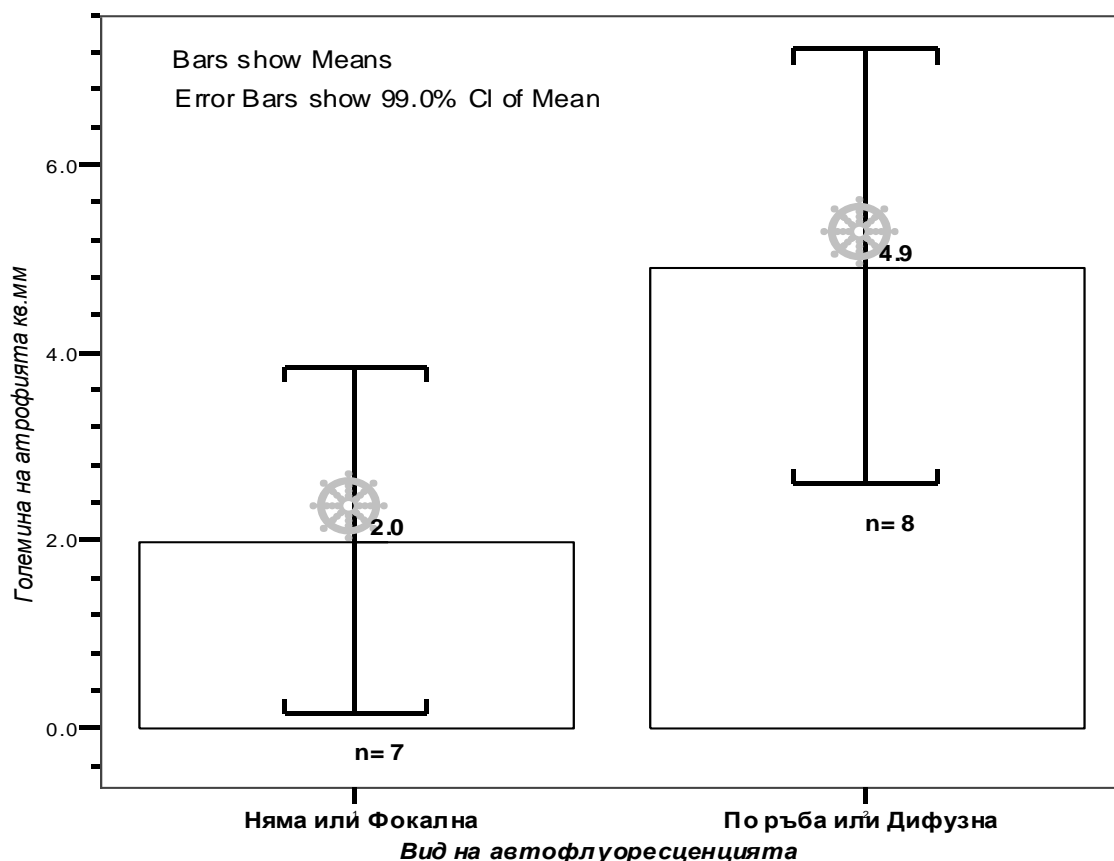
– Пациентите с бавен ход на прогресия са тези, при които атрофичната лезия почти не увеличава размерите си за две години. Това са пациенти без АФ в граничната зона и тези с фокален тип АФ. При тях промяната в размера на лезията е с не повече от 2 mm^3 и най-вероятно заболяването е стационарно.

– Пациентите с географска атрофия с умерен ход на прогресия са тези, при които лезията увеличава размера си, но бавно и никога не надмина повече

от 5 mm² при изследваните от нас пациенти. Това наблюдавахме при случаите с лентовиден тип АФ.

– Пациентите с географска атрофия с бърз ход на прогресия са тези, които показват дифузна АФ на автофлуоресцентните снимки. При тях лезията бързо увеличава размерите си – почти двойно в края на 2-рата година. Скоростта на прогресия е средно 10 mm² за 2 години. Прогресията при различните типове на АФ е най-добре представена на фиг. 42.

От статистическия анализ на данните става ясно, че с най-голям процент вероятност от прогресия са пациентите с дифузен тип АФ в граничната, докато с най-малък риск от развитие на заболяването са пациентите без наличието на АФ в граничната зона. Пациентите с линеен тип АФ показват умерен ход на прогресия.



Фиг. 42. Прогресия на различните АФ типове географска атрофия при пациенти с МДСВ. С най-голяма скорост на прогресия са лезиите с дифузен тип АФ.

Работният протокол, който изработихме при диагностиката на пациенти със суха форма на МДСВ, има следният вид:

РАБОТЕН ПРОТОКОЛ

При пациенти със суха форма на МДСВ

1. Зрителна острота:

VOD-

VOS-

2. Цветна снимка на очното дъно на двете очи – особености:

3. Автофлуоресценция на двете очи

– Без АФ в граничната зона.

– С фокална АФ в граничната зона.

– С лентовиден тип АФ в граничната зона.

– С дифузен тип АФ в граничната зона.

4. OCT изследване на двете очи.

Rtvue (Optovue)

Hd line, Cross line, EMM5.

3D OCT 2000 Topcon

H D line, 5 Cross line, 3 D Macula.

5. Високорискови характеристики – белег на прогресия:

– меки друзи над 350 μ или нодуларни друзи

– друзевидно отлепване на РПЕ

– лентовиден или дифузен тип АФ в граничната на атрофията зона.

Размер на атрофичната лезия в mm

Прогресия на атрофичната зона: Да/Не

Размер на прогресия на атрофичната зона в mm

Използването на посочения работен протокол в ежедневната офталмологична практика би подпомогнало точната и прецизна диагноза на състоянието. Избраните OCT програми дават възможност да се открият и локализируют атрофичните лезии (Cross line, 5 Cross line), като се сканира ретината както в хоризонтална, така и във вертикална равнина. Системите за количествен анализ (EMM5, 3 D Macula) дават възможност всеки път да се открива същото място в ретината, както и с точност до mm да се измери големината на изследваната зона. ФАФ за определяне на риска от прогресия на състоянието. Именно тези програми са с голяма диагностична стойност при определяне наличието или липса на прогресия и нейната скорост. Последното е от изключителна важност при определяне на прогнозата на състоянието и опасността от влошаване на зрението на пациентите.

Както се вижда от работния протокол, ФА при суха форма на МДСВ не е от основно значение и би могла да се пропусне в диагностиката в случаите, когато имаме достатъчно информация от АФ и OCT изследванията. Тя обаче е необходима във всички случаи, когато имаме съмнение за преход от суха към влажна форма на МДСВ. Предложеният работен протокол има практическа ориентираност, показва бързо и лесно наличието на рискови клинични критерии и цели да улесни офталмолозите специалисти в тяхната ежедневна практика и диагностика на пациентите с МДСВ.

4.2. Резултати от изследването на пациенти с влажна форма на МДСВ – рискови фактори за прогресия при влажна форма на заболяването

В настоящото проучване бяха включени 126 пациенти с влажна форма на МДСВ.

Отделно от тях бяха включени и 14 пациенти с атипични форми на МДСВ – ретинални ангоматозни пролиферации (РАП) и полипоидна хориоидална васкулопатия (ПХВ). Пациентите с РАП са 9, а тези с ПХВ 5. От групата на пациентите с влажна форма на МДСВ беше обособена отделна подг-

рупа, на пациенти с МДСВ и хемофтальм – 11 очи, при които се наложи извършването на ППВ, при която беше взиман материал – субретинна тъкан за електронномикроскопско и имунохистохимично изследване. Основните диагностични методи, които използвахме при пациентите с влажна форма на МДСВ, бяха ФА, ОСТ и по-рядко автофлуоресценция.

4.2.1. Флуоресцинова ангиография. ФА рискови фактори

Флуоресцеиновата ангиография и до днес се смята за златен стандарт при поставяне на диагнозата влажна форма на МДСВ и в някои европейски страни като Германия е задължително изискване за поставяне на тази диагноза.

При разглежданите от нас пациенти ФА ни позволи да намерим точната локализация и да определим наличието или липсата на неоваскуларна мембрана (CNV). В повечето случаи мембраните се характеризираха с ранно светене още от началните ФА фази, което се засилваше в късните времена. Много типично беше дифузията на багрило през късните фази на ангиографията, дължаща се на повишената пропускливост на стените на неосъдовете (фиг. 32). ФА дава възможност да разделим по вид, разположение и прогноза неоваскуларните мембрани на такива от класически и от окултен тип. Това разделяне е чисто флуоресцин-ангиографско и използва само белезите на ФА.

Според тази класификация и ФА белезите, влажната форма на МДСВ може да бъде разделена на:

- 1. Влажна форма с класически тип неоваскуларна мембрана.*
- 2. Влажна форма с окултен тип неоваскуларна мембрана:*
 - Тип 1 – окултна мембрана/фиброзно отлепване на РПЕ.*
 - Тип 2 – окултна мембрана с дифузна ексудация.*
- 3. Влажна форма с отлепване на РПЕ:*
 - серозно отлепване*
 - серохеморагично*
 - хеморагично*

4. Фиброзен/цикатрициален стадий на МДСВ.

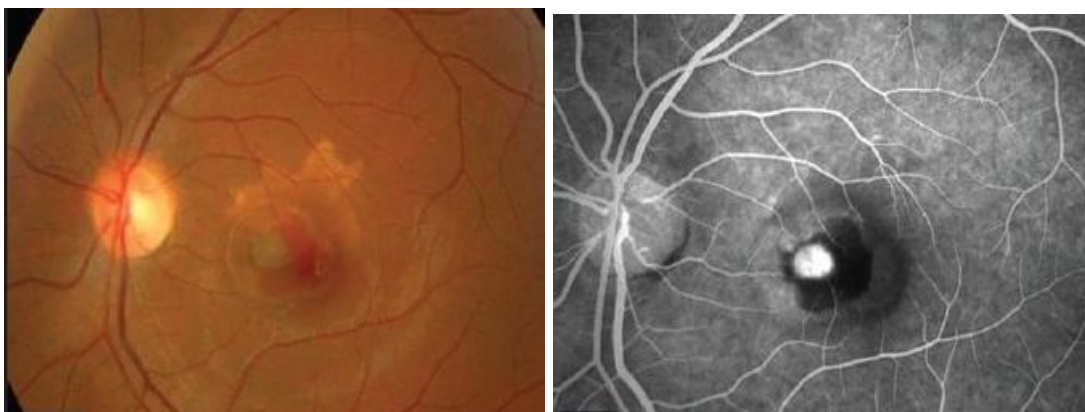
5. Ретинални ангиоматозни пролиферации.

Според тази класификация класически тип CNV имаме, когато мембраната е разположена над РПЕ и е съставена от активни млади неосъдове. Ангографията показва не само наличието на ексудация, но и нейния източник – неоваскуларната мембрана. Именно за това лезиата при класически тип влажна форма на МДСВ се характеризира с ранно светене под формата на цвете, дантела или колело. То се появява в артериалната фаза, хиперфлуоресценцията е с голям интензитет. Светенето се засилва в късните фази и се наблюдава дифузия на флуоресцин, с което границите на лезията стават неясни.

В наблюдаваната от нас група пациенти класически тип CNV бяха 28% (36 пациенти) от цялата извадка.

Смята се, че класическият тип неоваскуларна мембрана е с по-добра прогноза и като цяло по-благоприятен вариант за терапия с анти-VEGF препарати. Това се потвърждава и от нашите изследвания.

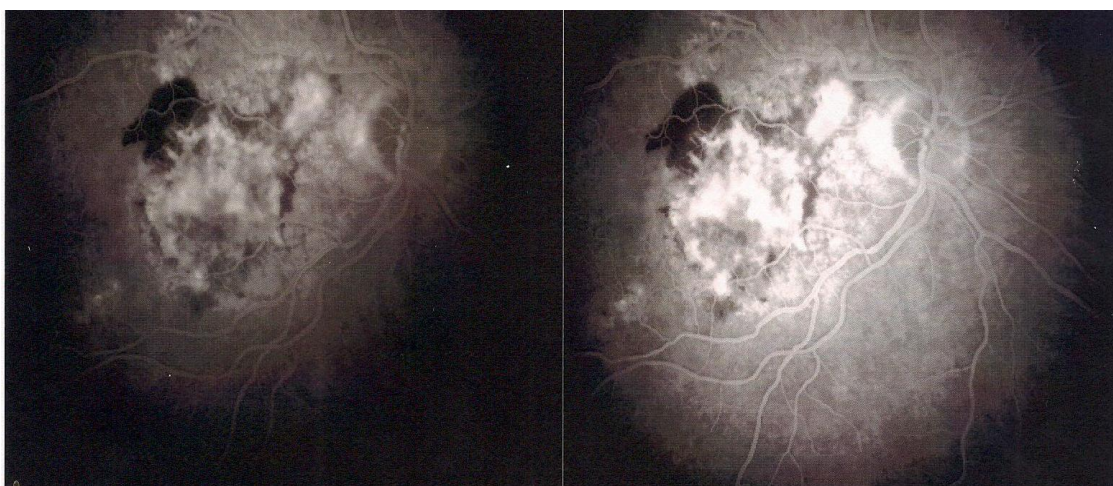
При 52 от пациентите наблюдавахме друг тип ФА картина – окултен тип неоваскуларизация.



Фиг. 43. Цветна снимка и флуоресцеинова ангиография на пациентка с влажна форма на МДСВ. Много ясно се вижда хиперфлуоресценцията от развиващата се неоваскуларна мембрана от класически тип

Обикновено за нея е характерно наличието на ексудация, добре видима на ФА изображенията, но не може да се локализира източникът и самата мембрана. Най-често се касае за CNV, разположена под РПЕ или маскирана от отлепване на РПЕ или хеморагия. Такъв ФА образ се среща при по-напреднали стадии на заболяването, когато то вече е усложнено.

Наблюдавахме два ангиографски типа окултна неоваскуларна мембрана: тип 1 – окултна CNV/фиброваскуларно отлепване на РПЕ и тип 2 – окултна CNV/с дифузна ексудация.



Фиг. 44. Влажна форма на МДСВ – окултен тип 1 неоваскуларна мембрана

При тип 1 – окултна CNV/фиброваскуларно отлепване на РПЕ налице беше типична ФА картина.

На ФА плаките при тези пациенти наблюдавахме неравномерна хиперфлуоресценция, която се появяваше в по-късните фази на ФА, но продължаваше с по-голяма интензивност в късните фази. Границите на лезията са недобре очертани и неясни. Често се комбинираше с отлепване на РПЕ.

При тип 2 окултна CNV – с дифузна ексудация, наблюдавахме различна ФА картина (фиг. 45). На ФА при тези пациенти се наблюдаваха множество хиперфлуоресцентни огнища с различна големина и дифузно светене в цялата макула. Хиперфлуоресценцията се появяваше по-късно през атерио-венозните фази и засилваше интензитета си към края на флуоресцеиновата ангиография.



Фиг. 45. Пациент с влажна форма на МДСВ и тип 2 окултна неоваскуларна мембрана, с дифузна ексудация на флуоресцеин

Неоваскуларната мембрана не е очертана, по-скоро се наблюдава дифузно изтичане на багрило и едем, чийто източник не може добре да се отдиференцира.

Именно в тези случаи на окултен тип CNV мембрана е много уместно да се съчетае ангиографията с OCT-A, където източникът на оток и отлепване на РПЕ може да бъде добре локализиран.

Статистическата обработка на резултатите показва правопрпорционална зависимост между типа на неоваскуларната мембрана и прогресията на заболяването. Оказва се, че с по-голяма степен на риск от прогресия са пациентите с окултен тип неоваскуларна мембрана- 1.4% по-голям риск отколкото при класическия тип НВМ ($p = 0.0003$, табл. 5).

Таблица 5. Зависимост между прогресията на МДСВ и типа на неоваскуларната мембрана. Окултният тип НВМ е с по-голяма вероятност от прогресия и по-висок риск

Chi-Square Tests

Окултен тип НВМ		МДСВ в едното око		Общо	X ²	df	p
		Не	Да				
Няма окултен тип мембрана	N	70	55	125	3,24	3	0,0003
	%	44,9%	46,2%	45,5%			
Има окултен тип мембрана	N	79	57	136			
	%	50,6%	47,9%	49,5%			
Общо	N	156	119	275			
	%	100,0%	100,0%	100,0%			

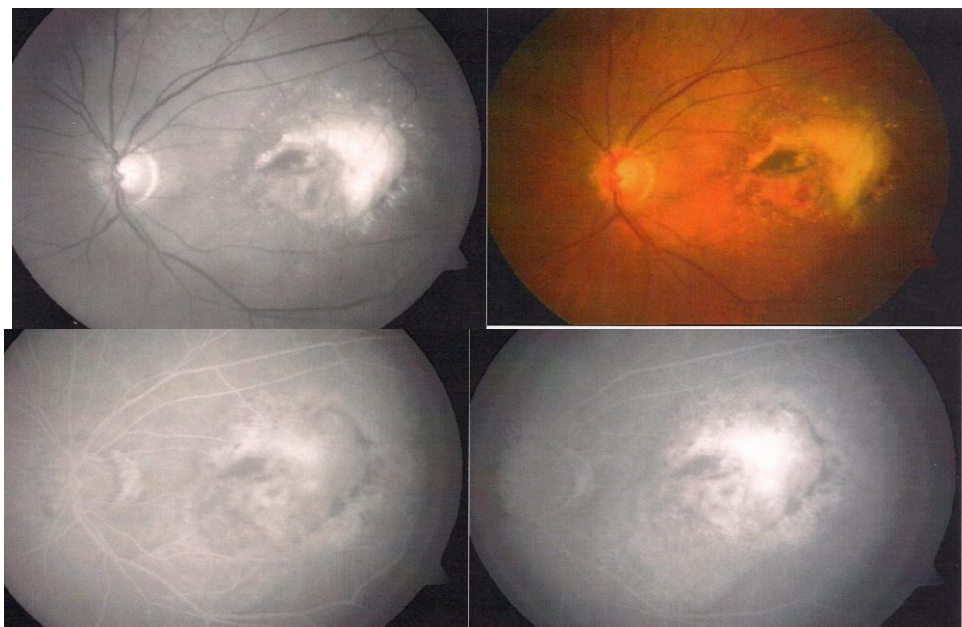
При 24 от изследваните 126 пациенти наблюдавахме отлепване на РПЕ. При по-голямата част от пациентите то беше серозно, само в 4 случая налице беше хеморагично отлепване на РПЕ и в 1 случай фиброваскуларно.

На ФА серозното отлепване на РПЕ се характеризира с ранно, интензивно светене още от ранните ангиографски времена. Лезията е кръгла, с ясно очертани граници.

Багрилото бързо изпълва цялата лезия и не преминава нейните граници до края на ангиографията (фиг. 46).

В някои случаи е възможно да се открие и локализира и неоваскуларната мембрана. Тя се визуализира като ранна точковидна хиперфлуоресценция, предшестваща изпълването на отлепването на РПЕ с багрило.

При хеморагичното отлепване на РПЕ част от него се екранира от кръвта и затова не могат да се видят добре границите на лезията. Много точно големината на отлепването и неговата височина могат да се видят с помощта на ОСТ изследването.

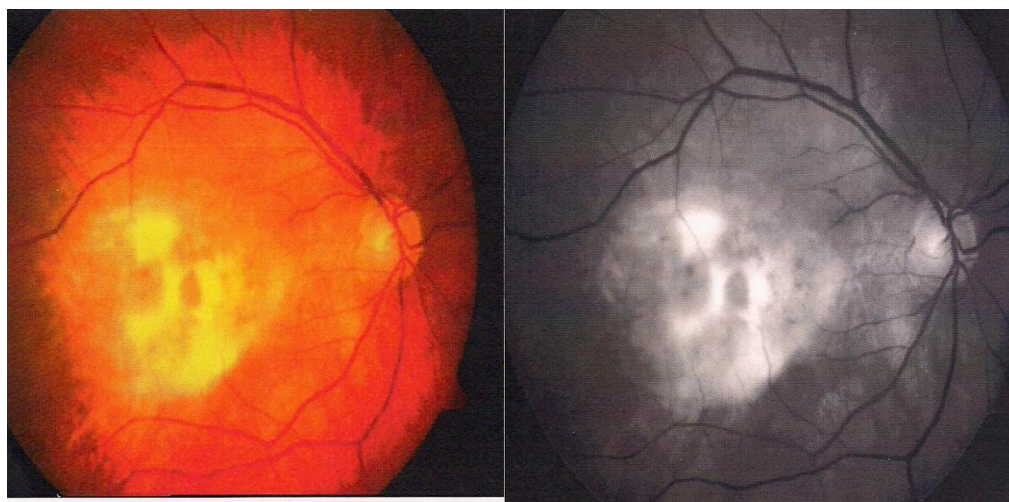


Фиг. 46. Влажна форма на МДСВ с отлепване на РПЕ – добре се очертават границите на лезията

При 14 от изследваните пациенти наблюдавахме краен стадий на МДСВ, с разраснала се фиброваскуларна тъкан или вече оформен цикатрикс. В този

случай цикатрициалната тъкан се оцветява добре с флуоресцин още от ранните фази на ФА и светва с голям интензитет. Лезията запазва светенето си до късните ангиографски фази и не излиза извън първоначалните граници (фиг. 47).

Флуоресцеиновата ангиография има особено важно значение за доказването на цикатрициалните стадии на заболяването, тъй като фиброзната тъкан за разлика от активната неоваскуларизация не показва ексудация. Няма изтичане на ФА плаките, което дава възможност да се разграничи точно стадият на фиброзна тъкан от активната фаза. Дисциформеният цикатрикс се оцветява с багрило веднага, още в ранните фази и светва изведнъж – интензивно. Лезията не показва промяна в интензитета си в по-късните времена и не дава размиване на границите си, нито изтичане на флуоресцеин.



Фиг. 47. Цикатрициален стадий на влажна форма на МДСВ – вижда се фиброзната тъкан

Флуоресцеиновата ангиография има особено значение и при диагностиката на атипичната форма на МДСВ – ретиналните ангиоматозни пролиферации. За първи път за РАП се споменава от Harnett et al. през 1992 г., които го описват като състояние, свързано с неоваскуларна пролиферация, произхождащо от ретиналните артерии.

Много по-късно Yannuzzi et al. (2001) доказват, че пролиферациите произхождат от дълбоките ретинални слоеве, които се разрастват и образуват ре-

тино-хориоидални анастомози. Те описват и 3-те основни стадия на заболяването, а именно:

Стадий I – RAP I: Интратретинни неоваскуларизации

В този стадий съдовите пролиферации се намират в ретината и произлизат от дълбокия капилярен плексус, налични са ретино-ретинни анастомози. Има множество пръснати хеморагии и оток, налице са ретинно-ретинни анастомози.

Стадий II – RAP II: Субретинна неоваскуларизация

Неосъдовете навлизат и в субретинното пространство – над ретинния пигментен епител. Наблюдават се интра- и преретинални хеморагии, често и отлепване на невросензорната ретина или серозно отлепване на РПЕ.

Стадий III – RAP III: Хориоидална неоваскуларизация (CNV)

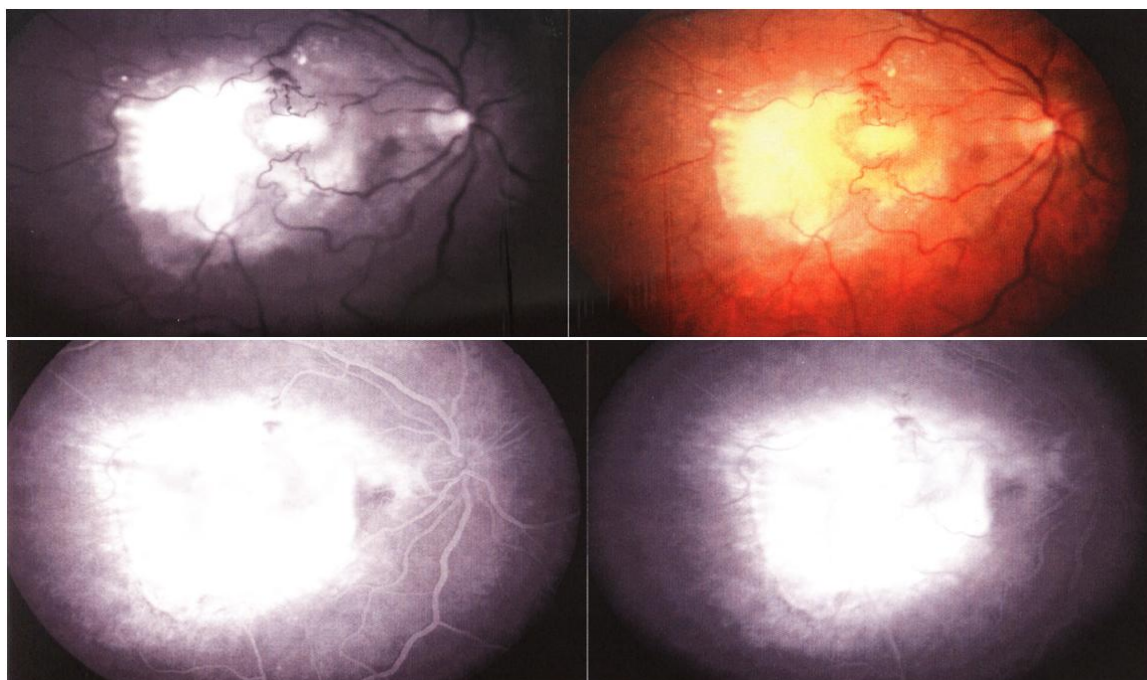
В този стадий се наблюдават ретино-хориоидалните анастомози, често съчетани с отлепване на РПЕ и силно изразен едемен синдром в ретината.

ФА е особено полезна при диагнозата на състоянието, и особено в началните форми. При наблюдаваните от нас пациенти – 9, от които 4 с начални форми на заболяването, на ФА плаките наблюдавахме засилена хиперфлуоресценция от развиващ се макулен едем. Калибърът на съдовете беше променен и те не се стесняваха дистално като нормалните ретинални съдове, а напротив, разширяваха своя лумен към края на съда (фиг. 48).



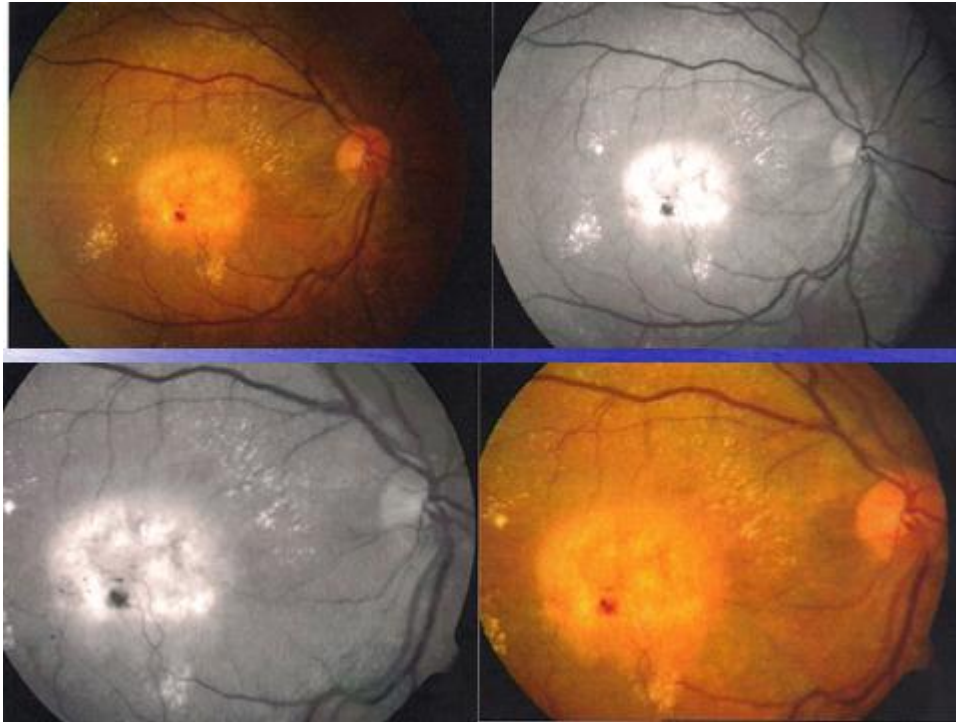
Фиг. 48. РАП I – налице са интраретинни пролиферации и изразен едем синдром в ретината

При РАП III на ФА могат да се видят местата на ретино-хориоидалните анастомози, където съдът е телеангиектатично разширен и като че ли потъва в слоевете на ретината към хориоидеята. Понякога тази картина се замъглява от развиващия се дифузен ретинен едем (фиг. 49).



Фиг. 49. Пациент с РАП III – на нативната снимка добре се виждат местата на ретино-хориоидалните анастомози. Това не е толкова ясно на ФА снимката, където имаме дифузно светене поради развиващия се дифузен макулен едем

Можем да заключим, че ФА е особено удачна и важна при ранните форми на РАП, където промените в калибъра на съдовете, наличието на едем и кръвоизливите в ретината ни насочват към правилната диагноза.



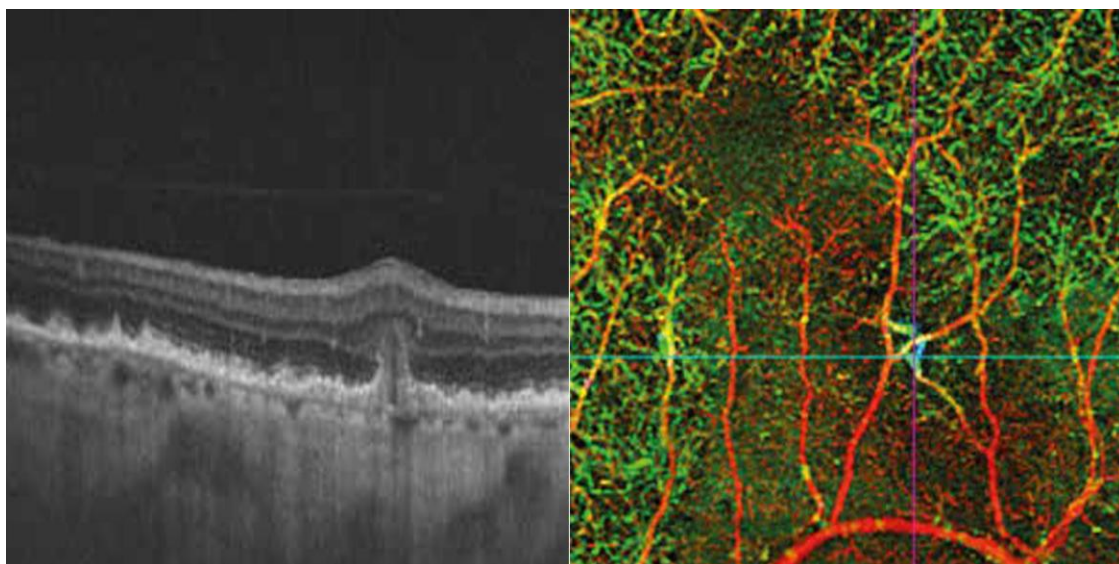
Фиг. 50. Пациент с РАП III – налице са основните характеристики на заболяването, дифузен едем и твърди ексудати, променен калибър на съдовете, телеангиектазии и кръвоизливи

При всички наблюдавани от нас пациенти с РАП до втората година се появиха признаци на заболяването и в другото око.

Това е в унисон със световните статистически данни, според които РАП е билатерално заболяване и до 1 година 60% го получават и в другото око, а до 3 години – 100%.

Най-точният диагностичен метод за доказване на РАП си остава индоцианин гриин ангиографията, позволяваща да се обективизират и съдовете на хориоидеята. При това изследване се вижда по-точно изтичането на багрилото в късните фази поради интратретинния едем и могат ясно да се отграничат ретинно-хориоидалните анастомози.

Също много точна може да бъде диагностичната стойност на ОСТ-А в тези случаи, тъй като тя позволява да се диагностицират промените в дълбокия съдов плексус на ретината и да се докажат ретинно- хориоидалните анастомози.

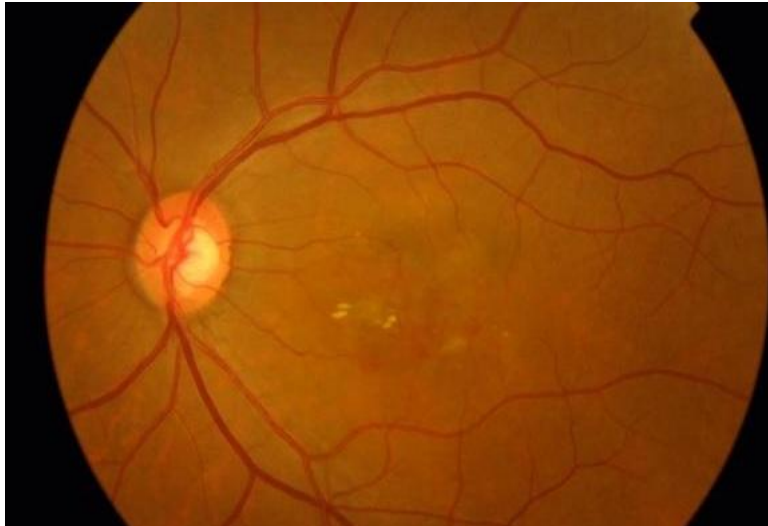


Фиг. 51. OCT и OCT-A при РАП лезия. Виждат се много добре местата на ретинно-хориоидалните анастомози

При 5 от разглежданите пациенти наблюдавахме **полипоидна хориоидална васкулопатия – ПХВ**. Тя представлява сравнително рядко заболяване, по-типично за пациенти след 70-, даже и 80-годишна възраст. По-често е при азиатци и африканци.

Състоянието се характеризира като неоваскуларизация, свързана с промени в хориоидалните съдове. Дегенеративните изменения засягат както артериолите, така и капилярите и венулите на хориоидеята. Наблюдават се аневризмални разширения и формиране на полиповидни образувания. Наред с това е налице изразена ексудация на фибрин и плазма около лезията.

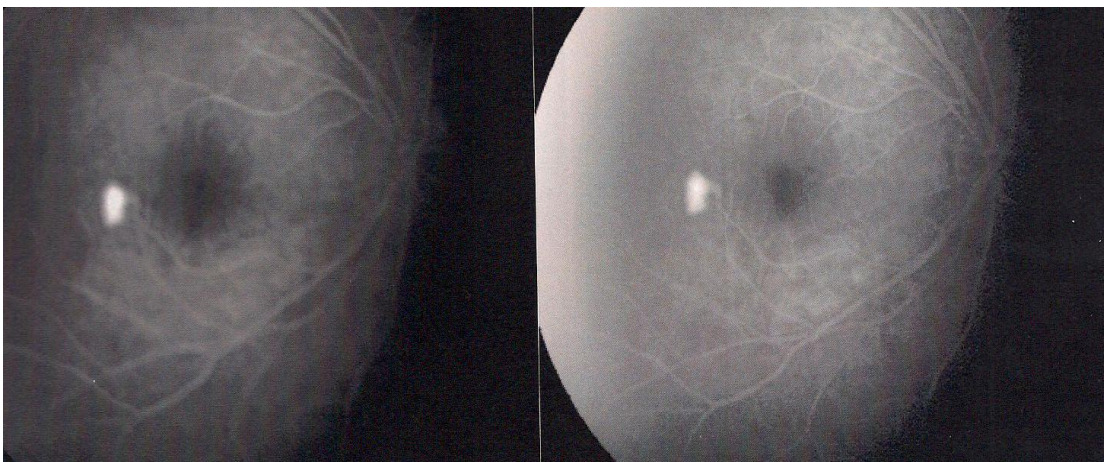
Клиничната картина при наблюдаваните от нас пациенти показваше разнообразен ход – от спонтанно възстановяване при 1 пациент до повтарящи се субретинални кръвоизливи при 3 пациенти или хеморагично отлепване на РПЕ при 1 пациент. В по-късните стадии на заболяването често наблюдавахме атрофия на РПЕ и много по-малко разкъсване на РПЕ. Намаляването на зрителната острота вследствие на тези усложнения се срещаше при 50% от случаите.



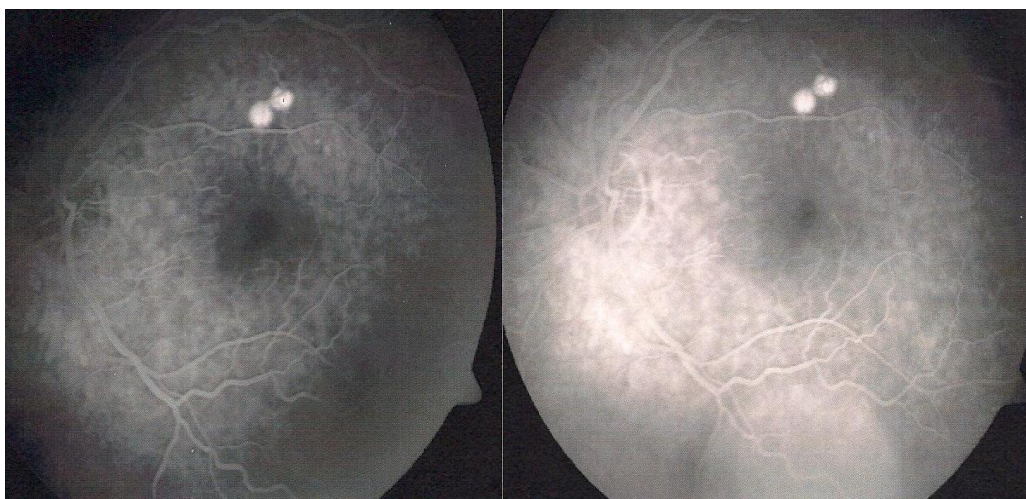
Фиг. 52. Цветна снимка на пациентка с полипоидна хориоидална васкулопатия. Налице са промени на съдовете – телеангиектатични разширения и твърди ексудати в задния полюс

ФА може да даде в някой от случаите важна информация за заболяването. Това, което наблюдавахме най-често при изследваните от нас пациенти, беше разклоняване и телеангиектатично разширяване на хориоидалните съдове.

Наличие на полипоидни лезии се откриваше по-рядко на флуорографските плаки. По-често лезиите имаха вид на класически или окултни неоваскуларни мембрани. В много от случаите в по-късните фази на заболяването наблюдавахме атрофия на РПЕ, показана като ясно ограничено светене на ангиографските плаки.



Фиг. 53. Друг клиничен случай на пациент с ПХВ, виждат се добре полипоидните лезии



Фиг. 54. Друг пример за ПХВ. Добре се виждат лезиите

В диагностичен план най-точна и патогномонична си остава индоцианин грийн ангиографията (ИЦГ). Макар този метод да е малко разпространен у нас, за разлика от другите европейски страни, той позволява да се докажат:

- повишена пропускливост и хиперпермеабилитет на хориоидалните съдове.
- да се обективизират добре полипоидните разширения на хориоидалните съдове.
- да се види променената хориоидална мрежа.

Всичко това го прави диагностичен метод на първи избор за доказване на диагнозата ПХВ.

Поради малката разпространеност на метода в нашата страна, не беше използвана индоцианин грийн ангиография при нашите изследвания. Използвахме ОСТ-А, за да видим по-ясно полипоидните лезии. При 3 от нашите пациенти беше направена ОСТ-А. Оказа се, че при всички тях беше възможно да се види по-добре променената хориоидална мрежа с нейните разклонения, отколкото на ИЦГ-А. Наблюдавахме и полипите, при 2 от пациентите, разположени точно под върха на отлепването на РПЕ, между него и бруховата мембрана.

Наблюдаваните при нашите пациенти модели на хориоидна неоваскуларизация бяха от гломерулен тип – множество разклоняващи се и анастомози-

раци помежду си неосъдове, без наличието на основен, стволосв съд. Според повечето автори това е доста чест вариант на ПХВ, срещащ се при 33% от случаите.

4.2.2. Оптична кохерентна томография при пациентите с влажна форма на МДСВ. ОСТ рискови фактори при влажна МДСВ

Както стана ясно още от литературния обзор, има много класификации на МДСВ, разчитащи на различни критерии. В зависимост от стадия на развитие на заболяването имаме следната класификация.

– *Ранна форма на МДСВ*, която се дефинира като наличие на друзи със среден размер 63-125 μm и без пигментни абнормалности.

– *Интермедиерна форма*, с големи, често конфлуиращи друзи с размери по-големи от 125 μm и наличие на пигментни аномалии.

– *Напреднала МДСВ* – характеризираща се с неоваскуларна мембана или географска атрофия.

Нашите изследвания на пациенти с интермедиерна форма на МДСВ показват, че от особено значение за прогресията на заболяването са:

- *Площта на друзите*
- *Тяхната големина*
- *Наличието на хипорефлективни зони*
- *Регресията на друзите*

От всички изброени критерии с най-голямо значение е големината на друзите. Проследявайки 32 пациенти с интермедиерна форма на заболяването, в около 80% от случаите на друзи с големина от 71 μm и по-малко не се наблюдава развитие към напредналата форма.

При пациентите с големина на друзите 100-122 μm в повече от 60% се наблюдава прогресия към развита форма на МДСВ.

• *Хиперрефлективните зони на ОСТ* са зони, отбелязващи дегенеративно променен РПЕ. Най-често се дължат на натрупване на дегенеративни елементи при увреждането на клетките на РПЕ. Проследявайки такива пациенти в

продължение на 2 години, се оказа, че при тях 5 пъти по-често в сравнение с останалите пациенти се наблюдава прогресия до напреднала форма на МДСВ. Най-често пациентите развиват географска атрофия и много по-рядко влажна форма на МДСВ.

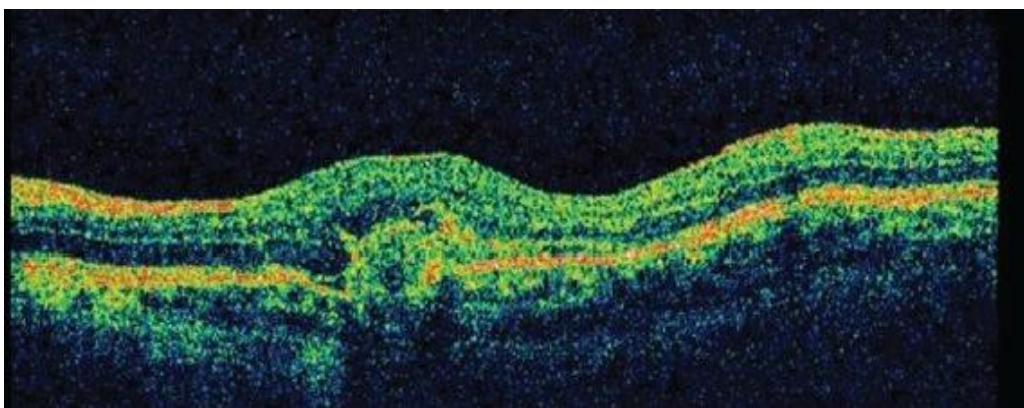
– *Суб-РПЕ хиперрефлексивни струпвания* – тези отлагания под РПЕ са свързани с инсуфициенция на слоя на РПЕ и говорят за напреднала дисфункция. Наличието на тези хиперрефлексивни сенки на ОСТ диаграмите беше свързано с 27% по-голям риск от прогресия към влажна напреднала форма на МДСВ при пациентите. Това ние определяхме като сериозен рисков фактор.

– *Наличие на прекъсване в елипсоидната зона на фоторецепторните клетки* наблюдавахме доста по-рядко. Само в 2% от случаите на МДСВ имахме такава находка, но при всички пациенти откриването ѝ беше свързано с прогресия на състоянието в следващите 2 месеца.

Други белези на прогресия, но с по-малко значение, които се наблюдаваха, бяха задебеляването на слоя на РПЕ и хориоидеята, нарушаване целостта на membrane limitans externa, патологични промени в съдовете на хориоидеята и субфовеоларно задебеляване на хориоидеята.

При всички 126 пациенти с влажна форма на МДСВ освен ФА приложихме и ОСТ изследване, с програмите HD line, Cross line и тези за качествен анализ на лезиите – EMM5, EMM5 прогресия и Macular test 523x125.

Основното предимство на ОСТ диагностиката е, че ни дава възможност да видим разположението, големината и дори формата на развиваща се неоваскуларна мембрана CNV. При разглежданите от нас пациенти тя се обективизираше като кръгла, силно хиперрефлексивна лезия, която в случаите на класически тип неоваскуларна мембрана се разполагаше над РПЕ. Именно с това се обяснява и по-ранното и интензивно светене на ангиографските плаки – фиг. 55. При около 20% от изследваните от нас пациенти се наблюдаваше картината на начална, класически тип неоваскуларизация.



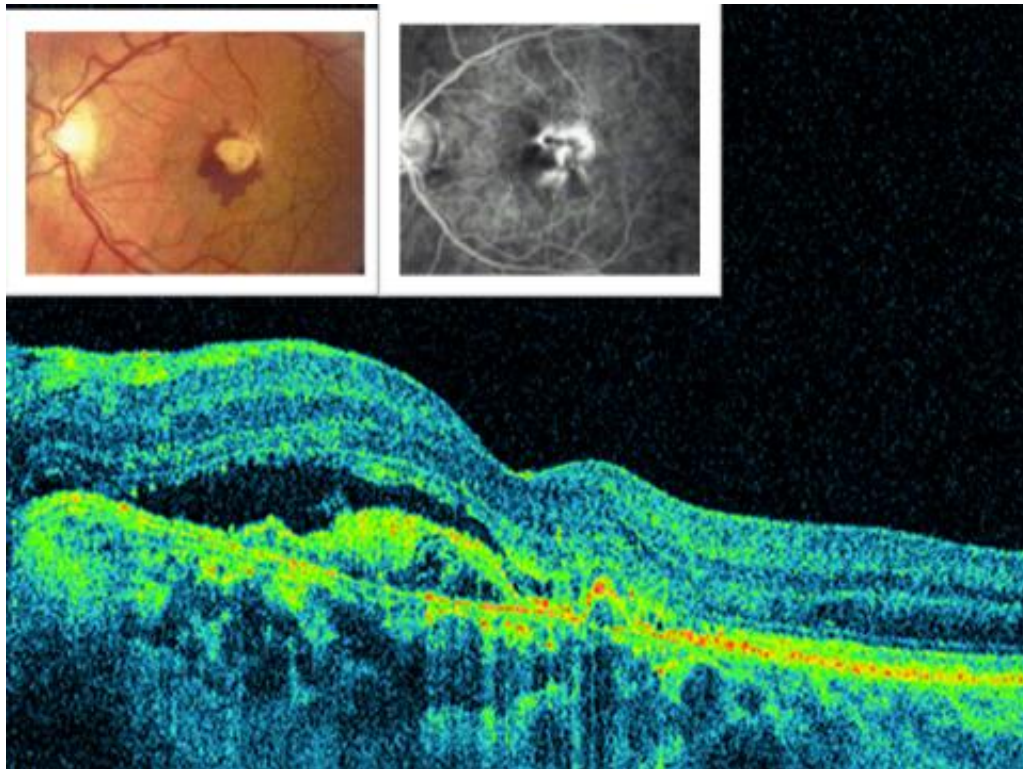
*Фиг. 55. Класически тип неоваскуларна мембрана с формата на кълбо –
изобразява се като хиперрефлективна сянка*

ОСТ критериите, които ни интересуваха, за да определим прогнозата на заболяването, бяха:

- Големина на неоваскуларизацията
- Тип – класическа или окултна
- Нарушения на целостта на слоя на РПЕ/отлепване на РПЕ
- Хиперрефлективност на лезията
- Наличие и степен на ретинния едем.

За първи път чрез ОСТ диагностиката стана възможно да имаме информация за запазването или не на целостта на РПЕ. Когато той е със запазена или само локално нарушена цялост, както е на фиг. 55, пациентите са с добра прогноза и това са най-благоприятните случаи за прилагане на анти-VEGF терапия. Дифузното нарушаване целостта на РПЕ в съчетание със серозно отлепване на невросензорната ретина е лош прогностичен фактор и намалява с до 30% шансовете за благоприятно повлияване от анти-VEGF терапия.

Наличието на отлепване на РПЕ увеличава риска от прогресия. На ОСТ изображенията много по-ясно може да се обективизира отлепването на РПЕ дори и с малки размери. Това е и критерий да предпочетем един вид анти-VEGF препарат пред друг.

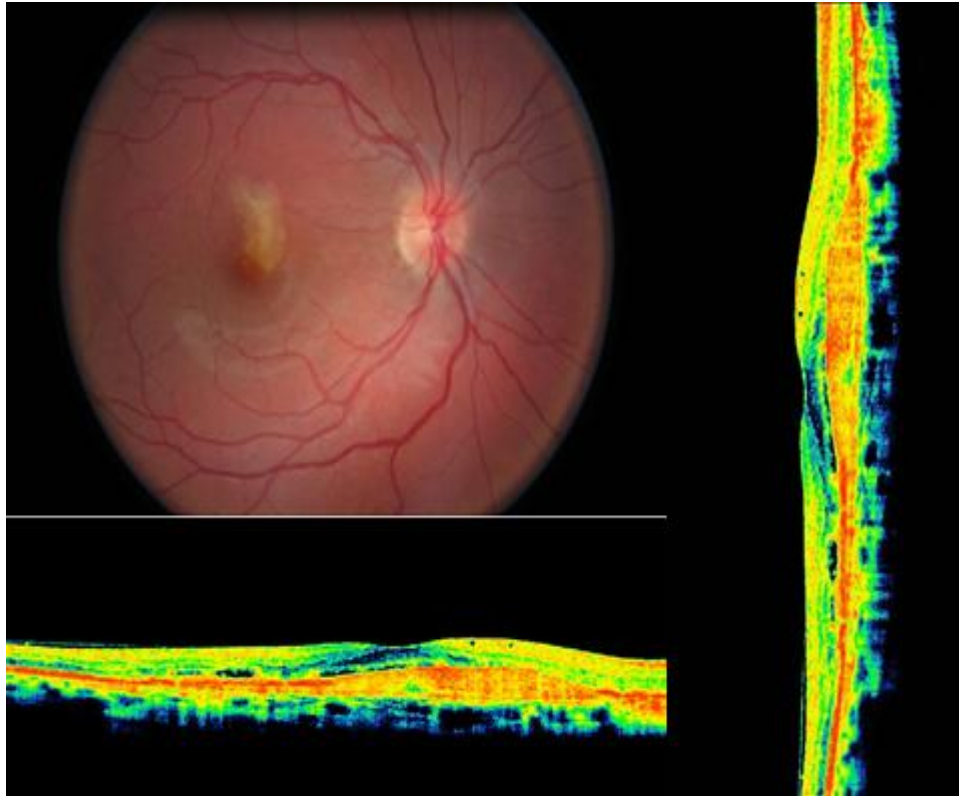


Фиг. 56. Пациент с влажна форма на МДСВ и неоваскуларна мембрана от класически тип, но с дифузно нарушение целостта на РПЕ и серозно отлепване на ретината, които са белези за неблагоприятна прогноза

Отлепването на РПЕ е и рисков фактор за развитие на фиброваскуларен цикатрикс с трайна загуба на ЗО. При продължителна терапия на тези пациенти не се изключва и възможността от разкъсване на РПЕ с много тежка прогноза. При пациентите с класически тип неоваскуларна мембрана лезията беше силно хиперрефлексивна. Повишената хиперрефлексивност говори за наличието на активна неоваскуларна мембрана с млади неосъдове, които са причината за тази хиперрефлексивност.

Наличието на изразена хиперрефлексивност в една класически тип неоваскуларна мембрана е рисков белег и говори за наличие на активни съдове, върху които анти-VEGF препаратите биха действали.

Обичайното място на такава лезия е обикновено пред РПЕ или по-рядко на нивото му. В повечето случаи наблюдаваните от нас активни неоваскуларни мембрани бяха с кръгла или вретеновидна форма, като пред лезията се наблюдаваше ретинен оток.



Фиг. 57. Хиперрефлексивност на ОСТ диаграмата, говореща за изразена активна неоваскуларна мембрана

Наличието на течност в ретината се визуализира най-добре с ОСТ диагностиката и е белег на активност. Когато епиретинната мембрана е по-стара, може да не е толкова ясно отграничима и не толкова силно хиперрефлаксивна.

Тя може да бъде представена като едно задебеление на РПЕ. Наличието на дифузен оток около неоваскуларната мембрана е често срещано и води до увеличаване на централната ретинна дебелина. Това при нашите пациенти беше между 350-450 μ средно. Макар количественият анализ и увеличаването на ретинната дебелина да не са основен критерий за тежестта на заболяването, то по него основно отчитаме резултатите от лечението на МДСВ. Винаги при активна неоваскуларизация се наблюдава увеличаване на ретинната дебелина от порядъка на 100-150 μ . Много важно е обаче дали имаме формирани интратретинни кисти. Това са оптически празни, хипорефлексивни пространства в ретината, свързани с наличието на персистиращ поне 3 месеца интратретинен едем. Тяхната поява е свързана с

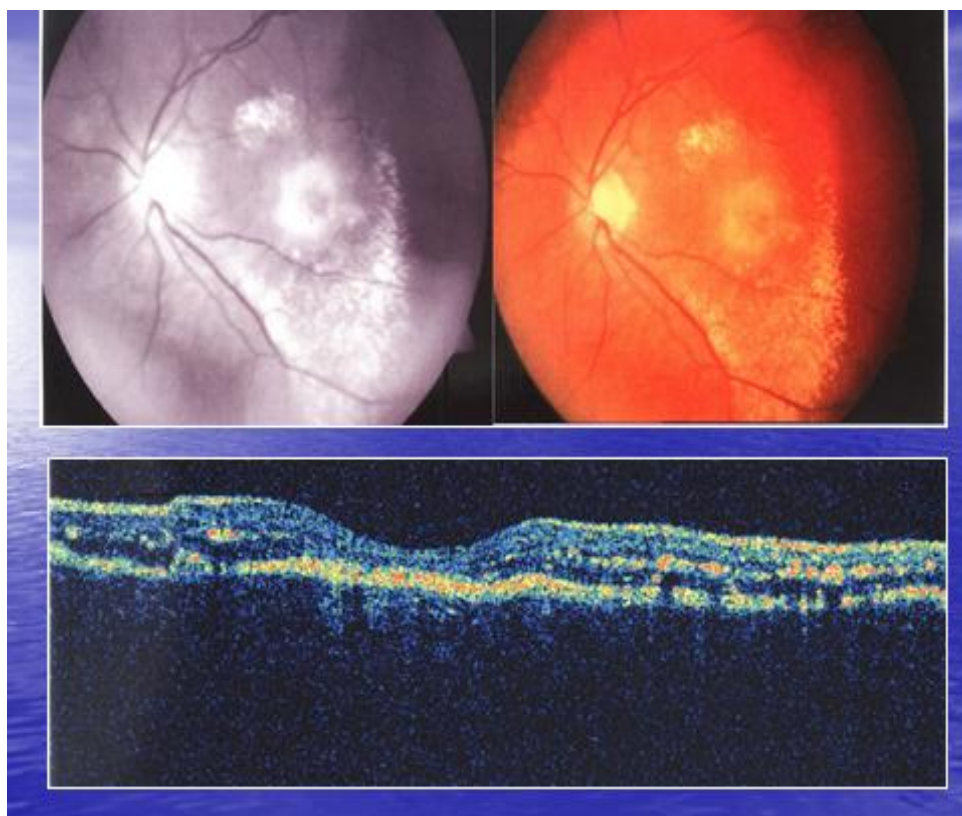
унищожаването на мюлеровите клетки на ретината. Именно по тази причина наличието на кистовиден ретинен едем при някой пациент с МДСВ още в началото е белег за по-лоша прогноза.

ОСТ при пациенти с РАП

Пациентите с РАП бяха сравнително малка група – 9, от които 4 с начални прояви на заболяването.

В първия стадий на РАП – стадий на интратретиналните пролиферации, наблюдавахме множество хиперрефлексивни сенки в невросензорната ретина, представляващи новосформирани се ретинални съдове. Неоваскуларизацията в ретината е силно изразена и засяга цялата ретина, като неосъдовете са разположени главно във външните слоеве.

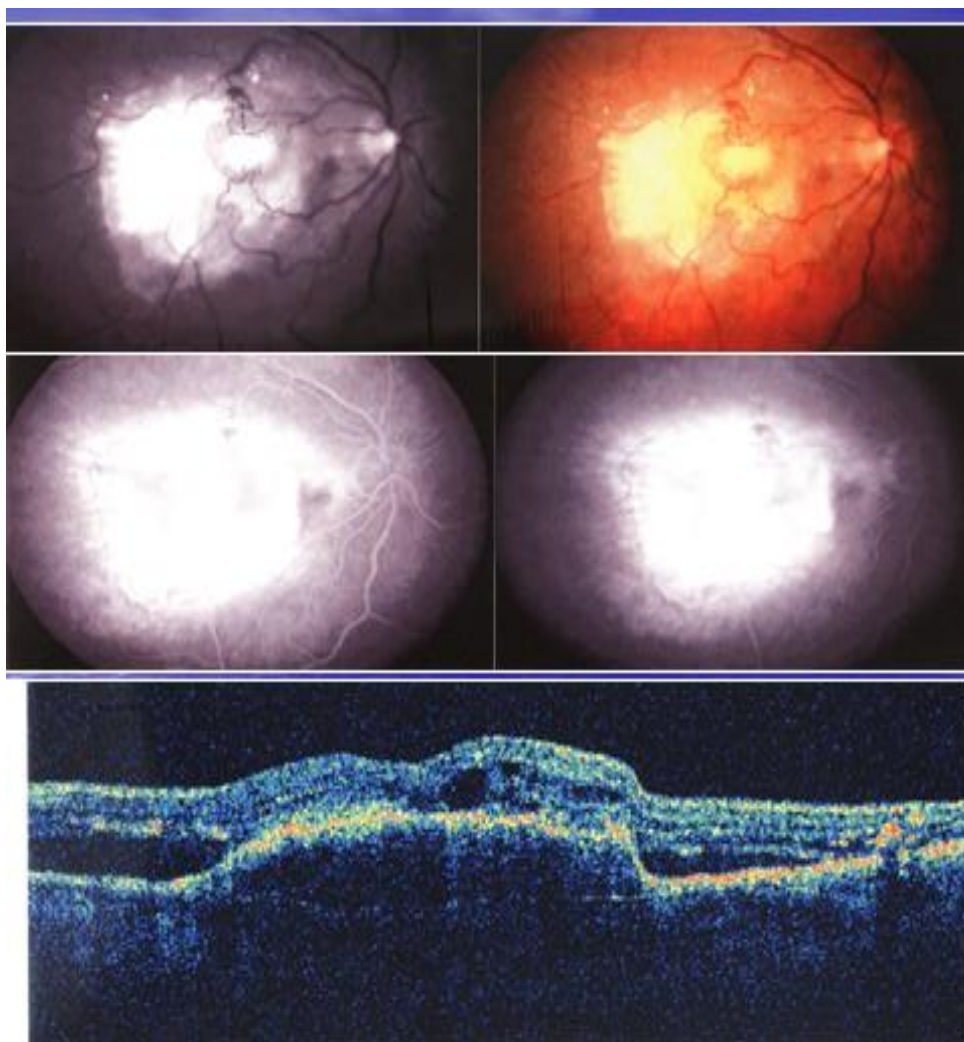
ОСТ диагностиката е единственият начин да се разграничат отделните стадии на РАП, защото благодарение на нея могат да се видят в дълбочина разположението на съдовете и дали те преминават към хориоидеята, или не.



Фиг. 58. ОСТ диагностика на пациент с РАП I – налице са множество хиперрефлексивни лезии на интратретинните неосъдове, които все още остават в границите на невросензорната ретина

Особено демонстративно е ОСТ изследването при пациенти с РАП III, защото тук могат добре да се видят ретино-хориоидалните анастомози.

На фиг. 59 на ОСТ изображението много ясно се вижда мястото на свързване на ретиналните съдове със съдовете на хориоидеята. Налице е също така отлепване на невросензорната ретина и отлепване на РПЕ, които са видими на ОСТ и доказват по-голямата тежест на състоянието.



Фиг. 59. РАП стадий III – видими са ретинно-хориоидалните анастомози. ОСТ диагностиката е изключително ценна при случаите на РАП, защото, от една страна, доказва заболяването, а от друга, показва неговия стадий

ОСТ-А при пациенти с влажна форма на МДСВ.

ОСТ-А рискови фактори

Оптичната кохерентна томография-ангиография – ОСТ-А, е сравнително нов, неинвазивен метод за оценка на промените в структурата на ретината и нейното кръвообращение. ОСТ-А е по-бърз и по-лесен за изпълнение метод, позволяващ да се получат cross-sectional и en face изображения на ретината и хориоидеята, с триизмерна визуализация на хориоидалните лезии.

С помощта на методиката можем да видим структурата на неоваскуларната мембрана, дори в случаите, когато тя е субклинична – т.е. няма натрупвания на течност в ретината.

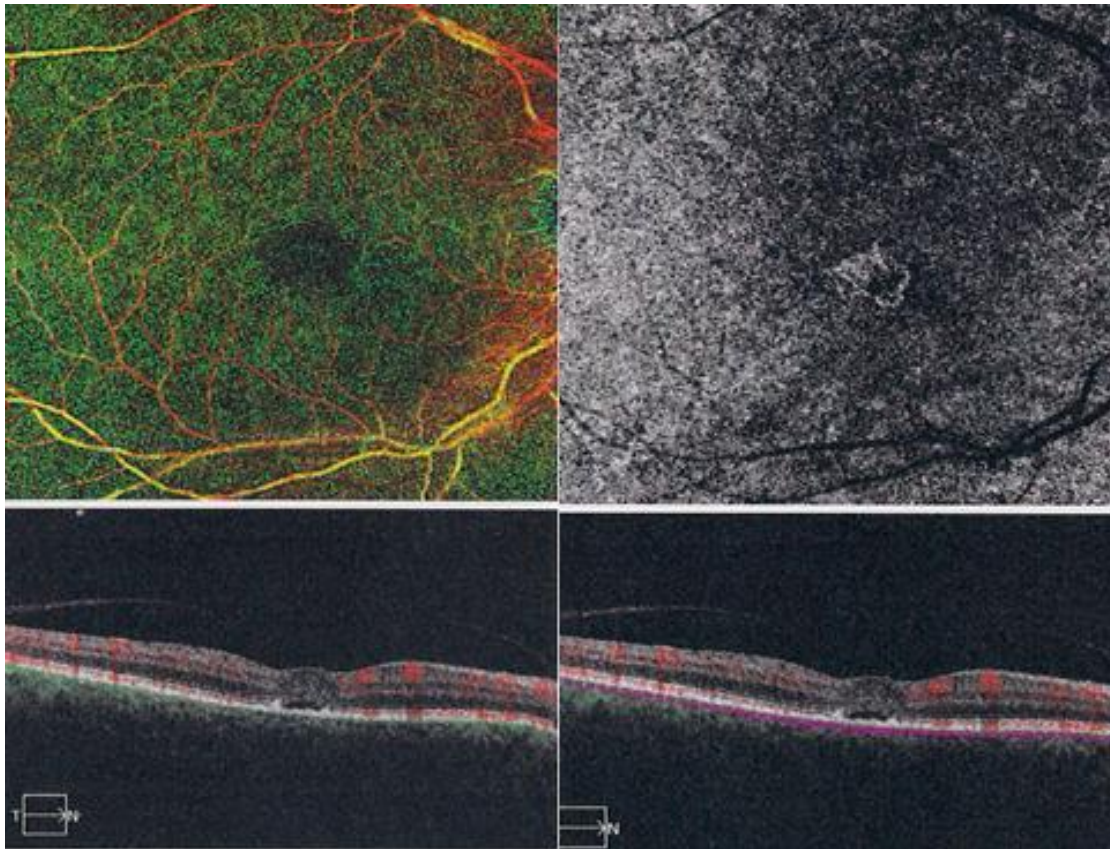
Нашите проучвания на 126 пациенти с влажна форма на МДСВ показаха, че пациенти с налична субклинична неоваскуларна мембрана, открита чрез ОСТ-А, са с 15 пъти по-голям риск от прогресия на състоянието в сравнение с тези, при които не се наблюдава такава лезия.

Чрез ОСТ-А имахме възможност да изучим структурата на неоваскуларните мембрани.

Според нашите изследвания бяха налице 3 подтипа неоваскуларни мембрани според характеристиките им на ОСТ-А.

Тип 1 неоваскуларни мембрани, произхождащи от хориоидеята, пенетриращи брукховата мембрана и локализиращи под РПЕ.

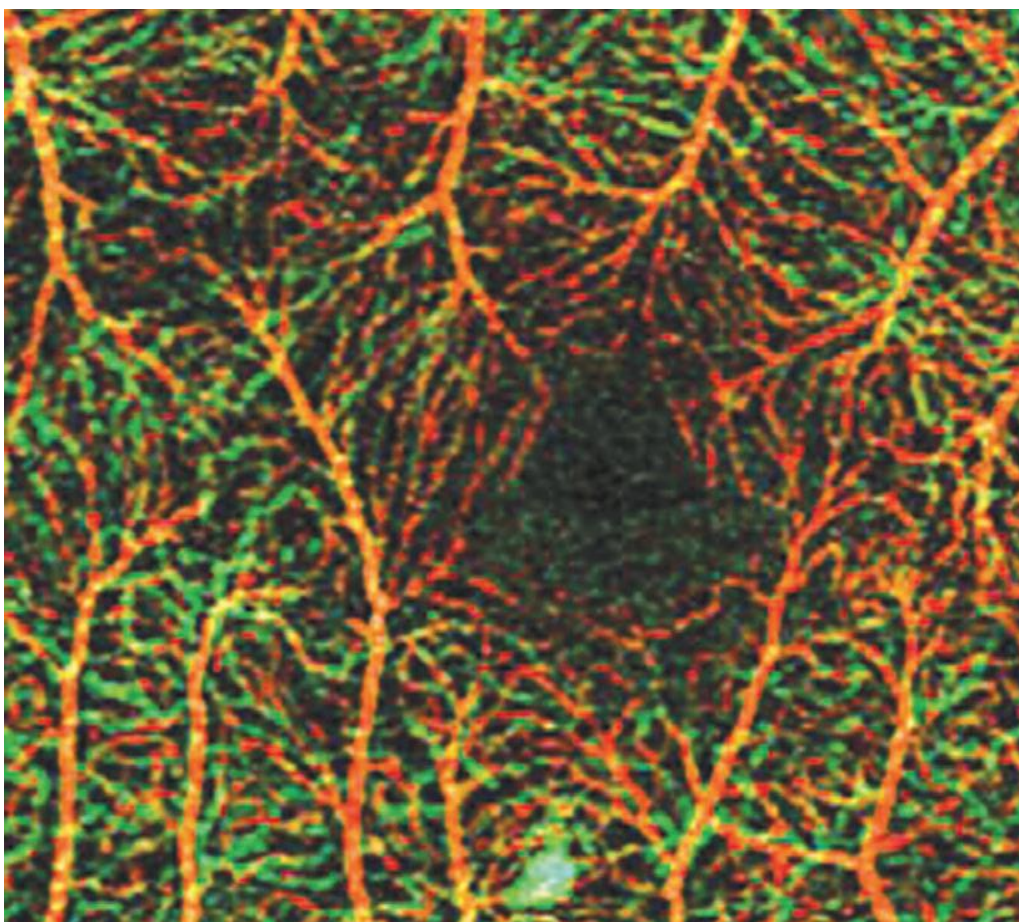
В повече от 55% от случаите неоваскуларната мембрана при тези пациенти беше с формата на „медуза“ – множество радиално излизащи и разклоняващи се съдове, произхождащи от един основен хранещ съд.



Фиг. 60. На OCT-A се открива субклинична НВМ в дълбокия ретинален плексус, която не се вижда при други срезове, нито с обикновена OCT

От особено значение бяха 5 пациенти с множество груби неосъдове с голям калибър, с множество периферни разклонения, които бяха високорискови и прогресираща към развита форма на МДСВ.

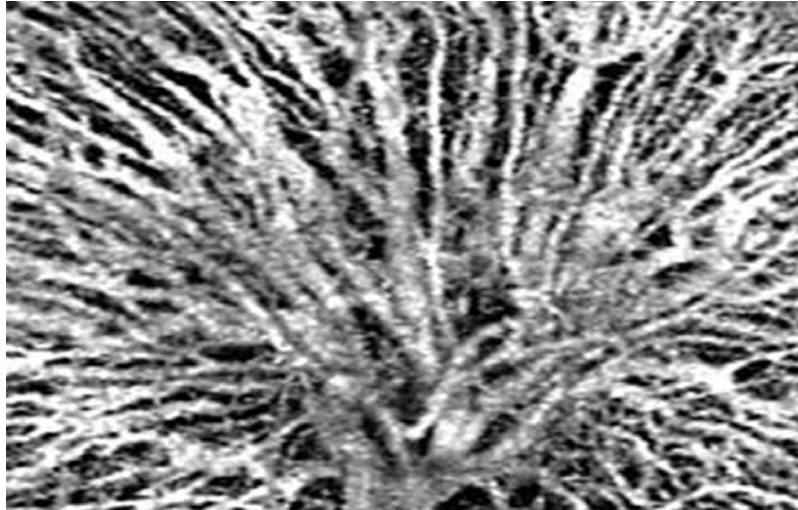
При *Тип 2 неоваскуларни мембрани (НВМ)*, които наблюдавахме при 54 пациенти, лезията отново произхождаше от хориоидеята, но се локализираха между РПЕ и невросензорната ретина. Това са и лезиите, които дават класически тип картина на ангиофлуорографските плаки.



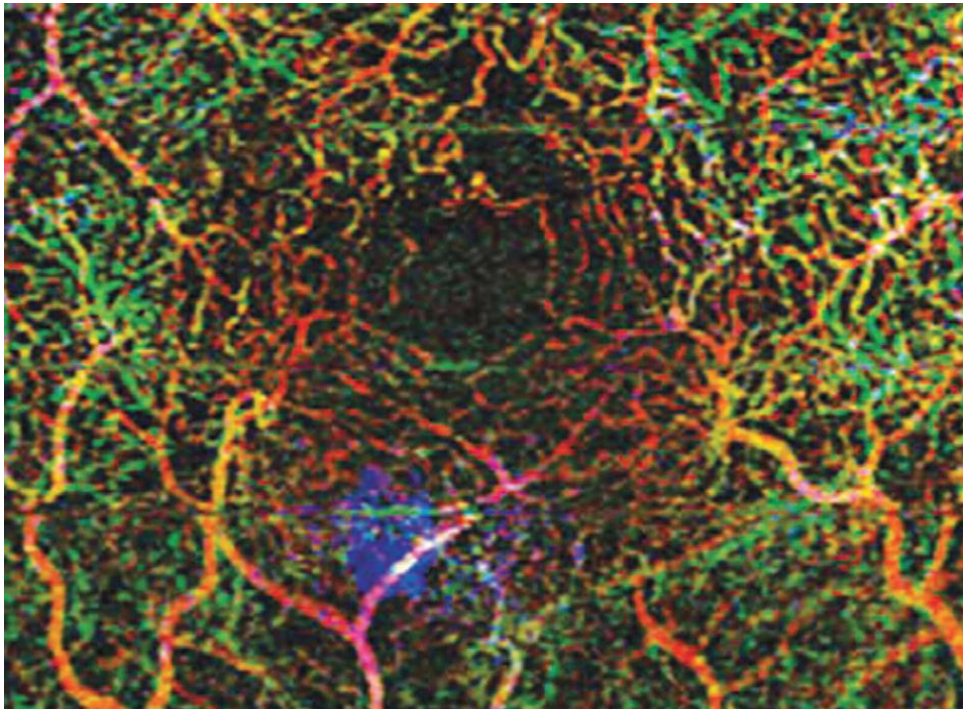
Фиг. 61. Наличие на неоваскуларна мембрана с характеристика „Медуза“ на OCT-A изображенията

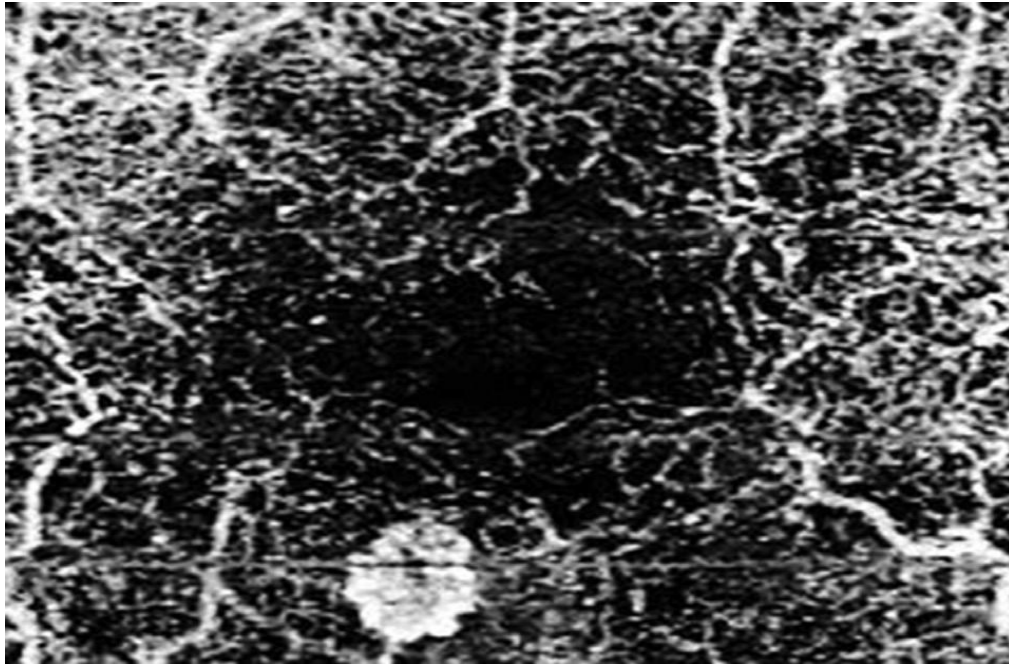
Тяхната OCT-A структурна характеристика е тип „гломерул“, множество разклоняващи се един в друг, малки съдове с различно изразена хипорефлективност (фиг. 63).

Тип 3 неоваскуларизация наблюдавахме при пациентите с РАП лезии, където неосъдовете първоначално произхождаха от съдовете на ретината. OCT-A ни даде възможност да видим лезиите, преминаващи през цялата ретинна дебелина – повърхностния, дълбокия ретинален плексус и впоследствие свързването със съдовете на хориоидеята, образувайки ретино-хориоидални анастомози.



Фиг. 62. Неоваскуларна мембрана с груби, големи по калибър неосъдове, произхождащи от основен хранец съд. Високорискова характеристика на ОСТ-А

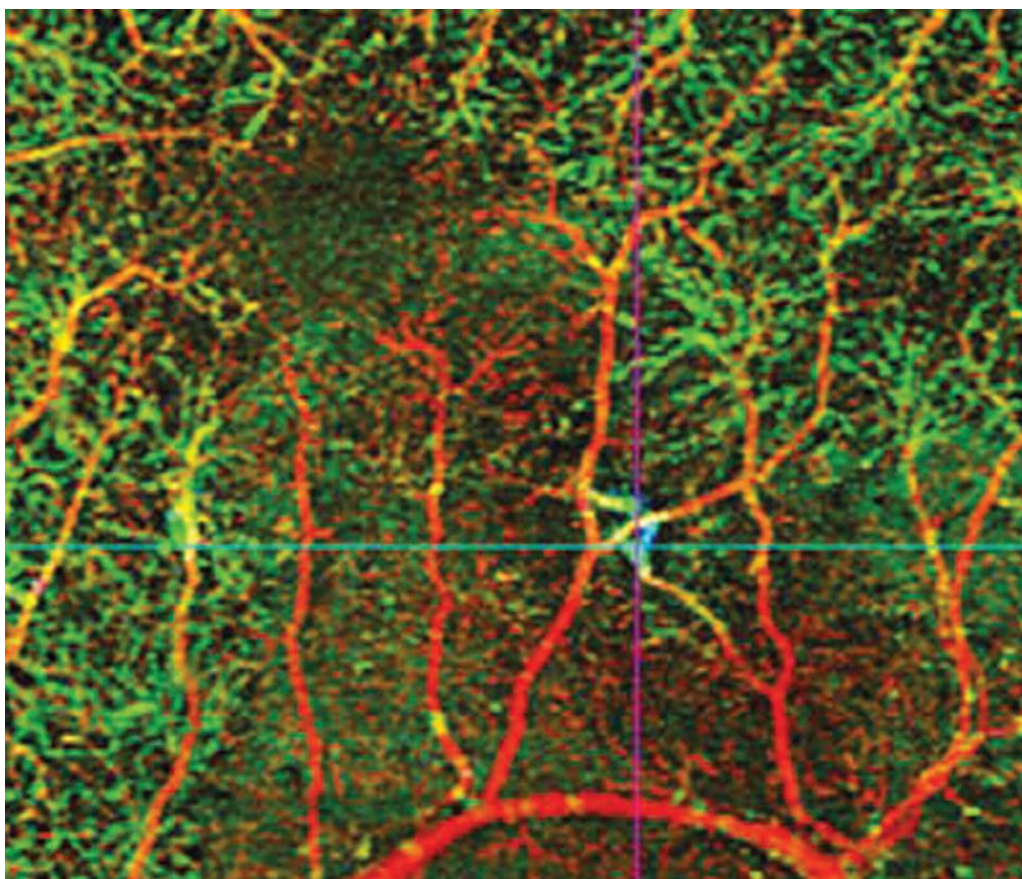




Фиг. 63. Тип 2 неоваскуларна мембрана с характеристика тип гломерул

Чрез тази нова технология се визуализира кръвната колона, преминаваща през цялата дебелина на ретината, а en face ангиографският образ показва структурата на РАП лезията и мястото на ретинно-хориоидалните анастомози. Имаме възможност да видим в дълбочина променените съдове, тяхната големина и преминаване през всички сегменти на ретината – повърхностен, дълбок и аваскуларен.

При една малка група от 14 пациенти със суха форма на МДСВ се откри на OCT-A наличие на начална субклинична неоваскуларна мембрана. Проследяването на тези пациенти за 2 години показва повишен риск от преминаване към влажна форма на заболяването при 9 от тях. Рискът от прогресия на заболяването при тези пациенти се оказва около 5 пъти повече, отколкото при останалите, които нямат такива лезии. Нашите проучвания дадоха възможност да определим някои критерии в OCT-A диаграмите, които са свързани с наличието на активна неоваскуларна мембрана и биха били причина за стартиране на анти-VEGF терапия.



Фиг. 64. *РАП лезия на ОСТ-А – вижда се добре в дълбочина при сегментация в дълбок плексус и аваскуларна зона*

Оказва се, че при 20% от пациентите с по-бърза прогресия на състоянието е налична *добре очертана неоваскуларна мембрана тип ветрило или дантела с множество разклоняващи се капилляри*. Високорисков ОСТ-А белег е наличието на *груби съдове с голям калибър* (табл. 6).

Статистическата обработка на данните показва, че имаме значима разлика в степента на прогресия на МДСВ при пациенти с налични *груби неосъдове* на ОСТ-А и такива без. Около 2 пъти е по-голяма вероятността от прогресия при пациенти, имащи тази високорискова характеристика.

Друг рисков фактор от терапевтично значение е наличието на *анастомози между съдовете*. Наличието на мрежа от множество *млади капилляри, извиващи се и анастомозиращи помежду си*, е признак за активна мембрана. Тези с по-малко, големи, *неанастомозиращи съдове* – като “мъртво дърво”, при изследваните от нас пациенти показаха ниска степен на активност и прогресия.

Таблица 6. Връзка между прогресията на заболяването и наличието на груби по калибър неосъдове

Chi-Square Tests

Груби неосъдове на ОСТА		МДСВ в едното око		Общо	X ²	df	p
		Не	Да				
Не	N	127	70	197	16,95	1	< 0,001
	%	81,4%	58,8%	71,6%			
Да	N	29	49	78			
	%	18,6%	41,2%	28,4%			
Общо	N	156	119	275			
	%	100,0%	100,0%	100,0%			

Въз основа на диагностичните изследвания при пациентите с влажна форма на МДСВ ние предлагаме следния работен протокол, който да подпомогне точната диагностика на заболяването и да оцени наличието на рискови фактори за прогресия на състоянието.

РАБОТЕН ПРОТОКОЛ

При пациенти с влажна форма на МДСВ.

1. Зрителна острота:

VOD-

VOS-

2. Цветна снимка на очното дъно на двете очи – особености:

3. ФА на двете очи:

– Наличие на изтичане на багрило – наличие на активна неоваскуларизация.

– Тип на неоваскуларната мембрана – класическа, окултна, смесена.

4. OCT изследване на двете очи

Rtvue (Optovue)

Hd line, Cross line, EMM5.

3D OCT 2000 Topcon

H D line, 5 Cross line, 3 D Macula.

- ***Наличие и големина на неоваскуларизацията.***
- ***Наличие на някои от признаците на прогресия:***
 - Нарушения на целостта на слоя на РПЕ
 - Отлепване на РПЕ.
 - Хиперрефлексивност на лезията.
 - Наличие и степен на ретинния едем.

5. OCT-A

- Наличие на неоваскуларна мембрана (субклинична)
- Разположение на неоваскуларната мембрана
- Структура на мембраната
- Плътност на съдовата мрежа на неоваскуларната мембрана.

6. Автофлуоресценция – само в случай на съмнение за състоянието и целостта на РПЕ в лезията.

Работният протокол ни даде възможност да диагностицираме много точно пациентите с влажна форма на макулна дегенерация и да определим основните рискови фактори за прогресия на състоянието.

Основните рискови фактори за прогресия при пациенти със суха форма на МДСВ според нашите изследвания са следните:

- 1. Площ на друзите над 100 μ**
- 2. Големина на друзите над 300-350 μ**
- 3. Наличие на хипорефлексивни зони**
- 4. Разкъсване целостта на линията на РПЕ**
- 5. Географска атрофия с лентовиден тип на афтолуоресценция в граничната зона.**
- 6. Географска атрофия с дифузен тип на автофлуоресценция в граничната зона.**

7. Наличие на субклинична неоваскуларизация, видима само на ОСТ-А.

От изброените по-горе критерии с най-голямо значение са 6 и 7, тъй като те носят съответно 8 пъти и 15 пъти по-голям риск от прогресия, при пациентите, които ги имат. Изчислихме индекса на риска на изследваните от нас пациенти, като за всеки показател без 6 и 7 давахме по 1 точка, когато беше наличен.

Наличието на критерии 6 или 7 носеше по 2 точки към индекса на риска. Отчитайки индекса на риска при изследваните от нас 134 пациенти със суха фопма на МДСВ, установихме че: 76 пациенти имаха индекс на риска от прогресия 4 или по-малък; 14 пациенти бяха с риск 5; 44 пациенти бяха с индекс 6-9.

Проследявайки пациентите за срок от 2 години ние установихме, че пациентите с индекс на риск 4 и по-малко не показват прогресия на заболяването за две години. Най-често при тях състоянието се стационарира и не прогресира.

При пациентите с индекс на риска 5 при 25% се наблюдава прогресия на състоянието след 1 година.

При пациентите с висок индекс на риск 6 и повече в 50% се наблюдава прогресия на състоянието в рамките на първата година. Колкото по-висок е индексът на риска над 5, толкова по-голяма е вероятността от прогресия на заболяването за 1 година.

Основните рискови фактори при пациентите с влажна форма на МДСВ са следните:

- 1. Окултен тип неоваскуларна мембрана (тип 1 или 2).**
- 2. Големина на неоваскуларната мембрана над 3 mm.**
- 3. Отлепване на РПЕ – серозно, серохеморагично, хеморагично.**
- 4. Наличие на дифузен едем до 350 μ .**
- 5. Наличие на кистовиден едем над 350 μ .**
- 6. Структура на мембраната тип медуза на ОСТ-А.**
- 7. Структура на мембраната тип гломерул на ОСТ-А.**

От изброените критерии с най-голямо значение са 2 и 5, увеличаващи риска от прогресия до 5 и 3 пъти съответно.

Изчисли се индекс на риска при пациентите с влажна форма на МДСВ, като за наличието на някой от посочените критерии без 3 и 5 се даваше по 1 точка, а за наличието на критерии 3 и 5 по 2 точки.

Изчислявайки индекса на риска при проследяваните от нас пациенти с ексудативна форма на МДСВ, се оказа, че: От 126 пациенти с влажна форма на МДСВ при 36 имахме индекс на риска 3 или по-нисък, като при никой от тях не се наблюдава прогресия на състоянието за периода от 2 години. При 24 души индексът на риска беше 4-5, като само при 30% се наблюдаваше прогресия на състоянието, която се проявяваше още до края на първата година. При 52 пациенти с висок риск 6 и над него до 9 се наблюдаваше бърз ход на прогресия към фиброзен стадий още през първата година. И в тази разглеждана група по-високият индекс на риска означава по-голяма възможност за прогресия на състоянието.

4.3. Резултати от патоморфологични изследвания на субретинни мембрани на пациенти с влажна форма на МДСВ

От групата на пациентите с влажна форма на МДСВ – 126 на брой, беше обособена отделна подгрупа на пациенти с МДСВ и хемофталам – 11 очи, при които се наложи извършването на ППВ, при която беше вземан материал – субретинна тъкан за електронномикроскопско и имунохистохимично изследване. Електронномикроскопските снимки бяха правени по стандартен протокол за трансмисионна и скенираща електронна микроскопия. Хистохимичното изследване със Сафранин О е предложено за първи път от Shepard и Mitchel, като с него се цели да се докажат протеогликановите комплекси в екстрацелуларния матрикс.

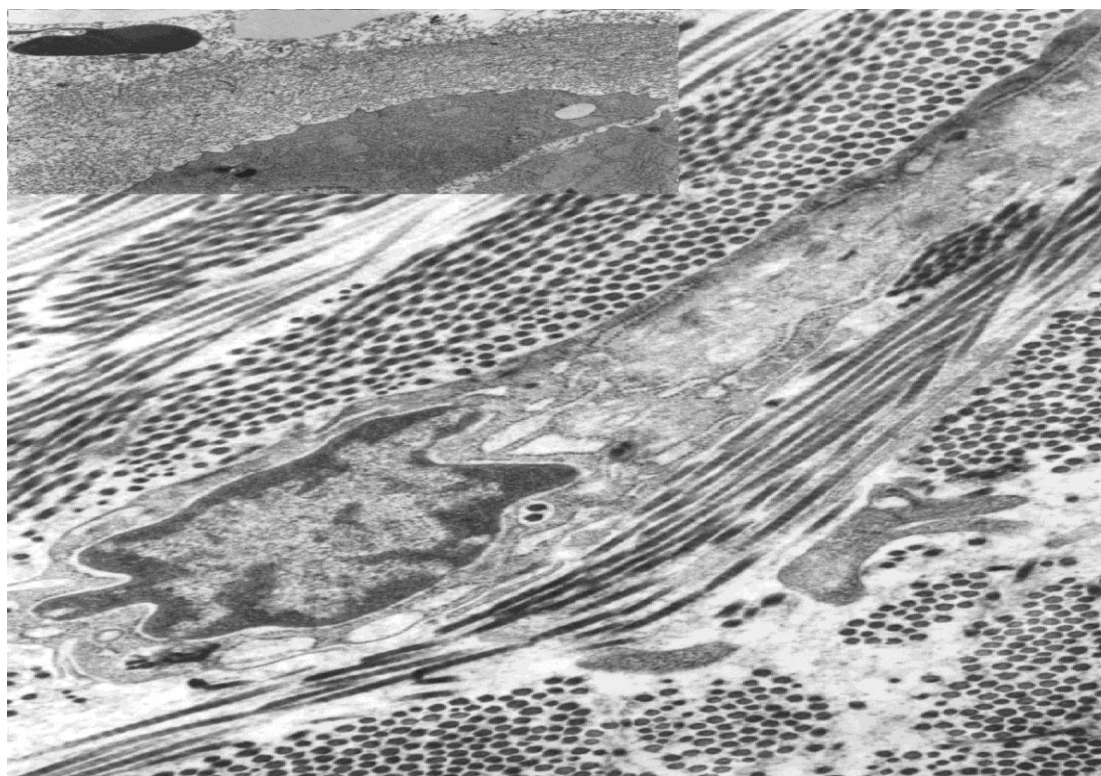
При този метод оцветяването на протеогликановите комплекси се извършваше едновременно с фиксацията и дехидратацията, като от особено важно значение е поддържането на определено Ph на средата (6.8-7.2), при ко-

ето се запазва целостта на протеогликаните. Този метод даваше възможност за количествен анализ чрез използването на Image Analyzer.

При всички наблюдавани от нас пациенти – 11 на брой се диагностицира влажна форма на МДСВ с изразена в различна степен неоваскуларна мембрана (CNV).

Субретиналните мембрани бяха изградени основно от фибробласти с различна степен на зрялост, единични или групирани РПЕ клетки и множество елементи на кръвта, най-често макрофаги, еритроцити и левкоцити. Това може да се види добре на фиг. 65.

Прави впечатление, че основно се срещат „зрелите фибробласти“. Те се характеризират с подчертано вретеновидна форма и среден ядрено-цитоплазмен индекс.



Фиг. 65. Електронномикроскопски образ на субретинните мембрани на пациентите с МДСВ. Виждат се зрели фибробласти и изобилие на колаген и елементи на междуклетъчния матрикс

Повечето притежават добре развит груб ендоплазмен ретикулум. Митохондрияте са овални и често срещани. Наблюдават се често комплекси

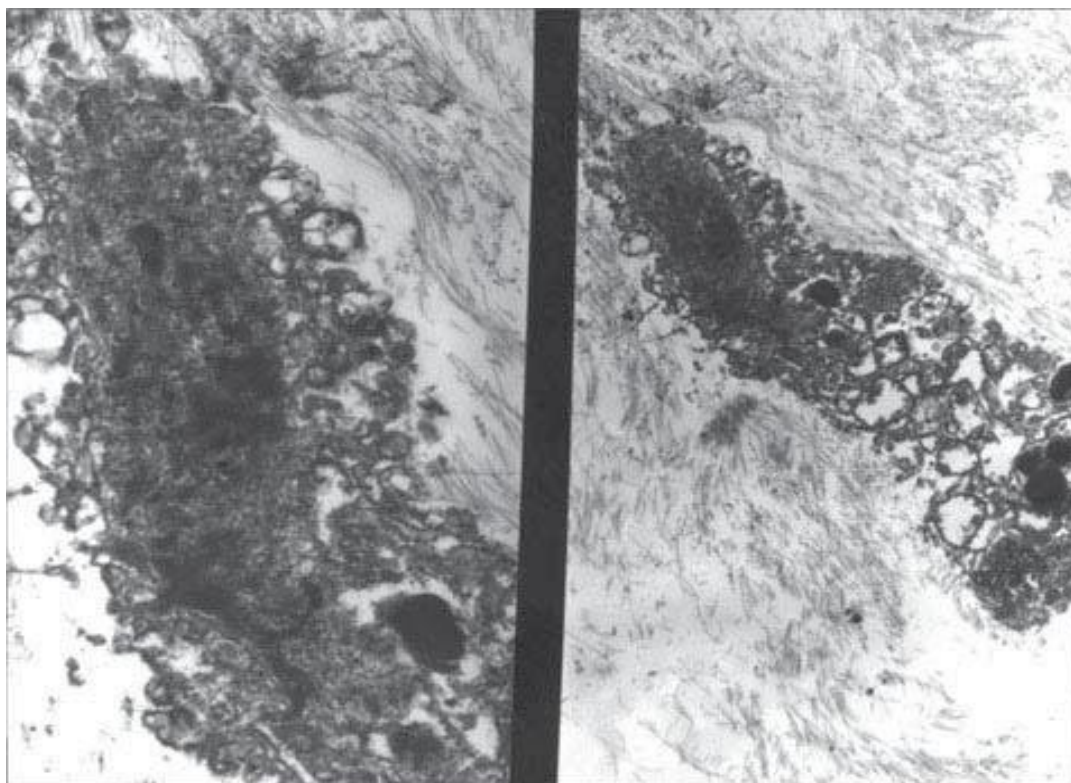
от рибозоми и апарат на Голджи. Тези клетки се характеризират с добре изразена синтетична активност, за което свидетелства големият брой колагенови влакна в междуклетъчното пространство.

Интересен е фактът, че с увеличаване давността на заболяването се увеличава и броят на фибробластите в мембраната, с което нараства и количеството на елементите на междуклетъчния матрикс и колаген. С времето нараства фибротичната активност на субретинната мембрана.

При пациентите, лекувани с анти-VEGF медикаменти – 5 случая, се наблюдаваха множество клетки – фибробласти и РПЕ клетки с изразени дегенеративни промени. Обикновено тези клетки са с неправилна форма.

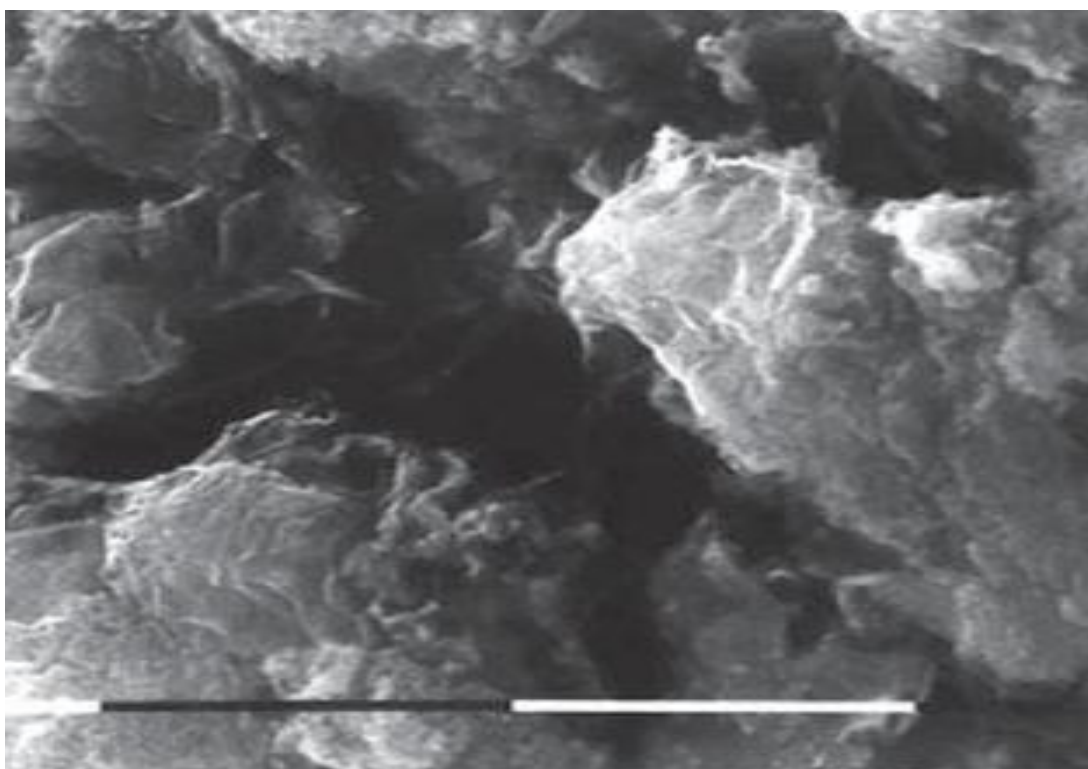
Притежават пикнотично ядро, множество раздути или разкъсани митохондрии и везикули и вакуоли в клетъчната цитоплазма.

Често плазмалемата е разкъсана, а понякога дегенеративните промени са толкова напреднали, че не е възможно да се различат отделните клетъчни органели (фиг. 66).



Фиг. 66. Дегенериращи клетки от субретинните мембрани в напреднал стадий на МДСВ

Същите промени се наблюдават и на сканиращата електронна микроскопия, където дегенеративните промени се изразяват в набръчкване на плазмалемата. Вижда се също, че са изчезнали междуклетъчните свързвания и клетките се разполагат сред богата мрежа от колагенни влакна и протеогликанови комплекси (фиг. 67).

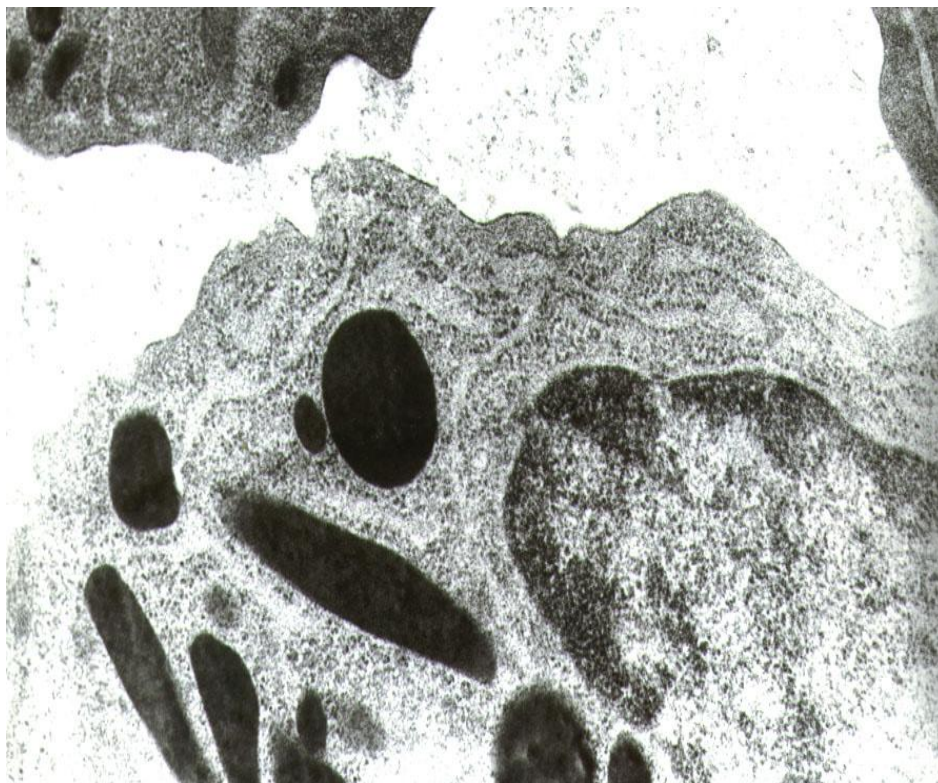


Фиг. 67. Скенограма на субретинните мембрани на пациент с влажна форма на МДСВ. Наблюдават се клетки с белези на дегенерация – набръчкана плазмалема

При оцветяване със Safranin O се наблюдава повишаване на реакционния продукт както в териториалния, така и в интертериториалния матрикс. Това са структури, богати на матриксни елементи. Вижда се гъста мрежа от протеогликанови комплекси в междуклетъчното пространство. Не само броят на протеогликаните се увеличава, но и количеството на глобуларните субединици със средни размери. Това личи и при изследването с Image analyser техниката. Увеличеното количество протеогликанови комплекси има значение за стабилността на мембраните и нейните контрактилни свойства.

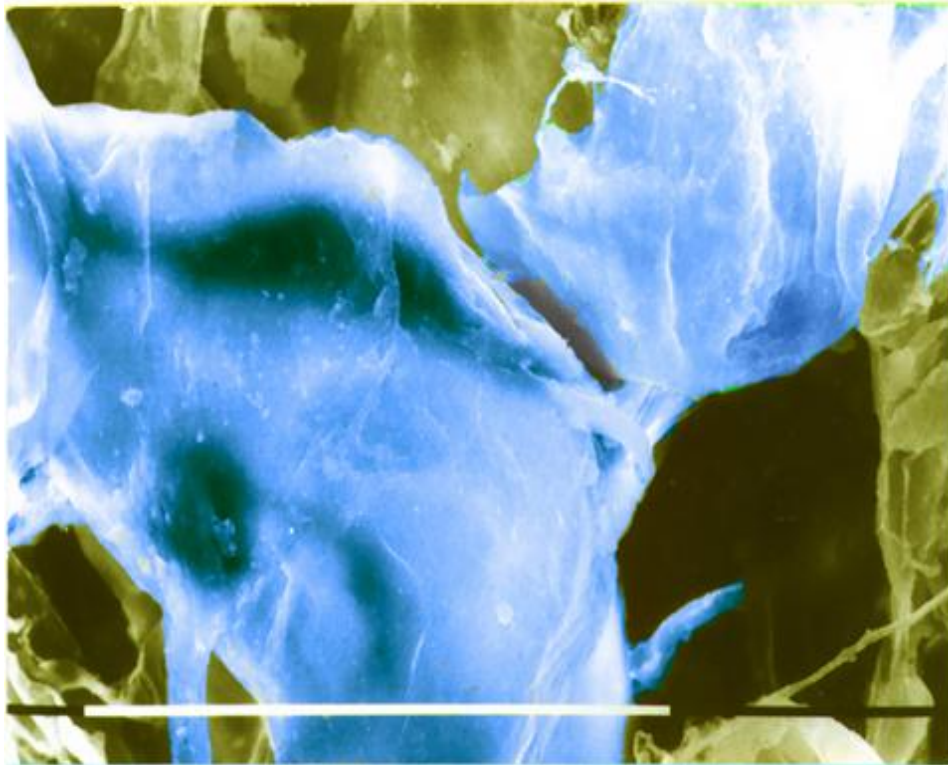
Наблюдавахме единични или групирани РПЕ клетки. Нормално РПЕ са хексагонални клетки. Най-често в субретинните мембрани ги наблюдавахме

на групи с малка и средна големина. Те имат голям ядрено-цитоплазмен индекс и ексцентрично разположено ядро (фиг. 68). Притежават различно големи цитоплазмени израстъци, някои от които се свързват помежду си чрез специализирани контакти от типа на zonulae occludens.



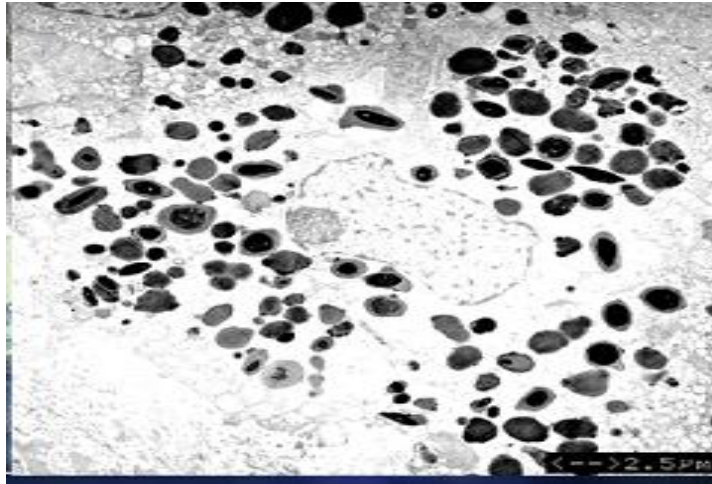
*Фиг. 68. Ретинна пигментно-епителна клетка – норма. Наблюдават се добре изразен г
ранулиран ендоплазмен ретикулум и множество пигментни гранули (Gr)
с различна форма и големина*

Много типичните свързвания, характерни за РПЕ, се визуализират най-добре на сканиращата електронна микроскопия, където се вижда, че връзката е здрава и специфична, подобно на ключ към ключалка (фиг. 69).



Фиг. 69. Специфични свързвания между РПЕ клетки от тип *zonulae occludens*, участващи в кръвно-ретинната бариера – сканираща електронна микроскопия

В изследваната от нас фиброваскуларна тъкан от субретинните мембрани на пациенти с МДСВ се наблюдаваха дегенеративни промени. Най-често срещано беше намаляването на броя на меланозомите в клетките за сметка на увеличени брой на липофусцинови гранули и везикули, съдържащи токсични биопродукти (фиг. 70). Заедно с тези морфологични белези на стареенето в РПЕ се наблюдаваха, чисто дегенеративни промени, като най-вече се нарушаваха междуклетъчните контакти и по този начин се осуетяваше бариерната функция на тези клетки. В някои от случаите се достига до пълно запълване на клетъчната цитоплазма с липофусцинови гранули, които са унищожили останалите клетъчни органели и са довели до смъртта на клетките.



Фиг. 70. Възрастово променени РРЕ клетки. В цитоплазмата се натрупват липофусцинови гранули, които изместват меланозомите и запълват почти цялата клетъчна цитоплазма, пречейки на клетката да функционира нормално

Вследствие на действието на анти-VEGF лекарствените средства се наблюдава увеличаване на броя на дегенеративно променените клетки на РРЕ, както и на тези с липсващи или разкъсани междуклетъчни контакти. Именно това е според някои автори причината за развиващата се атрофия при някои от пациентите след продължителна употреба на анти-VEGF, както и за случаите на разкъсване на РРЕ, което е усложнение на терапията.

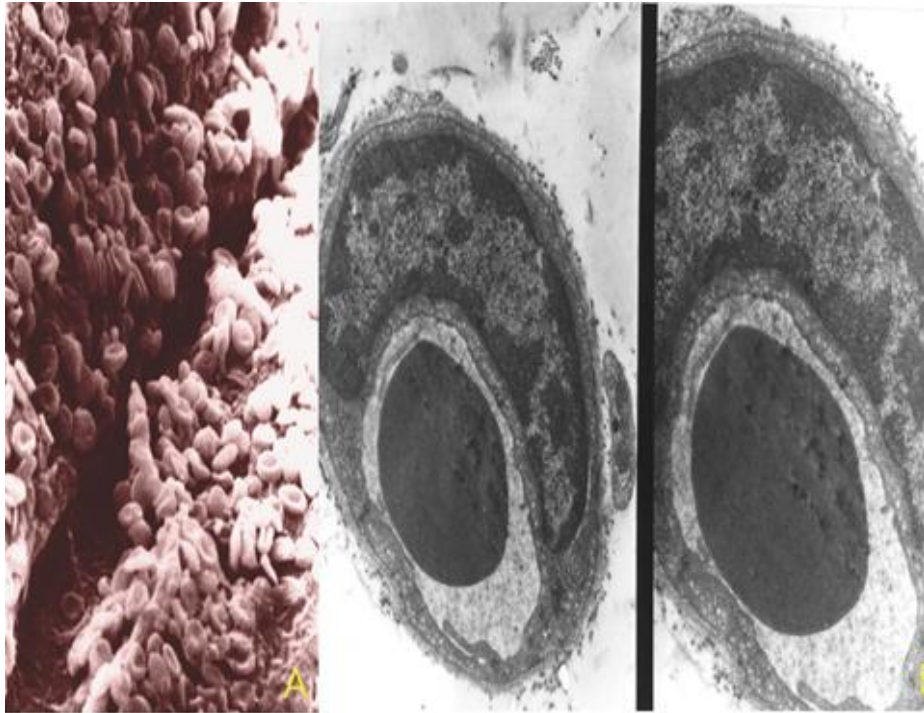
Субретинните мембрани при МДСВ са преди всичко фиброваскуларни мембрани, които изобилстват на съдове с различна степен на зрялост. Макар и по-трудно поради оскъдното количество материал, който получавахме, ние имахме възможност да изучим структурата на тези неосъдове. Характерно беше, че наблюдавахме както капиляри на млади (ранни) неосъдове, така и на „зрели“ (развити) неосъдове. Капилярите на младите неосъдове са с по-широк лумен. Тяхната стена е изградена от един тънък слой фенестрирани ендотелни клетки, с приплесната форма и ексцентрично разположени ядра (фиг. 71). Клетките не образуват контакти помежду си. В цитоплазмата им липсват пиноцитарни везикули. Около ендотелните клетки се наблюдават единични колагенни влакна, които контактуват директно с плазмалемата им. Липсват перицити и не се наблюдава образувана базална ламина. Поради фенестрирания тип на ендотелните клетки липсва базална мембрана и нормални междуклетъчни контакти, младите неосъдове са изключително пропускливи за плаз-

ма и формени елементи на кръвта, които свободно минават през съдовата стена.



Фиг. 71. Капиляр на млад неосъд от субретинна мембрана на влажна форма на МДСВ. Много ясно се виждат фенестрираните ендотелни клетки и липсата на базална мембрана

„Зрелите“ неосъдове се наблюдаваха по-рядко. Те се характеризираха с по-тесен лумен и добре оформена базална мембрана. Наличен беше един слой ендотелни клетки от фенестриран тип, с продълговата форма, с наличие на междуклетъчни свързвания между ендотелните клетки. Специализираните междуклетъчни контакти от типа *zonulae occludens*, характерни за нормалните съдове, тук напълно липсват (фиг. 71). Цитоплазмата на клетките съдържа известно количество пиноцитни везикули, както от луменната повърхност, така и в периферната част. Именно те са белег за незрялост и увреда на ендотелните клетки. И в капилярите на „зрелите“ неосъдове не се наблюдават перицити, което ги прави неустойчиви, късливи и лесно податливи на въздействието на външни фактори.



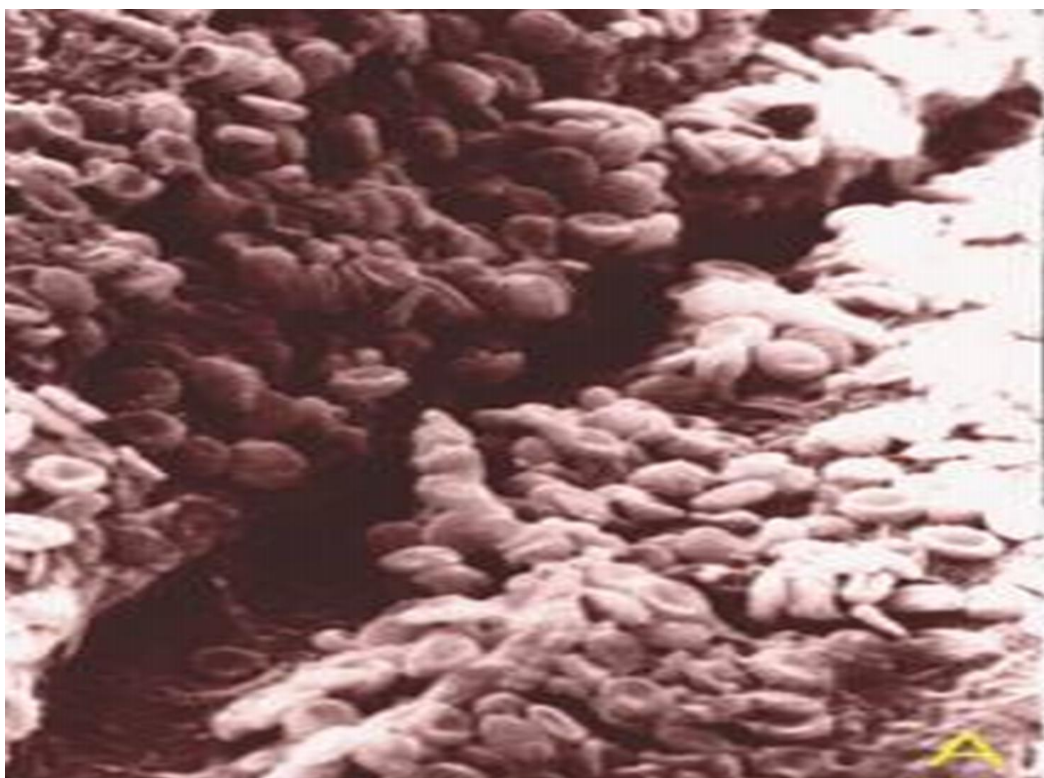
Фиг. 72. Капиляри на „зрели“ неосъдове, които се откриват във фиброваскуларната тъкан на субретинните мембрани при влажна форма на МДСВ

При пациентите прилагали anti-VEGF вещества, се наблюдаваха *сериозни промени в морфологичните характеристики на изследваните мембрани*. Една от най-честите промени беше намаляването на фенестрацията на ендотелните клетки. Те губят своята фенестрираност и по този начин съдът макар и в малка степен намалява своята пропускливост. Клетките запазват своята приплесната форма и разпределение в един тънък слой без базална мембрана. На някои места се наблюдават „опити“ за междуклетъчни свързвания, но те са на доста ниско ниво (фиг. 73).



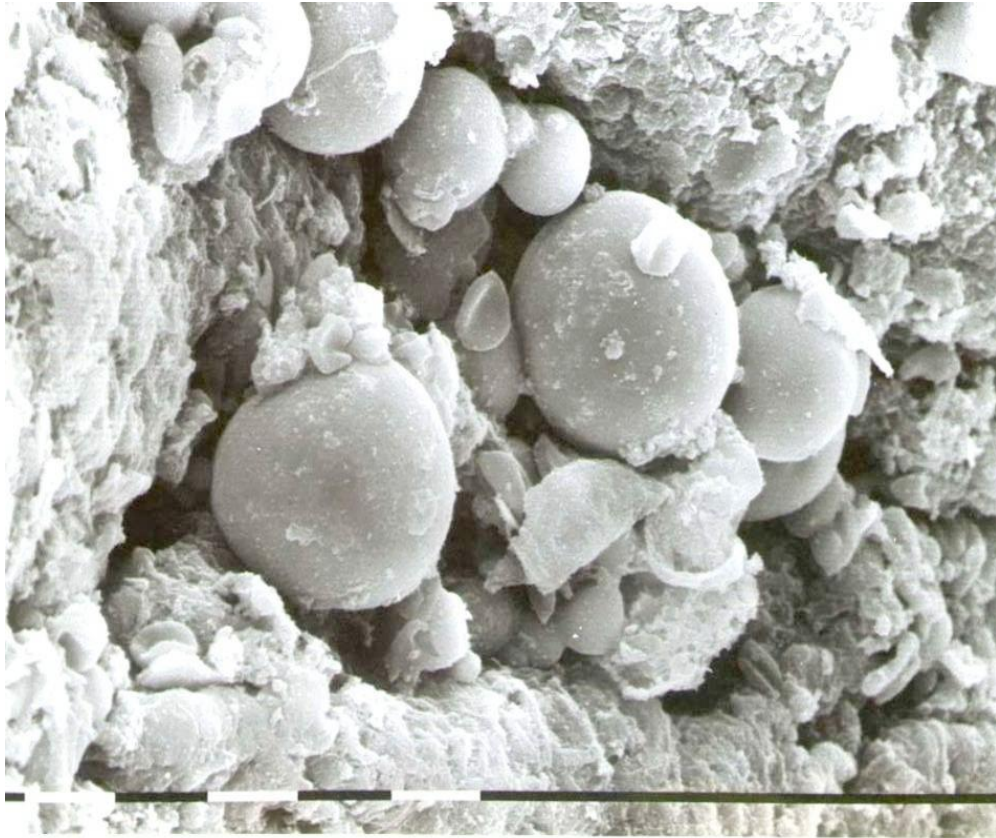
Фиг. 73. Електронна микроскопия на капиллярите на неосъдовете след приложение на анти-VEGF медикаменти. Вижда се ясно липсата на фенестрация на ендотелните клетки след терапията, сравнено с неосъдовете на пациенти без лечение – малката снимка

При пациентите на лечение наблюдавахме струпвания на тромбоцити и еритроцити в капиларния лумен, които най-често водеха до развитието на тромботична микроангиопатия, с последваща оклузия на съответните неосъдове (фиг. 74). Всичко това води до намаляване на съдовата пропускливост, спиране на пролиферативните процеси и оклузия на съществуващите неосъдове. При пациентите, лекувани с Aflibercept, процесът на тромботична микроангиопатия е много по-силно изразен, отколкото при лечението с други препарати.



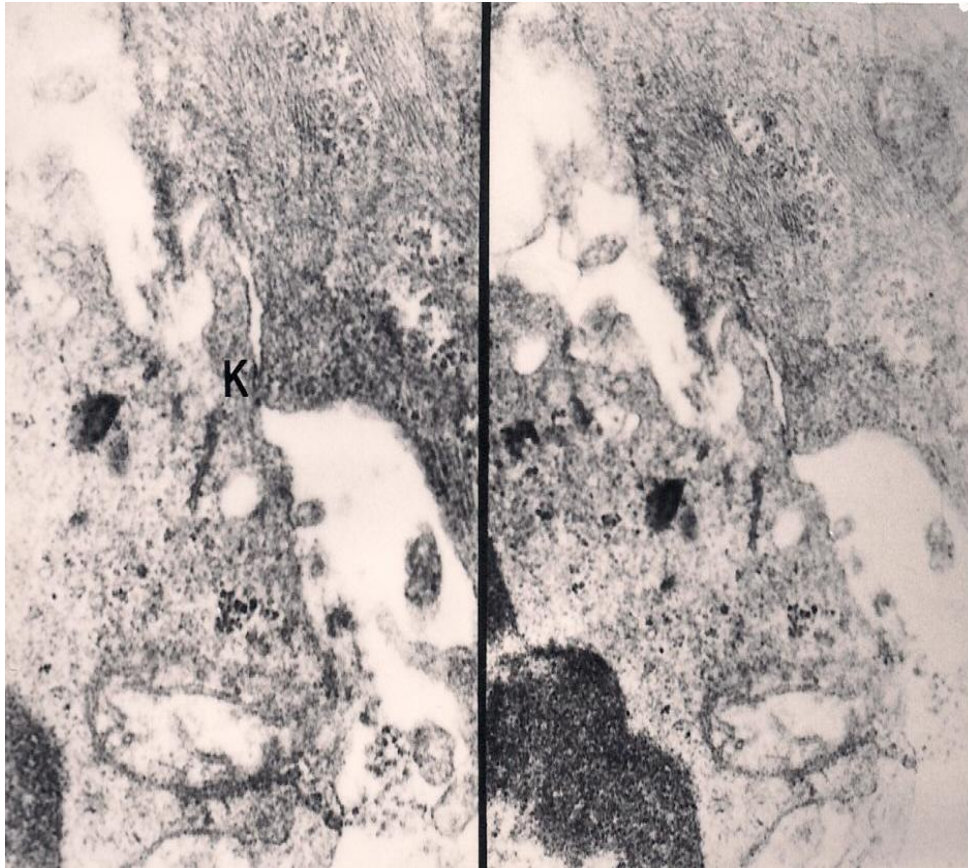
Фиг. 74. Сканираща електронна микроскопия, която показва струпване на еритроцити и тромбоцити в лумена на съда при влажна форма на МДСВ и след терапия с анти-VEGF медикаменти. Развива се тромботична микроангиопатия

В този случай наблюдаваме и включването на множество макрофаги и левкоцити, които заедно с тромбоцитите и еритроцитите запълват и оклудират капилярния лумен (фиг. 75). В някои от случаите на лекувани пациенти наблюдавахме регресиращи съдове. Характерно за тях беше наличието на дегенеративни промени в ендотелните клетки, разкъсани междуклетъчни контакти. Често беше нарушена и целостта на плазмалемата с поява на пикнотични ядра. Нарушена беше и целостта на базалната ламина в регресиращите съдове.



Фиг. 75. Оклузивна микроангиопатия в неосъдовете след приложението на aflibercept за лечението на влажна форма на МДСВ

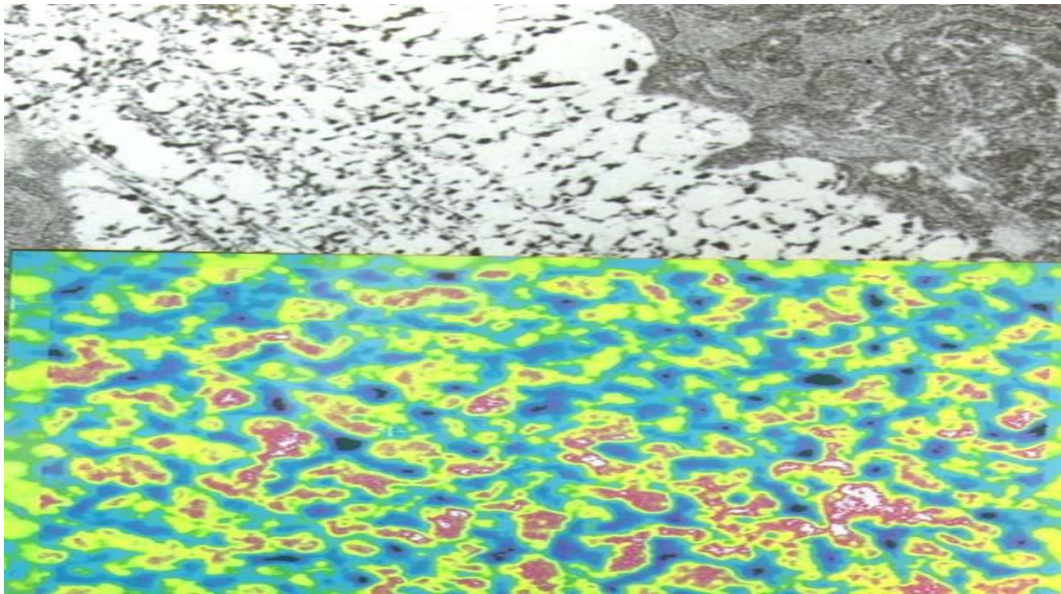
Междуклетъчните контакти като правило липсват в такива съдове (фиг. 76). Колкото по-продължителна беше анти-VEGF терапията, толкова по-голям беше броят на регресиращите неосъдове в изследваната тъкан. При оцветяването със Safranin O се наблюдава повишаване на реакционния продукт както в териториалния, така и в интертериториалния матрикс. Субретинната тъкан на неоваскуларните мембрани при влажна форма на МДСВ е богата на матриксни елементи. Вижда се гъста мрежа от протеогликанови комплекси в междуклетъчното пространство.



Фиг. 76. Регресиращи съдове с дегенериращи ендотелни клетки и разкъсани междуклетъчни контакти

Не само броят на протеогликаните се увеличава при формирането на неоваскуларните мембрани, но се увеличава количеството на глобуларните субединици със средни размери. Това личи и при изследването с Image analyser техниката (фиг. 77). Увеличеното количество протеогликанови комплекси има значение за стабилността на мембраната и нейната устойчивост.

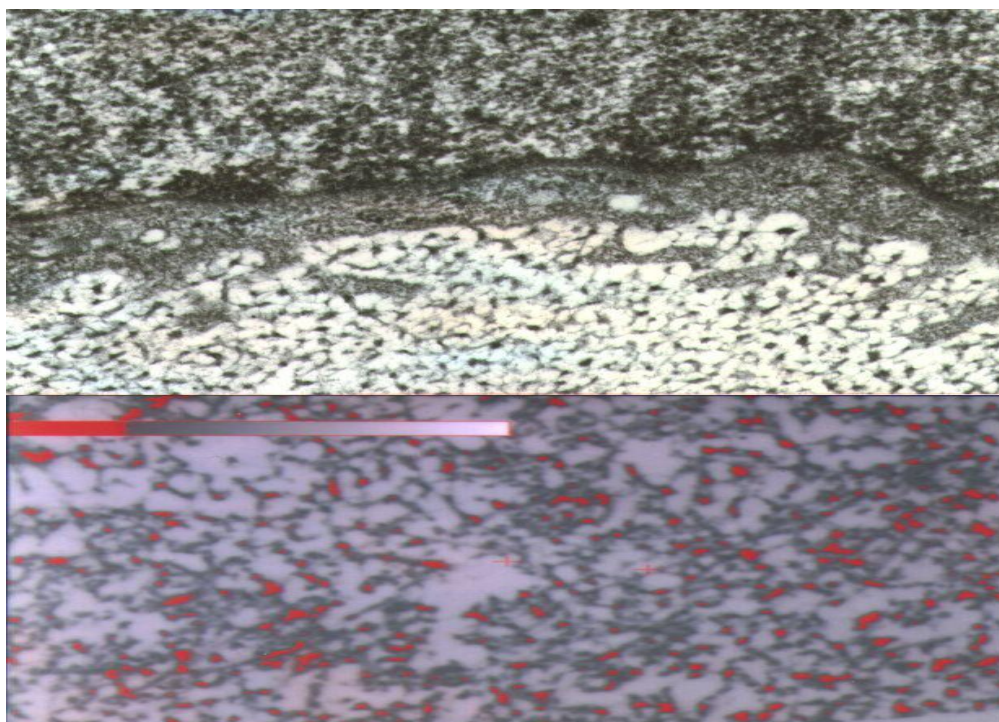
По-различно е положението при субретинните мембрани на пациенти, лекувани с анти-VEGF препарати. При нормални условия екстрацелуларният матрикс на неоваскуларните мембрани при пациенти с МДСВ има структурата на добре организирана мрежа. В нея отделните протеогликанови комплекси са разположени равномерно и на еднакви отстояния едно от друго.



Фиг. 77. Хистохимично изследване за протеогликанови комплекси със Safranin O. Наблюдава се реакционен продукт, равномерно разпределен в матрикса. Изследването с Image analyser показва повишаване на глобуларните протеогликанови субединици със средни размери

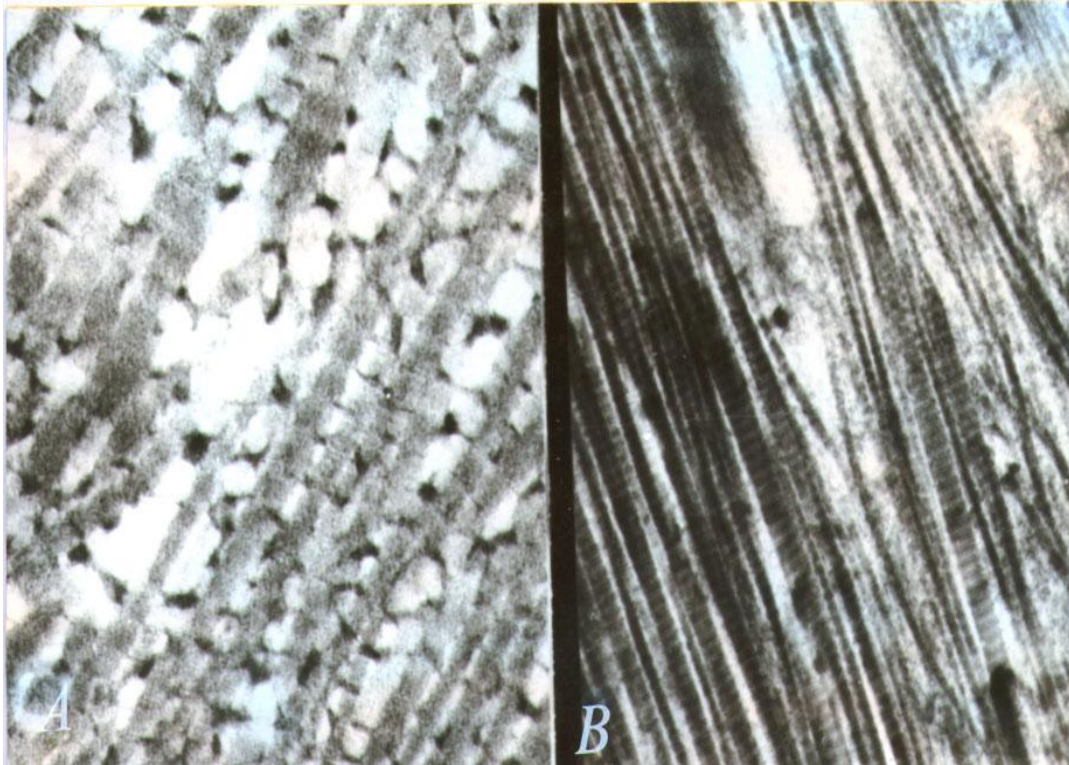
Тъй като това са фиброваскуларни мембрани, богати на колагенни влакна, много често протеогликаните се свързват с помощта на специални на фини фибриларни структури – мостчета, за колагенните влакна. Обикновено едно колагенно влакно се свързва с най-много два протеогликанови комплекса, които се разполагат на еднакво разстояние от него и така се формира една плътна, равномерна и устойчива колаген-протеогликанова мрежа, отговорна за стабилитета на разглежданата структура. Именно тези структури се визуализират при хистохимичното оцветяване на междуклетъчния матрикс със Safranin O. На по-голямо увеличение на електронограмите се вижда, че самите колагенни влакна са изградени от повтарящи се светли и тъмни ивици. В централната част на всяка светла ивица се открива тъмна ивица. Обикновено протеогликановите комплекси се свързват с фибриларните повлекла за тъмната ивица на колагенните влакна. Промените, които наблюдавахме под въздействието на анти-VEGF медикаментите, бяха свързани с пълна промяна на структурата на междуклетъчния матрикс. При някои от мембраните беше налице общо

намаление на броя на протеогликаните, с преобладаващ дял на средните по големина глобуларни субединици (фиг. 78).



Фиг. 78. *Намаление на броя на протеогликаните в екстрацелуларния матрикс на субретинния тъкан на пациенти, лекувани с анти-VEGF препарати. Намалават най-вече средните по големина протеогликанови комплекси*

В други случаи, най-вече след по-продължителна терапия, се наблюдаваше пълно нарушаване на нормалната колаген-протегликанова мрежа в екстрацелуларния матрикс. Хистохимичното изследване със Safranin O показва в този случай, че е разрушена връзката между колагена и протеогликаните. Наблюдаваните преди това протеогликанови мостчета между съседните колагенни влакна са изчезнали и на тяхно място се наблюдава безструктурна осмиофилна материя. В резултат на липсващите мостчета от протеоглигани равномерното разпределение на компонентите на междуклетъчния матрикс се нарушава. Някои от колагенните влакна са прилепнали едно до друго, а други са значително раздалечени (фиг. 79). Такова слепване на колагенните влакна води до намалена устойчивост на структурата, нейната нестабилност и лесна късливост. Нормалните матриксни взаимоотношения са разрушени в голяма степен, което пречи на разрастването на тази пролиферативна тъкан.

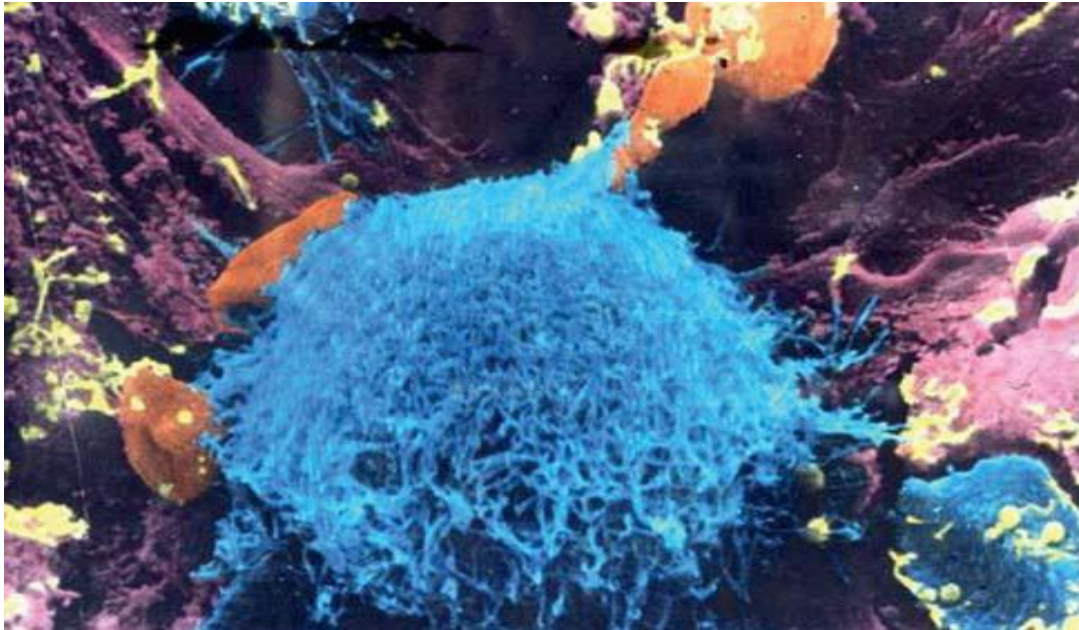


Фиг. 79. Организация на междуклетъчния матрикс на субретинните пролиферации при пациенти с МДСВ. **А.** Налична е равномерна колаген-протеогликанова мрежа. **Б.** Под въздействие на анти-VEGF терапията се наблюдава нарушаване на структурата на матрикса, разкъсване на връзките между колагена и протеогликаните и тяхното слепване

В голяма част от изследваната тъкан наблюдавахме клетки на възпалението – най-вече макрофаги и левкоцити. Възпалението е бърз отговор на организма към външна заплаха, чиято основна цел е да се елиминира чужд или повреден материал, като се активира цялата каскада от клетки на възпалението. Един от основните механизми на възпалителните реакции е моноцит-предизвиканата фагоцитоза. При нея се включват имунни клетки от миелоидния ред, които се срещат в много тъкани. Такива са макрофаги, микроглиални клетки, левкоцити, които се оказват с ключова роля при началото на възпалителните процеси. Като краткосрочен ефект възпалението е крайно необходимо, но хроничното, дълговременно възпаление е с вреден и патологичен ефект.

Приема се, че МДСВ е свързана с развиващо се, хронично възпаление на ниво ретинен пигментен епител, брухова мембрана, предизвикано от преко-

мерното отлагане на отпадни продукти на обмяната – базални ламинарни депозити от РПЕ клетки. С това може да бъде обяснено и по-голямото количество на макрофагеални клетки в разглежданата субретинна тъкан при пациенти с влажна форма на МДСВ. Тези клетки бяха значително повече при по-възрастни пациенти. Те са с неправилна форма и притежават дълги цитоплазмени израстъци, с които участват във фагоцитарните процеси (фиг. 80).



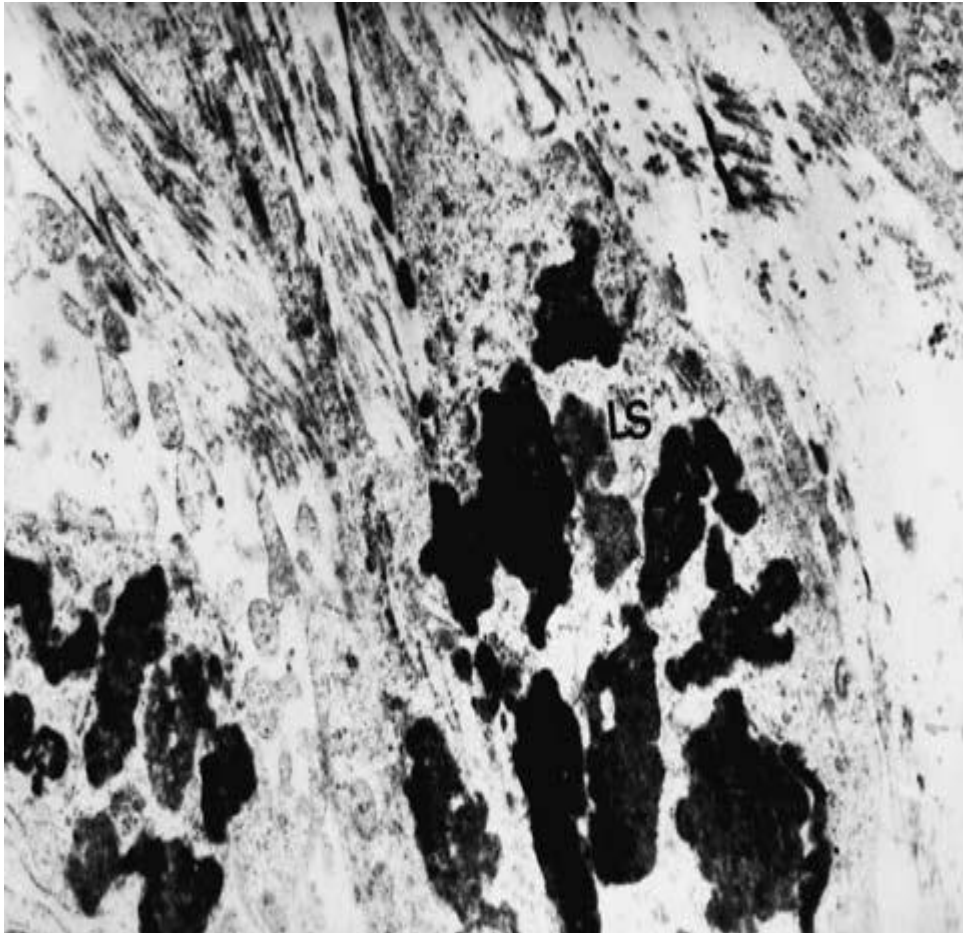
Фиг. 80. Сканираща електронна микроскопия на макрофаг с множество псевдоподии

В тях могат да се наблюдават както групи от прости и комплексни лизозоми, така и вакуоли, изпълнени с разграждащи се материи. Наблюдаваните от нас макрофаги бяха с по-големи размери и значително по-издути от нормално наблюдаваните. В тях имаше натрупване на пигментни гранули в цитоплазмата. Вероятно това е свързано с фагирането на РПЕ (фиг. 81).



Фиг. 81. Сканираща електронна микроскопия на субретинните мембрани при влажна форма на МДСВ – виждат се добре множество макрофаги и други елементи на кръвта

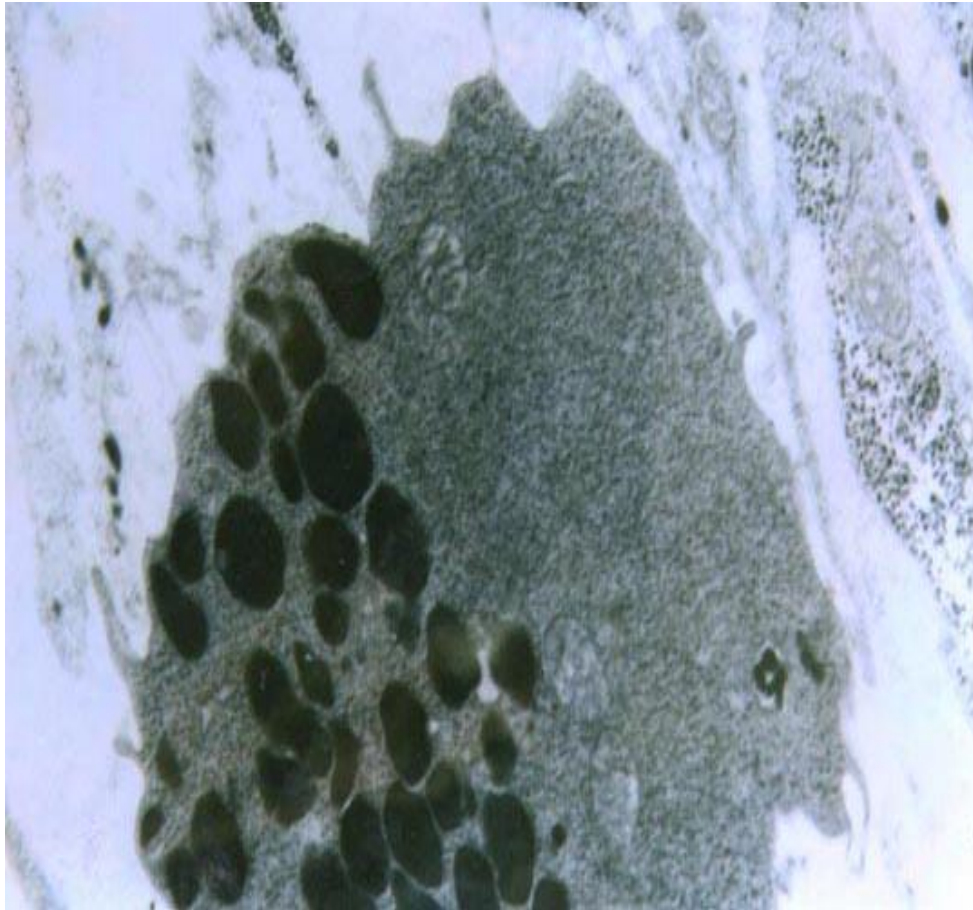
Особено характерни за макрофагите при МДСВ са множеството хемосидеринови или меланинови струпвания. Тези струпвания бяха в различен стадий на дегенерация и се наблюдаваха като съдържимо на вторични вакуоли или под формата на цитоплазмени включвания, или като резидуални тела (фиг. 82).



Фиг. 82. Меланинови струпвания в макрофагите на разглежданата тъкан, белег на засилена фагоцитоза на дегенериращи РПЕ клетки

Някои от макрофагите и левкоцитите се наблюдаваха и около капилярите на неоваскуларните мембрани. Други, разположени в близост до дегенеративно променени РПЕ клетки, показваха също дегенеративни промени – променена форма, намален брой на псевдоподиите, групирани цитофиламенти в клетъчната цитоплазма и множество меланозоми.

В най-крайните стадии се наблюдават напълно дегенерирани макрофаги, изпълнени с автофлуоресцентна материя и липофусцин (фиг. 83). Процесът много наподобява образуването на артероматозните плаки в съдовете.



Фиг. 83. Макрофаги с цитоплазма, изпълнена с меланозоми

Интересно е, че количеството на макрофагите е различно при пациенти, лекувани с различни анти-VEGF препарати. Много повече са тези клетки в субретинната тъкан на пациентите, лекувани с aflibercept, в сравнение с тези, лекувани с ranimizumab или нелекувани изобщо. Най-вероятно това се дължи на различната имуногенност на отделните препарати.

Макрофагите доказано имат про- и антиангиогенен ефект, който се подчинява на сложна и комплексна регулация, най-вече от цитокини. Приема се, че тези клетки имат дуалистична характеристика и влияят на неоангиогенезата. Оказва се, че дегенеративните промени в клетката влияят върху нейните възможности да участва в неоангиогенезата. Най-вероятно се загубва способността на клетките да инхибират и регулират процесите на ангиогенеза. Ето защо се приема, че клетките на възпалението имат ключова роля в патогенезата на МДСВ.

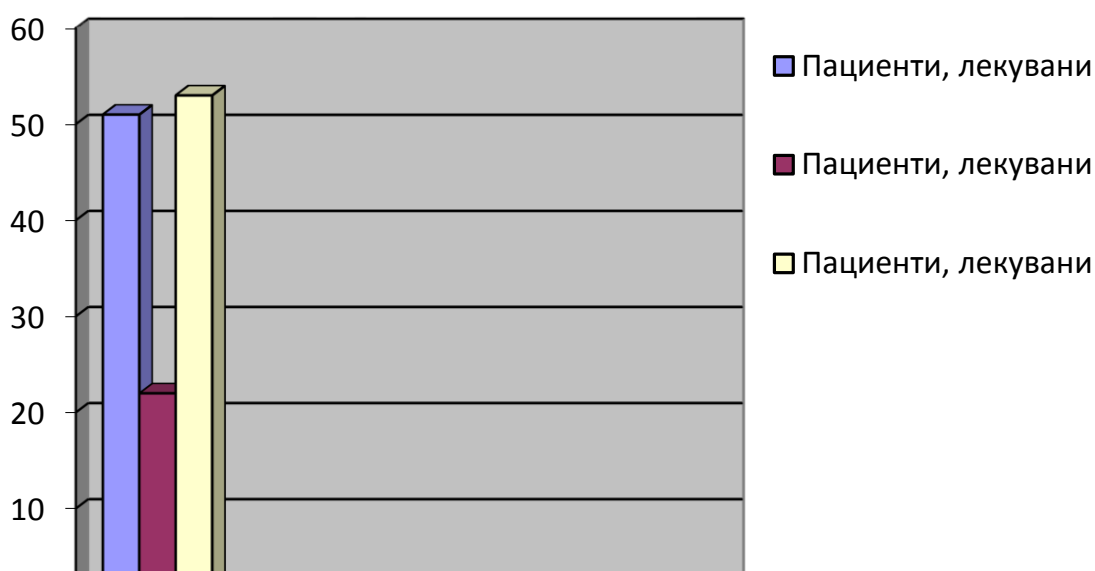
4.4. Резултати от приложението на анти-VEGF препарати при пациенти с влажна форма на МДСВ

В нашето проучване бяха включени 274 пациенти, разпределени в три основни групи:

1. Пациенти със суха форма на МДСВ – 134 пациенти.
2. Пациенти с влажна форма на МДСВ – 126 пациенти.
3. Атипични форми на МДСВ – 14 пациенти от тях 9 с РАП и 5 с ПХВ.

От своя страна пациентите с влажна форма на заболяването и тези с атипични форми бяха разделени на няколко подгрупи в зависимост от препарата, който се използваше при тяхната терапия. Имахме следните 3 подгрупи:

1. Пациенти с влажна форма на МДСВ, лекувани с Avastin (bevacizumab) – 41 пациенти.
2. Пациенти с влажна форма на МДСВ, лекувани с Lucentis (ranibizumab) – 12 пациенти.
3. Пациенти с влажна форма на МДСВ, лекувани с Eylea (aflibercept) – 73 пациенти.



Фиг. 84. Разпределение на пациентите с влажна форма на МДСВ в зависимост от препаратите, с които са лекувани

Процентното разпределение на изследваните пациенти в зависимост от използваните анти-VEGF медикаменти е, както следва:

40,4% от всички с влажна форма на МДСВ са лекувани с Avastin

17,4% от всички с влажна форма на МДСВ са лекувани с Lucentis

42,0% от всички с влажна форма на МДСВ са лекувани с Eylea.

Става ясно, че сравнително най-голям и почти еднакъв е делът на пациентите, които се лекуват с Eylea и Avastin, и значително по-малък на тези, лекувани с Lucentis.

Всички пациенти от извадката бяха изследвани подробно офталмологично, за зрителна острота, решетка на Амслер, както и с OCT, OCT-A, флуоресцеинова ангиография и автофлуоресценция.

OCT изследването се провеждаше на апарати Optovue (RTeVue), Topcon 3 D OCT 2000, а OCT-A на Angiophlex Zeiss. Цветните снимки, ФА снимките, ФАФ се извършваха на Topcon 2000 Fa Plus. Чрез система за компютърен анализ беше измервана и оценявана големината на лезиите при автофлуоресцентните снимки.

Интравитреалните инжекции са една от най-честите манипулации в офталмологията. Тя е свързана с поставянето на лекарствено вещество в стъкловидното тяло. Смята се, че за първи път интравитреалното приложение на медикаменти е предложено от Ohm, 1911, когато по време на ретинална хирургия поставя интравитреално въздух като въздушна тампонада. Оказва се, че интравитреалните инжекции са много ефективна селективна терапия. Чрез нея се постига максимален терапевтичен ефект, на точно желаното място при минимални системни компликации. Най-общо характеристиките на интравитреалните инжекции могат да се обобщят по следния начин:

- Много ефективна селективна терапия.
- Инжектиране на лекарства през pars plana в стъкловидното тяло.
- Максимален терапевтичен ефект и минимални системни компликации.
- Най-честата офталмологична манипулация в световен мащаб.

Основните приложения на интравитреалните медикаменти са при лечението на редица заболявания – МДСВ, диабетна ретинопатия, венозни оклу-

зии, енд офталмити и др. Най-общо приложението може да се покаже по следния начин:

- При лечението на макулна дегенерация, свързана с възрастта – въвеждане на anti-VEGF медикаменти.
- При лечение на диабетен макулен едем – въвеждане на anti-VEGF медикаменти или стероиди.
- При лечение на енд офталмити – въвеждане на антибиотици.

Основните видове медикаменти, използвани за интравитреални апликации в офталмологията, са:

- Anti-VEGF препарати за лечение на МДСВ, диабетна ретинопатия, оклузии на ретините вени.
 - Pegaptamib sodium
 - Bevacizumab
 - Ranibizumab
 - Aflibercept
- Друга група са интравитреалните стероидни импланти:
 - Triamcinolone acetate
 - Dexamethasone
 - Fluocinolone
- Антибиотици – при енд офталмити.
 - Vancomycin
 - Cefazoline
 - Ceftazidime
 - Amikacin

Анти-VEGF са група лекарствени средства, прилагани основно за лечението на МДСВ, тъй като се смята, че ефективно блокират растежните фактори VEGF, отговорни за неоангиогенезата.

VEGF е голямо семейство от тромбоцитни растежни фактори [9, 12]. В него са включени VEGF-B, VEGF-C и VEGF-D. Смята се, че VEGF-A има следните характеристики:

- Предиизвиква миграция на ендотелните клетки
- Има хемотаксични свойства
- Способства за увеличаване преживяемостта на ендотелните клетки
- Повишава пермеабилитета на съдовите стени
- Индуцира синтеза на матриксни металопроотеинази, плазминогенен активатор и др.
- Променя структурата на междуклетъчния матрикс.

VEGF се произвеждат от пигментно-епителните клетки, перицитите и ендотелните клетки в резултат на ретинна хипоксия. Те спомагат за активирането на възпалителните процеси и активират каскадата на неоангиогенезата. Инхибиторите на VEGF стопират процесите на съдова пролиферация и редуцират възпалителната реакция.

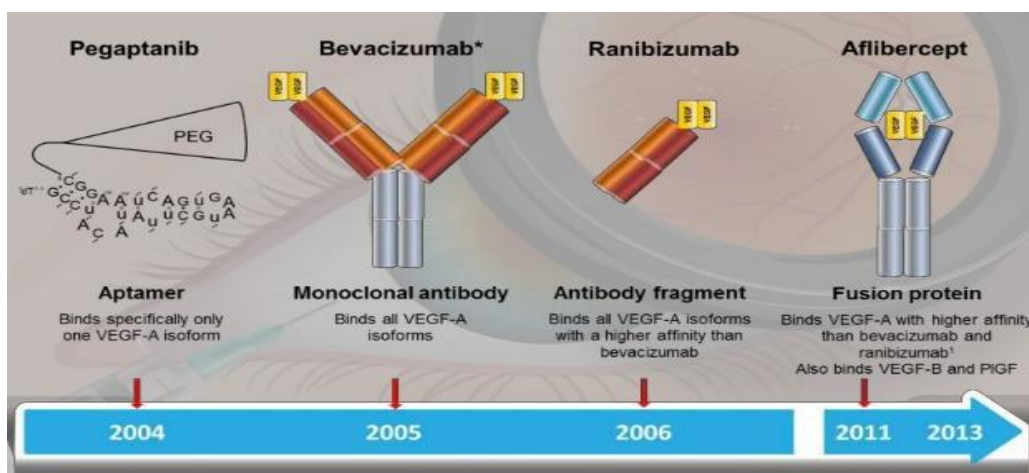
Основните характеристики на анти-VEGF препаратите, които имат значение при МДСВ и ДР, са че:

- Намаляват пропускливостта на съдовете и едема в тъканите.
- Намаляват прогресията на неосъдовете.
- Намаляват риска от витреална хеморагия.
- Имат бърз ефект до 24 h след приложението.
- Водят до подобрене на зрителната острота.

Основните механизми, по които тези лекарства въздействат при МДСВ са свързани с блокиране на молекулите на VEGF, с което се намалява образуването на неосъдове, намалява се пропускливостта на съдовите стени, намалява се отокът в ретината и всичко това води до стабилизиране на зрението. Най-често използваните при лечението на влажна форма на МДСВ лекарства са следните:

- Pegaptanib (Macugen),
- Bevacizumab
- Ranibizumab
- Aflibercept

От фиг. 85 се вижда, че това са сравнително нови лекарствени средства, които се появяват през 2004 г. В началото се използва само един аптамер, който въздейства силно селективно само на VEGF-A. По-късно се използва цяломоноклонално антитяло – *Bevacizumab* (Avastin), свързващо се с всички изоформи на VEGF факторите, но с не толкова добра пенетрация поради голямата молекула. През 2006 се появява *Ranibizumab* (Lucentis), който представлява само фрагмент от моноклонално антитяло и е с пъти по-висока прониквателна способност – свързва всички изоформи на VEGF факторите и е с пъти по-висок афинитет от bevacizumab. През 2011-2013 г. се появи Aflibercept (Eylea), който представлява човешки протеин с по-голям афинитет на свързване към VEGF-A от досега съществуващите, но който също се свързва с VEGF-B и плацентарния растежен фактор.



Фиг. 85. Видове анти-VEGF медикаменти и тяхното появяване във времето (Wilson et al 2014)

Macugen (Pegaptanib Sodium) е антагонист на VEGF A 165 и блокира действието му. Прилага се под формата на интравитреални инжекции – 0.3 mg на всеки 6 седмици.

Macugen е одобрен за терапия на МДСВ през 2004 г. в САЩ, а през януари 2006 г. от Европейския съюз. Терапията с медикамента показва по-добри резултати в сравнение с фотодинамичната терапия. Подобряването на зрителната острота с този медикамент, показано в изследването (VISION) е 6%, което е доста малък процент и значително по-малко от останалите препарати. Най-вероятното обяснение за това, е че препаратът инхибира селективно само една от изоформите на VEGF А, докато другите биоактивни форми 110 и 121 VEGF остават неинхибирани. Съвременните препоръки на Euroretina са поради ниския процент на подобряване на зрението препаратът да не се използва при МДСВ.

- *Ranibizumab* (Lucentis) е малък фрагмент от моноклонално антитяло, което може да премине през всички слоеве на ретината и да действа на ниво увредени съдове. Има голям афинитет към всички изоформи на VEGF-А. Повлиява добре МДСВ и ДР и също се прилага като интравитреална инжекция по 1 на месец, 3 месеца след това по 1 на 3 месеца за 2 години.

Използването на *Ranibizumab* (Lucentis) е одобрено в САЩ през 2006 г., а от 2007 г. и в Европейския съюз в стандартна доза от 0.5 mg. Прилага се постоянно на всеки 2 месеца по протокол Pro re nata – PRN, като стриктно се проследява състоянието чрез SD-OCT и се повтаря лечението при наличие на течност в ретината. Съвременните препоръки за прилагане на лекарството на Европейското ретинологично общество – Euroretinaq са първоначално прилагане 3 пъти през месец и след това до достигане на максимална зрителна острота. Впоследствие се мониторира зрителната острота на пациента. При загуба или влошаване на зрителната острота или поява на течност в ретината се възобновяват ежемесечните инжекции, докато се достигне стабилна зрителна острота, оценена в 3 последователни месеца.

При липса на течност в ретината прилагането се прекратява, но състоянието се следи на 2 месеца.

- *Bevacizumab* (Avastin, Genentech Inc, South San Francisco, CA) е хуманизирано моноклонално антитяло срещу VEGF-A фактор. Одобрено от FDA 2005 за лечение на метастатичен колоректален карцином. Приложението на Avastin™ води до обратно развитие (регресия) на кръвоносните съдове, които снабдяват тумора с кислород и хранителни вещества. Медикаментът може да се използва и при лечение на рак на млечните жлези, белия и черния дроб.

Странични ефекти при системното му прилагане са повишено кръвно налягане с 1.9%, увеличен риск от артериална тромбоемболия с 4.4%.

В офталмологичната практика се прилага все още off label.

Множество проучвания показват, че той е почти толкова ефективен при МДСВ и ДМЕ, колкото и Lucentis. Интравитреално се прилага на всеки 4-6 седмици. Поради това че интравитреалното му приложение е в доза 400 пъти по-малка от тази при един курс системно лечение, теоретично не се очакват системни усложнения. За момента това лекарство не е регистрирано и се прилага само в случаите на off label приложение. Директното съпоставяне на ефекта му с този на ranibizumab показва относително близки резултати като ефективност. Основно препаратът се използва по схемата PRN, при нужда след първоначалната натоварваща доза от 3 инжекции. Тъй като това е не-регистриран препарат прилагането по фиксирана схема не се препоръчва. Множество клинични проучвания обаче показват високи плазмени нива на лекарството, влияещи на плазмените растежни фактори, както и по-дългият му полуживот, което може да доведе до системни усложнения.

През последните години широко се използва и нов анти-VEGF препарат – aflibercept (Eylea). Той е чист човешки протеин, създаден да блокира всички форми на VEGF факторите, както и плацентарния растежен фактор. Препаратът има многократно по-голям афинитет на свързване към растежните фактори от нативния рецептор. Продължителността на действие на Eylea е по-голяма от тази на досега съществуващите препарати. Препаратът се свързва с VEGF молекулите, преди да се свържат с нативния рецептор, затова го наричат още – „капан за VEGF” (“VEGF-Trap”). Действието на препарата е да блокира нео-ангиогенезата и пролиферацията на съдове, намалява пропускли-

востта на съдовете и едема в ретината. FDA одобрение за прилагането на aflibercept в доза 2.0 mg е получено през 2012 г.

Първоначалният протокол на прилагане е всеки месец в продължение на 3 месеца, след което на всеки 8 седмици веднъж до края на 2-рата година. Много клинични проучвания показват по-добри резултати от приложението на aflibercept в сравнение с ranibizumab и bevacizumab. Съвременната схема е прилагане на натоварваща доза за първите 3 месеца и последващо продължаване през 8 седмици до края на първата година. След това интервалите на инжектиране могат да се удължат, като това е строго индивидуално и зависи от постигнатия анатомичен и физиологичен резултат на всеки конкретен пациент. В някои от случаите инжекциите могат да се разредят до 2-3 на година. При други да се наложи скъсяване на интервала, поради рестарт на болестта. Става ясно, че пациенти с по-напреднало заболяване, при които би било необходимо фиксирано прилагане на препарата на всеки 2 месеца, трябва да се откриват навреме. Морфологичните маркери за повишена активност на заболяването са различни и с различно значение според редица автори. Много често откриването на маркери за биологична активност на ОСТ изображенията е причина за преминаване към фиксирана схема на лечение през 1 или 2 месеца. Както се вижда от изброеното освен избора на препарат от особено значение за терапията на МДСВ е *изборът на терапевтична схема за лечение на заболяването*. Предложени са следните клинични схеми или протоколи за прилагане на препаратите:

- Веднъж на всеки 2 месеца.
- Pro re nata – при необходимост.
- Treat & Extend (ТАЕ). Удължава се или се намалява периодът на инжекциите с 2 седмици.
- Индивидуализиран подход при терапията ТАЕ.

Независимо от вида на лекарствените средства има няколко основни терапевтични протокола, които могат да се прилагат.

Един от основните протоколи е фиксираното прилагане на препаратата – с начална насищаща доза от 3 апликации през 1 месец и последващо регулярно въвеждане на всеки 2 месеца до 2-рата година.

Поради голямото натоварване на лекари и пациенти при този терапевтичен режим и недостатъчните резултати от прилагането на фиксираната схема се появиха други щадящи и в същото време ефикасни схеми. Такава е про гe nata (PRN) или при нужда. При този протокол проследяванията на пациента са фиксирани, но решението дали ще се поставя инжекция, зависи от анатомичното състояние при всяка визита. При спазването на този протокол инжекциите се базират на патологичните промени в OCT снимките, което вече е доста късен етап за запазване на добра зрителна острота. Макар този протокол да позволява значително намаляване на броя на апликациите, повечето клинични проучвания дават много по-лоши резултати при неговото използване в сравнение с фиксираното прилагане на медикаменти. Не може да се задържи добрата ЗО, постигната с началната доза от 3 инжекции при дългосрочното наблюдение на пациентите.

Протоколът treat and extend (ТАЕ) има за цел, от една страна, да намали броя на апликациите на пациента и в същото време да осигури своевременно лечение, което да не позволи натрупването на течност в макулата. При тази схема интервалите на проследяващите визити се избират спрямо клиничното протичане на заболяването при отделните пациенти. Така, когато пациентът не показва признаци на активност на заболяването – няма течност в макулата, интервалите на проследяване се разреждат и обратното, ако се появи течност в макулата, интервалите на проследяване и инжектиране се скъсяват. Основното е, че не на всяка проследяваща визита се прави инжекция, състоянието на ретината определя интервала до следващата инжекция. Именно затова, ТАЕ протоколът може да се нарече проактивен за разлика от PRN, който е реактивен протокол.

Досегашните проучвания показват, че фиксираните комбинации с често прилагане на медикаментите водят до прекомерно, ненужно лечение в повечето случаи, като в същото време се увеличава натоварването на пациентите от

множеството визити. Повишеният брой инжекции води до повишен риск от усложнения, като инфекции, глаукома, и възможна атрофия. Терапевтичният подход PRN от своя страна дава възможност за рецидив на заболяването и натрупване на течност в ретината, а множеството рецидиви са свързани с прогресия на МДСВ. Проучването на Асоциацията на ретиналните специалисти – American Society of Retina Specialists (ASRS), 2014, показва, че в световен мащаб се използва най-често протоколът TAE при анти-VEGF терапията (78%), PRN се прилага доста по-малко в (16%) от случаите, а фиксираната терапия почти не се използва (2%).

В последните години се появи тенденция за модификация на протокола TAE, като се увеличат още повече интервалите между отделните интервенции – на 12 седмици. Това се потвърждава от проучването ALTAIR. Резултатите показват, че при 60% от изследваните пациенти се достига до разреждане на интервала на инжекции на 16 седмици на края на 1 година. 40% от тях не изискват инжекции на по-кратки интервали. Само 20% от всички остават на 8-седмичен интервал, без възможност за увеличаване.

Проучването ALTAIR е многоцентрово, рандомизирано, фаза 4, проведено в 40 клинични центъра в Япония и сравнява 2 различни начина на прилагане на схемата TAE. Пациентите са разделени на две групи, едните лекувани на 2 седмици, а другите на 4 седмици. Интервалът на третиране се удължава при липса на течност в ретината, задържа се в същия интервал, ако има остатъчна течност и се скъсява, ако течността в ретината остава същата или се увеличава. Резултатите показват, че на 52-рата седмица при пациентите от групата с двуседмичен интервал най-късият интервал на прилагане на лекарството е 8 седмици, при 58%, 12 седмици е при 42.3%, а 16 седмици няма при никои. В групата с удължаване през 4 седмици най-късият интервал от 8 седмици се наблюдава при 60%, 12 седмици при 49%, а при 40% има удължаване до интервал 16 седмици.

Протоколът TAE дава възможност за индивидуализирана терапия, която избягва недостатъчния или прекаления брой инжекции. Проучването ALTAIR показва, че интервалът от 4 седмици е най-удачният за мониториране на лече-

нието. Тази схема за лечение дава възможност да се идентифицират пациентите, които нямат нужда от постоянно мониториране и чести инжекции. В същото време не се допуска появата на рецидиви на заболяването, както и натрупването на течност в ретината, като се дава възможност за запазване на зрителната острота. Проучването ALTAIR показва, че прилагането на тази схема през 4 седмици води до увеличаване на зрителната острота с около 8-10 букви, при намален брой приложения и честота на прилагане.

В нашето проучване бяха включени 126 пациенти с влажна форма на МДСВ и 14 с атипични форми на МДСВ. Те бяха разделени на три групи, в зависимост от това каква терапия сме използвали:

1. Пациенти с влажна форма на МДСВ, лекувани с Avastin (bevacizumab) – 41 пациенти.

2. Пациенти с влажна форма на МДСВ, лекувани с Lucentis (ranibizumab) – 12 пациенти.

3. Пациенти с влажна форма на МДСВ, лекувани с Eylea (aflibercept) – 73 пациенти

Ние използвахме при всички пациенти схемата ТАЕ с удължаване през 2-4 седмици. Основните критерии за времето на инжектиране бяха базирани на ОСТ критерии за активност на неоваскуларната мембрана. Такива са:

- Задържане или увеличаване на ретинната дебелина.
- Задържане или увеличаване на субретинната течност.
- Поява на интравитреални кисти.
- Отлепване на РПЕ или увеличаване на височината му.
- Кръвоизлив.
- Намаляване на зрителната острота.

В случаите, когато се наблюдаваше липса на течност в ретината, се увеличаваше интервалът с 2-4 седмици, ако течността в ретината персистираще, без да се увеличава, се запазваше същият интервал. В случаите, когато се наблюдаваше активност по изброените критерии, се налагаше намаляване на интервала.

***Пациенти с влажна форма на МДСВ, лекувани с Avastin (bevacizumab)
– 41 пациенти***

Пациентите бяха лекувани с интравитреални инжекции на bevacizumab (Avastin) в доза от 0.05 ml (25 mg/ml).

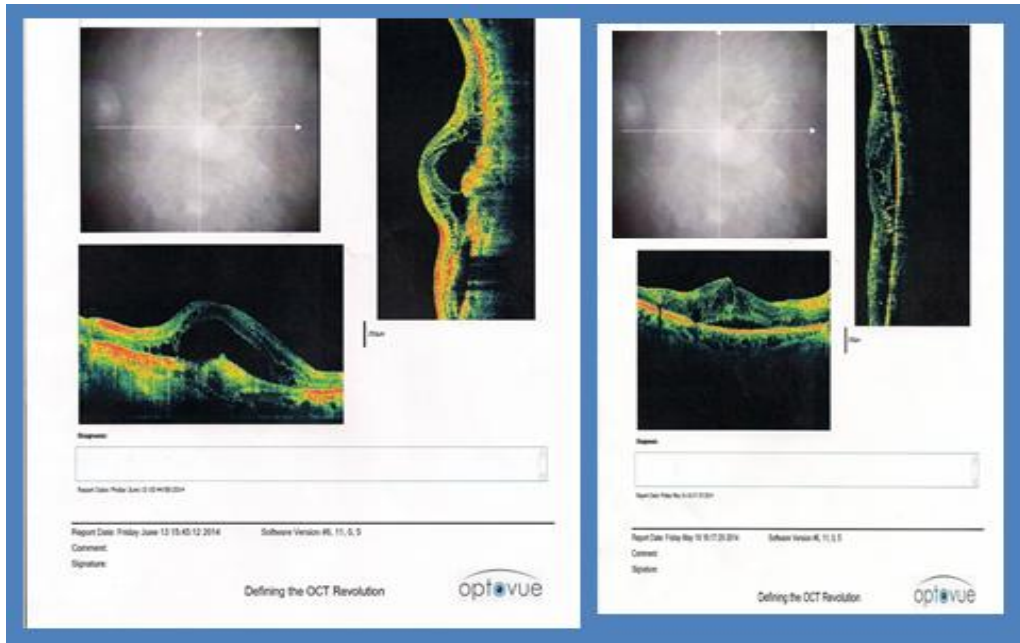
Проследяването се извършваше по протокола ТАЕ, като първоначално се поставяха 3 приложения през 4 седмици като начална насищаща доза. При пациентите без данни за активност – липса на течност на ОСТ диаграмите, следващите инжекции се правиха след удължаване с 2 седмици на интервала. Най-краткият интервал на прилагане беше 4 седмици. Ако наблюдавахме рецидив на заболяването, увеличаване на количеството течност в макулата, това водеше до намаляване на интервала на инжектиране с две седмици. При повторно подсушаване на макулата и отново удължаване на интервала на инжекциите, той не бива да превишава интервала, при който се е появил рецидив. Така се открива индивидуалният терапевтичен интервал за всеки индивид, през който би трябвало да се поставят инжекциите. *Обикновено това е интервалът време, при който е получен рецидив минус 2 седмици.* Това лечение продължаваше за период от 2 години.

В случаите на липса на ефект от проведената терапия, доказан от ОСТ и ЗО се преминаваше към алтернативен медикамент или друг тип терапия – фотодинамична терапия и др.

Нашите изследвания показаха добри резултати от прилагането на Avastin (bevacizumab). В по-голямата част от случаите се наблюдаваше бързо подобряване на зрителната острота и ОСТ картината дори след първоначалните насищащи 3 дози.

В някои от случаите се наблюдаваше много бърз резултат – до една седмица от поставянето на препарата (фиг. 87).

Обикновено пациентите с такъв бърз отговор на терапията бяха по-млади по възраст – 60-65 години, със сравнително здрава ретина и много малко по количество едем в ретината.

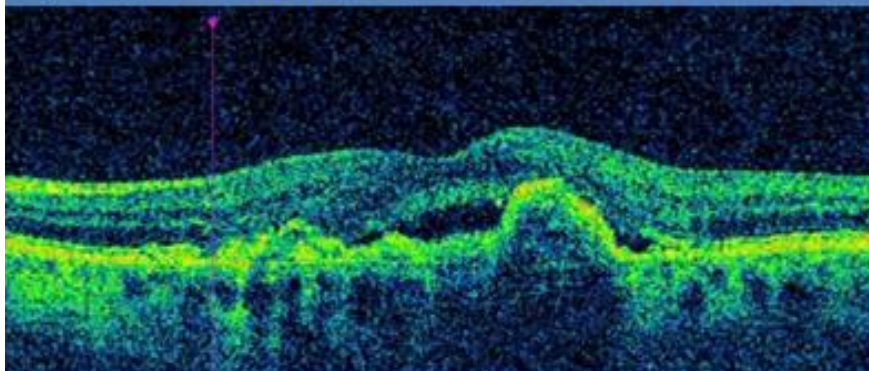


Фиг. 86. Пациент с влажна форма на МДСВ преди и след лечението с Avastin. Наблюдава се редуциране на интравитреалния едем след прилагането на препарата

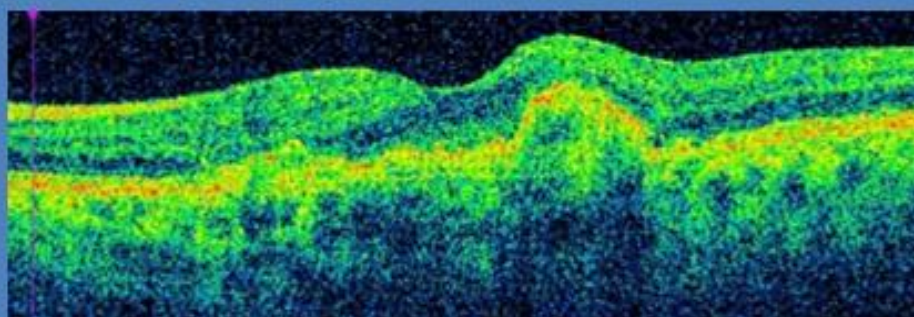
Доста по-рядко се наблюдаваше по-забавен до липсващ ефект от терапията с Avastin (фиг. 88).

Пациентите с по-трудно повлияване, бяха от по-възрастните – 70-80 год, с по-напреднали промени в ретината и значително голяма по площ едемна зона. При по-голямата част от пациентите (60%) се наблюдаваше подобрене на състоянието, отчитано с повишаване на зрителната острота и намаляване на ретинната дебелина.

Преди поставянето на Avastin



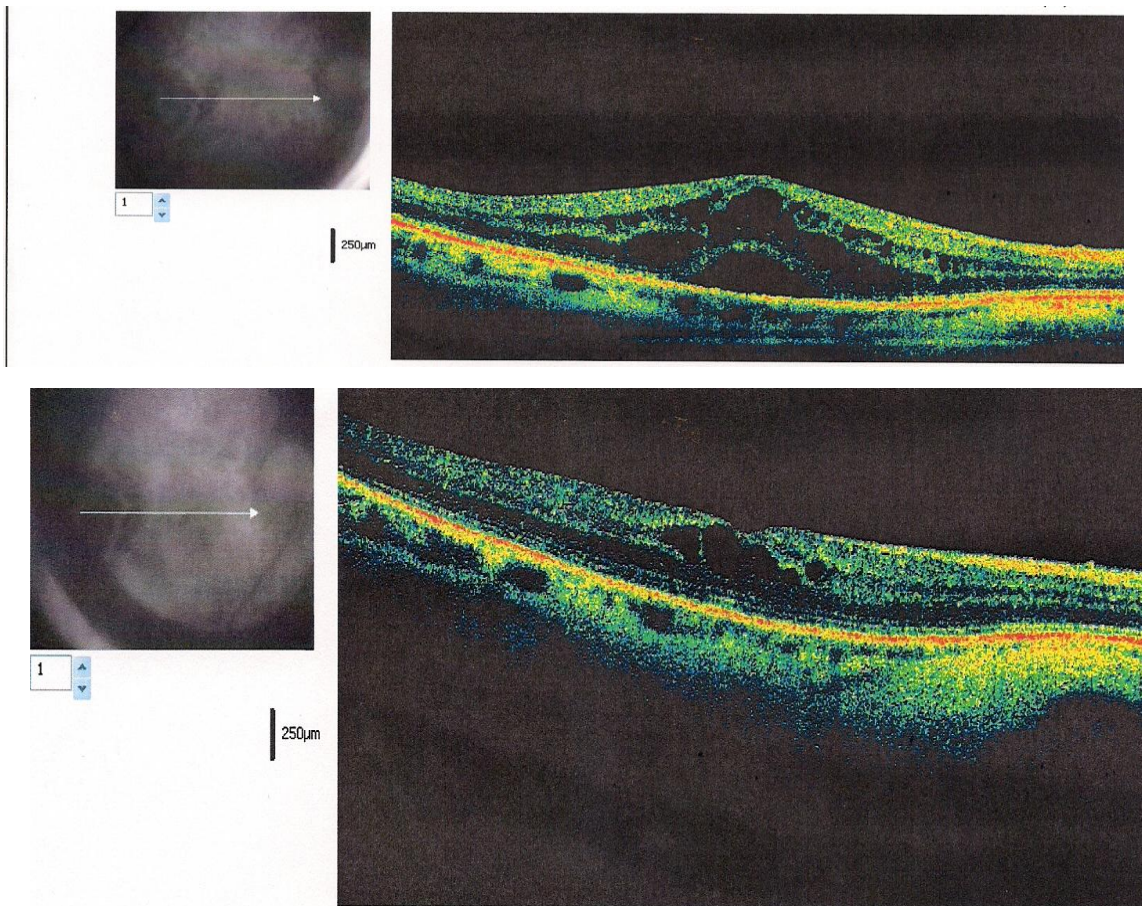
1 Седмица след поставянето на Avastin.



Фиг. 87. Пациент с МДСВ преди и след лечението с Avastin, наблюдава се пълно подсушаване на макулата, и то само 1 седмица след прилагането на терапията

Средната начална зрителна острота на наблюдаваните пациенти беше 0.1 (SD 0.35). Повишаването на средната зрителна острота беше до 0.2-0.3 (SD 0.3; $P < 0.001$). Можем да кажем, че наблюдавахме повишаване на зрителната острота средно с 1-1,5 реда (SD 1.2).

При 40% от лекуваните ЗО се запази същата като първоначалната в хода на терапията. Само при 2% наблюдавахме намаляване на зрителната острота до 1 ред от първоначалната.



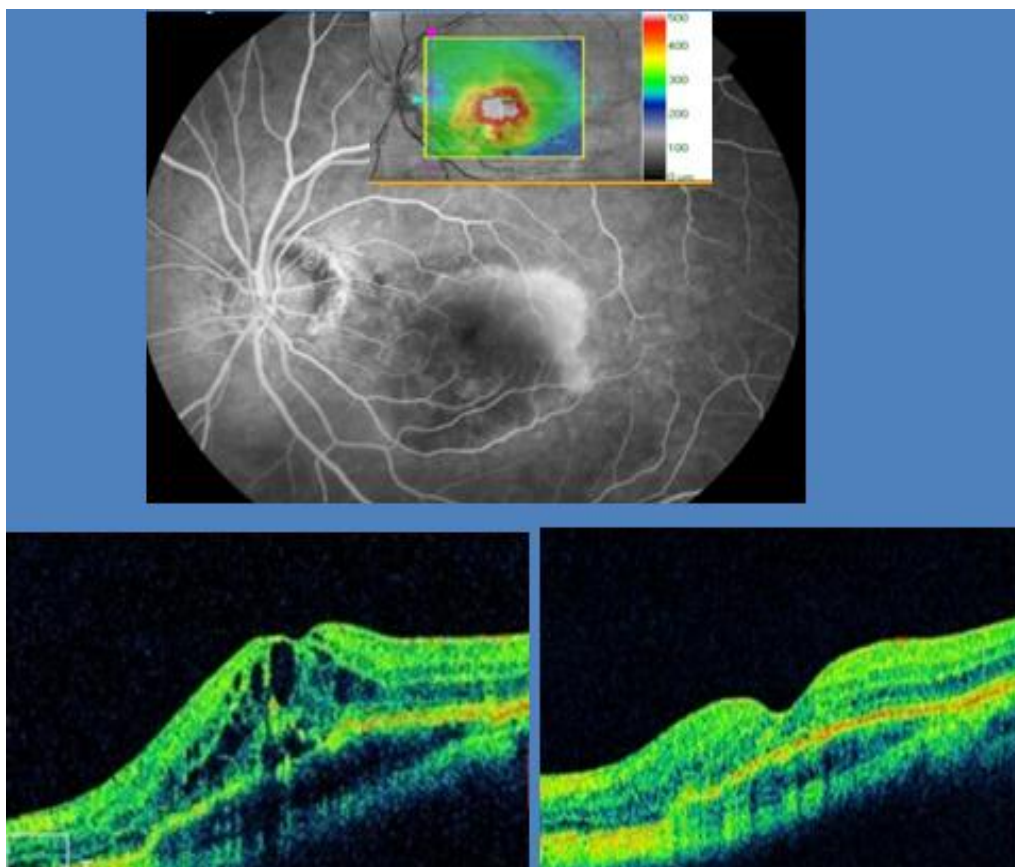
Фиг. 88. Пациент с влажна форма на МДСВ преди и след лечението с Avastin. Въпреки повлияването се наблюдава остатъчна течност в макулата с образуване на кисти

Средната макулна дебелина (СМТ) беше 356 μm . Намалването на ретинната дебелина беше средно до 253 μm . Средното намаляване на ретинната дебелина е със 100 μm . Наблюдавахме, че в 84% от случаите промяната се появяваше още в рамките на първия месец след поставянето на първите 3 инжекции.

Особено интересни за нас бяха пациентите с изразена хеморагична активност и кръвоизливи субретинно и в интратретинното пространство.

При тези 7 пациенти се наблюдаваше много бързо повлияване, в рамките на 1-2 дни. При тях отчитахме много бърза резорбция на ретиналната кръв и значително намаляване на ретиналната дебелина. Най-вероятно Avastin действа допълнително на резорбцията на кръвта както в ретината, така и в стъкловидното тяло. Способства дезинтеграцията на еритроцитите, превръщането на хемоглобина в хемосидерин и премахването му чрез активната фагоцитоза на

макрофагите. Едно от най-важните предимства на този препарат е неговата антихеморагична активност и предпочитането му при пациенти с изразени кръвоизливи (фиг. 89).



Фиг. 89. Пациент с влажна форма на МДСВ и изразена субретинна хеморагия преди и след лечението с Avastin. Вижда се силно намаляване на количеството на течността в ретината и редуциране на кръвта

Само при 15% от пациентите не се наблюдаваше промяна в ЗО и дебелината на ретината при лечението с Avastin, а при 5% се наблюдаваше влошаване на състоянието. Във всички тези случаи съблюдавахме наличието или липсата на критериите за преминаване към други медикаменти.

Пациентите с РАП, лекувани с Avastin, бяха 3, като при тях не се наблюдава подобрене на състоянието, по-скоро то се стационарира във времето при 2 от тях, както ЗО, така и задебеляването на ретината. При 1 имаше влошаване на картината, увеличен едем, прогресия към по-напреднал стадий и се наложи промяна на терапията.

Основните ни критерии за преминаването на терапията към друг медикамент бяха:

1. Намаляване на зрителната острота (5 букви)
2. Увеличаване на централната ретинна дебелина с 100 μ (запазване на същата ретинна дебелина)
3. Нов кръвоизлив в макулата.
4. Класически тип нова CNV – ФА
5. Персистираща течност в ретината повече от 1 месец след последната инжекция.

В случаите, когато бяха налице поне два от горепосочените критерии, приемахме, че се касае за резистентни на лекарството случаи и преминавахме към терапия с друг медикамент.

Пациенти с влажна форма на МДСВ, лекувани с Lucentis (Ranibizumab) – 12 пациенти

Пациентите, лекувани с интравитреални инжекции на Lucentis (Ranibizumab) в доза от 0.5 mg/ml бяха 12. Средната възраст беше 67 год. (+/- 4). Средният брой на поставените при тях интравитреални инжекции беше 11 (SD 2.4 от 3 до 12). Пациентите бяха проследявани за срок от 2 години.

Проследяването се извършваше по протокола ТАЕ, като първоначално се поставяха 3 апликации през 4 седмици. При пациентите без данни за активност следващите инжекции се правиха след удължаване с 2 седмици на интервала. Най-краткият интервал на прилагане беше 4 седмици. Ако наблюдавахме рецидив на заболяването, намалявахме интервала на инжектиране с две седмици. И тук намирахме оптималния индивидуално специфичен интервал на поставяне на инжекциите.

Резултатите от нашите изследвания показват, че и при групата пациенти, лекувани с Lucentis, наблюдавахме подобряване на зрителната острота и повлияване на състоянието. Повече от половината (70%) от лекуваните показват

подобряване на зрението с 2 знака в резултат на прилагането на веществото. Такива примери са представени на фиг. 90, 91).



Фиг. 90. Клиничен случай на 73-год. пациент, с класически тип влажна МДСВ, който се повлиява добре след терапията с Lucentis. Имаме почти пълно „подсушаване“ на макулата



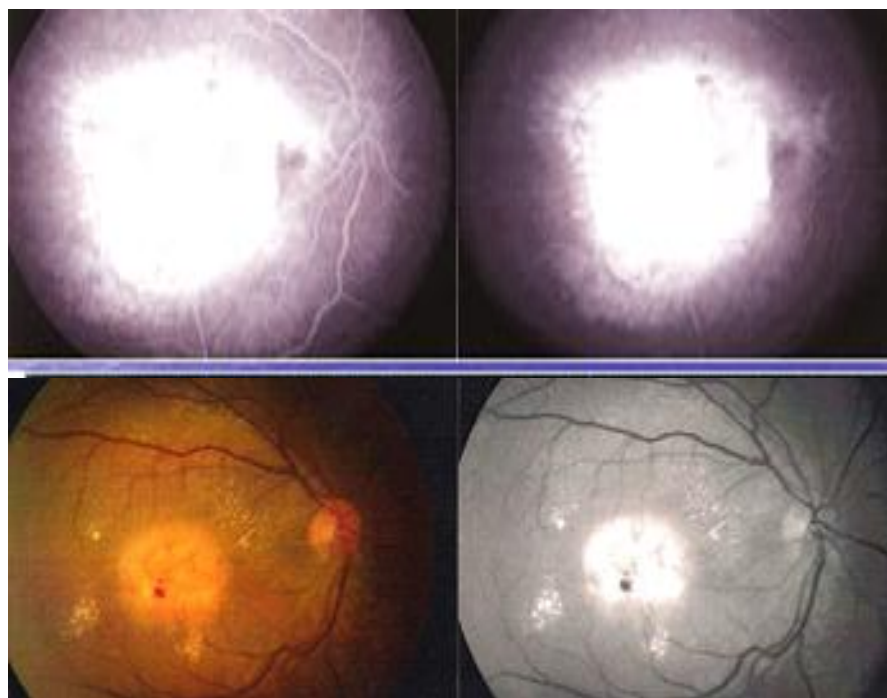
Фиг. 91. Клиничен случай на 60-год. пациентка, с активна НВМ при влажна МДСВ, който се повлиява добре след терапията с Lucentis

Подобно на предишната група, така и тук най-добрите резултати се наблюдаваха при по-младите пациенти, тези с начални промени в ретината и с по-малки по площ лезии. Средната начална зрителна острота на наблюдаваните пациенти беше 0.1 (SD 0.45). Повишаването на средната зрителна острота беше до 0.2-0.3 (SD 0.3: $P < 0.001$). Можем да кажем, че наблюдавахме повишаване на зрителната острота средно с 2 реда (SD 2.3).

При 9 от пациентите (40%) се наблюдаваше подобряване на зрителната острота с 15 и повече знака. При 11 (50%) от лекуваните ЗО се запази същата като първоначалната в хода на терапията. Само при 2 пациенти (1%) наблюдавахме намаляване на зрителната острота до 1 ред от първоначалната.

Много характерни бяха и OCT измененията при пациентите в тази група. Като цяло наблюдавахме редуциране на ретинната дебелина и намаляване на количеството течност в ретината. СМТ беше 370 μm . Намаляването на ретинната дебелина беше средно до 244 μm . Средното намаляване на ретинната дебелина е с 156 μm . В 81% от случаите за ЗО и в 85% за ретинната дебелина промяната се наблюдаваше още в рамките на първия месец след поставянето на първите 3 инжекции. Пациентите, при които не се наблюдаваше подобряване на ЗО бяха най-вече пациенти с напреднали форми на МДСВ, с отлепване на РПЕ или с изразени кръвоизливи.

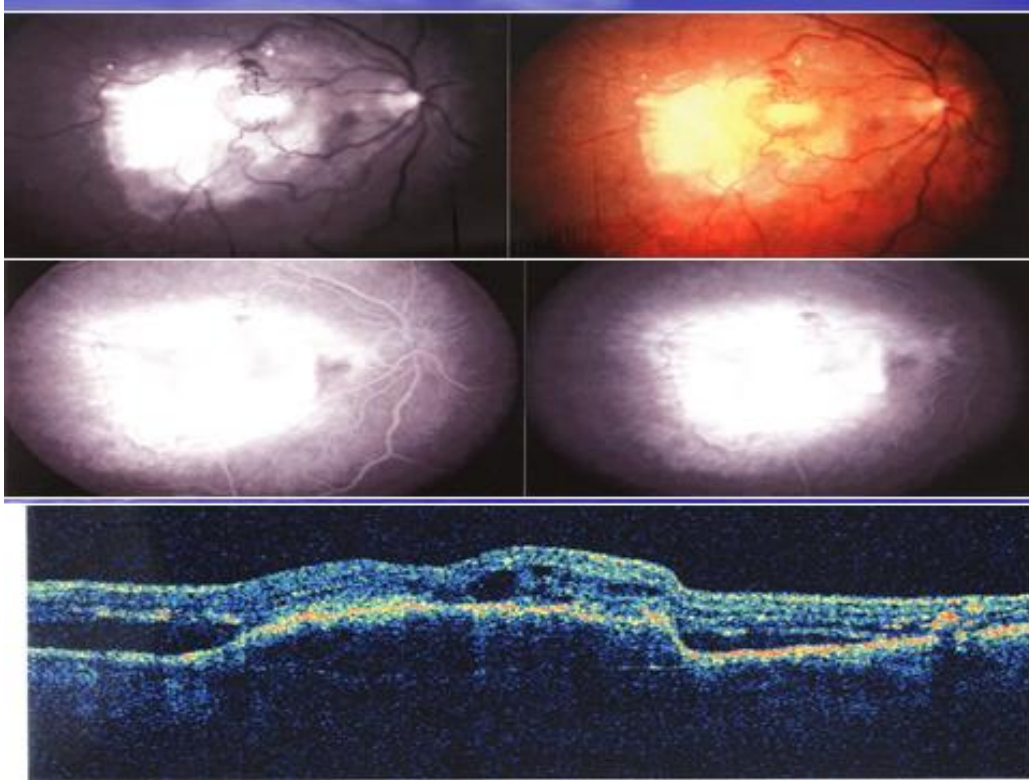
От особен интерес бяха пациентите с РАП – 3 на брой. При 2 от тях с начални форми на РАП-I, II наблюдавахме подобряване на зрителната острота след прилагането на Lucentis 0,5 mg (фиг. 92).



Фиг. 92. Пациент с РАП II преди (Ф.А) и след терапията с Lucentis (Цветната фотография на очното дъно).

Налице е видимо намаляване на големината на лезията

Средната зрителна острота на тези пациенти беше 0.1, като средно се наблюдава подобрение с 1 ред до 0.2 максимално. Средният брой инжекции, които приложихме, беше 7. Налице беше необходимост от по-често поставяне на инжекциите. Най-големият интервал между апликациите при тези пациенти беше средно 6. Средната редукция на ретинната дебелина беше 100 микро-на (SD 0.4). Правеше впечатление, че подобно на случаите на влажна МДСВ и при РАП пациентите добрите промени в ретината се появяваха сравнително бързо – до 1 месец от прилагането на препарата, понякога дори в рамките на 1 седмица след апликацията. При 1 пациент наблюдавахме задържане на състоянието, както и на зрителната острота. Касаеше се за случай на напреднала форма на РАП III с вече оформени ретинно- хориоидални анастомози и изразена ексудативна активност в ретината дебелина (фиг. 93).



Фиг. 93. Случай на РАП III с изразени ретинно-хориоидални анастомози след лечението с Lucentis. Няма влошаване, но и не се наблюдава значителна редукция на течността в ретината

Сравнявайки различните случаи на РАП, можем да заключим, че Lucentis е ефективен при пациентите с начални форми на заболяването повече от другите анти-VEGF медикаменти. В късните форми показва стабилизиране на състоянието, нещо което не наблюдаваме при пациентите, лекувани с Avastin.

Сравнявайки двете групи пациенти, лекувани с Lucentis и с Avastin, можем да кажем, че се наблюдават почти еднакви резултати по отношение на промяна на зрителната острота и централната ретинна дебелина, съответно: средно подобряване на зрителната острота при Avastin – 0,1-0,2 (SD 0.3: $P < 0.001$) средно подобряване на зрителната острота при Lucentis – 0.2-0.3 (SD 0.3: $P < 0.001$). При централната ретинна дебелина, измерена с OCT, нещата са също аналогични – средната промяна при лекуваните с Avastin е 100 μ , докато средната промяна в ретинната дебелина на пациентите, лекувани с Lucentis е 150 μ . Можем логически да заключим, че двата препарата имат еднаква ефективност по отношение на повлияване на ЗО и централна ретинна дебелина. В

същото време се отчита общата и за двата тенденция да имат по-добър ефект при пациенти в по-млада възраст и с по-малки по големина лезии. Можем да отбележим също така, че Avastin се оказва значително по-ефективен при случаи с хеморагична активност, тъй като директно подпомага дезинтеграцията на еритроцитите в ретината и стъкловидното тяло. От друга страна, макар и върху малка бройка и без статистическа достоверност, наблюдавахме по-добър терапевтичен ефект при използването на Lucentis при пациентите с РАП, отколкото при лекуването им с Avastin. Схемата ТАЕ се оказа изключително удачна и при двете групи, но индивидуалният интервал за инжекциите беше различен при двата препарата. Използвайки Avastin, можехме да разредем апликациите до такива през 10 седмици, докато при използването на Lucentis се налагаше по-често инжектиране. Най-дългият интервал, през който не се наблюдава рецидив, беше 8 седмици. При пациентите с РАП се налагаше значително по-често инжектиране през 4-6 седмици, за да се поддържа стабилно състоянието.

Пациенти с влажна форма на МДСВ, лекувани с Eylea (aflibercept) – 73 пациенти

Пациентите, лекувани с интравитреални инжекции на Eylea (aflibercept) – в доза от 2 mg (0.05 ml), бяха 73. Средната възраст беше 63 год (+/- 4). Средният брой на поставените при тях интравитреални инжекции беше 7 (SD 3.4 от 3 до 16). Пациентите бяха проследявани за срок от 2 години.

Основните свойства на Aflibercept могат да бъдат обобщени по следния начин:

- Протеин, създаден да блокира ендотелния растежен фактор VEGF, както и плацентарния растежен фактор – PlGF.
- Напълно човешки протеин.
- С многократно по-висок афинитет към растежните фактори от нативния рецептор VEGF trap.
- По-продължително действие и по-висок афинитет на свързване с VEGF от останалите такива медикаменти.

Поради по-различния механизъм на действие и по-широкото приложение на препарата в нашата страна, ние имахме по-голяма група от лекувани пациенти. Те бяха разделени в две основни групи:

- Нативни пациенти, при които това беше първият прилаган анти-VEGF препарат – 46 човека.

- Пациенти, лекувани преди това с друг медикамент – 27 души.

Лекуването на пациентите и при терапията с Aflibercept се извършваше по протокола ТАЕ. Първоначално се поставяха 3 приложения през 4 седмици като насищаща доза. При пациентите без данни за активност следващите инжекции се правиха след удължаване с 2 седмици на интервала. Най-краткият интервал на прилагане беше 4 седмици. Ако наблюдавахме рецидив на заболяването, намалявахме интервала на инжектиране с две седмици.

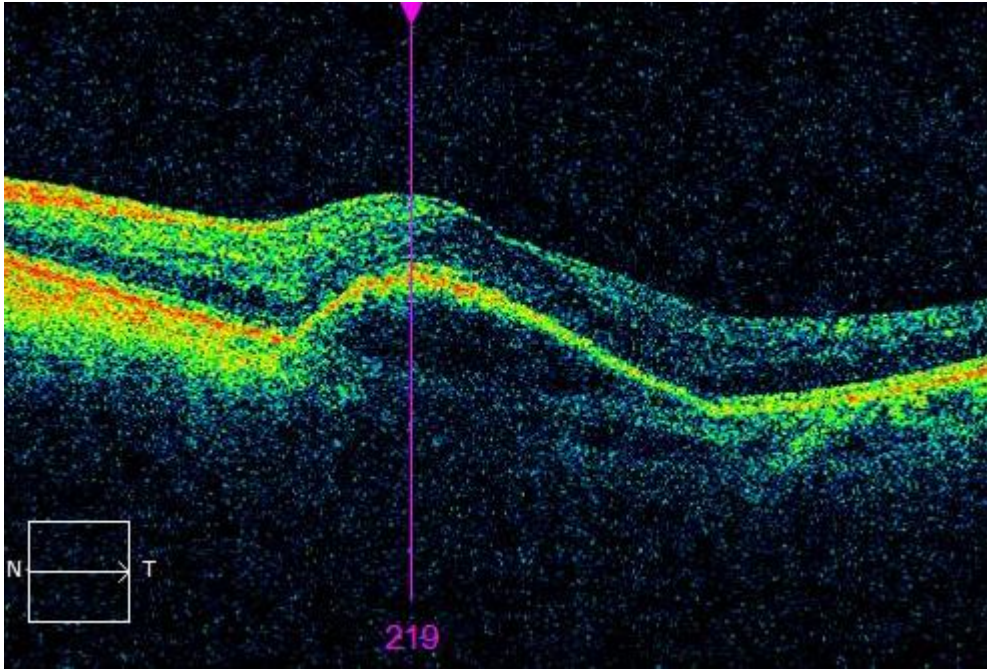
По-голямата част от случаите се повлияваха добре, както е в следния примерен клиничен случай:

- 61 год. жена А.П.
- влажна форма на МДСВ на двете очи.
- VOD-0.1, VOS-0,01.
- ОСТ изразен едем, активна НВМ.
- Терапия с Eylea по схемата Т&Е.

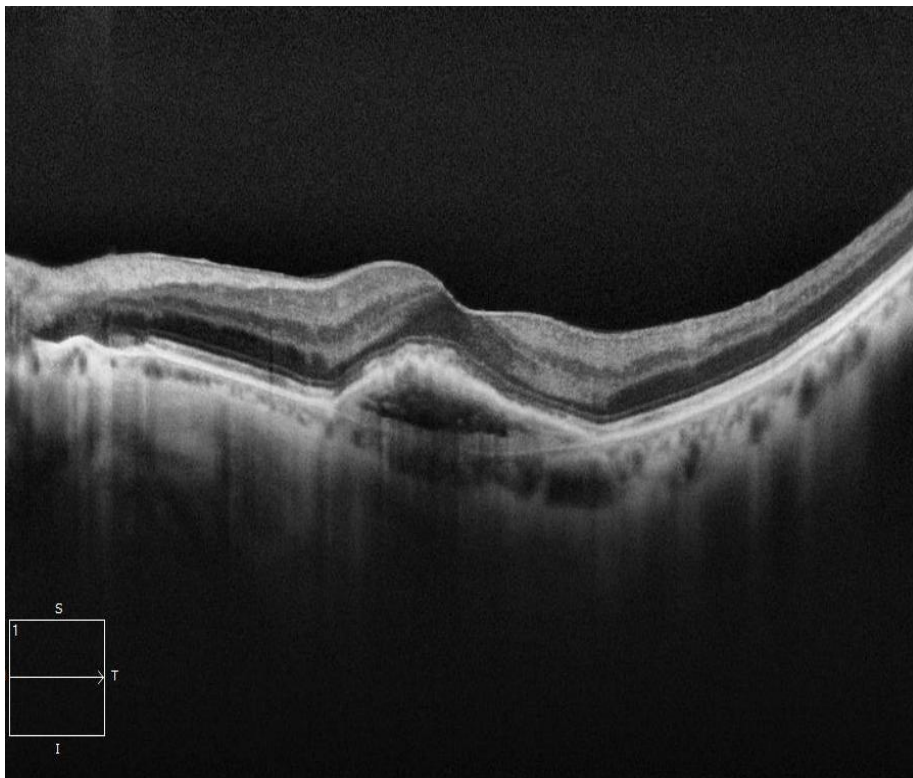
Началните снимки на пациентката и повлияването и след терапията са показани на фиг. 94, 95.

Подобна картина беше наблюдавана и при много други пациенти, лекувани с Eylea като средство на първи избор.

Средната зрителна острота първоначално беше 0.1 (SD 0.2). В повечето случаи наблюдавахме увеличаване на ЗО средно с около 6 ± 2 букви в края на първата година от проследяването и средно с 5.2 ± 1 букви в края на втората година.



*Фиг. 94. Пациентката преди започването на терапията с Еулеа.
Налице е отлепване на РПЕ и активна НВМ*



*Фиг. 95. Същата пациентка след 3 инжекции с Еулеа.
Вижда се изглаждане на отлепването на РПЕ и резорбиране на НВМ*

В края на втората година от лечението по указаната схема при 94% от пациентите се наблюдаваше запазване или подобряване на зрителната острота, а 71% показваха повишаване на зрението с повече от 6 букви.



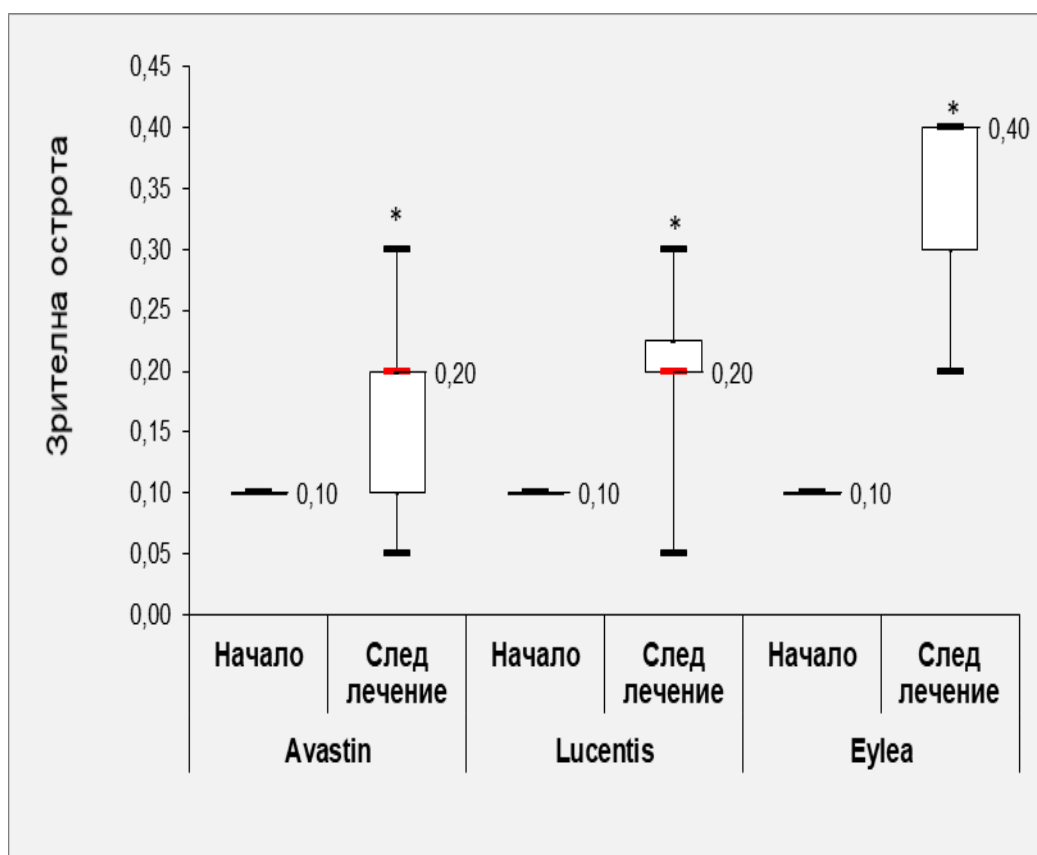
Фиг. 96. Друг пример за добро терапевтично повлияване след 3 инжекции на Eylea.
Налице е значима редукция на субретинната течност

Статистиката показва, че повишаването на ЗО е почти еднакво при пациентите, лекувани с Avastin и Lucentis, и много по-добра при пациентите с Eylea. Средното подобряване на зрителната острота в тази наблюдавана група беше до 0.4 (SD 0.4; $P < 0.001$).

В същото време налице беше и намаляване на дебелината на ретината, отчитано на OCT измерванията. Такова намаление отчитахме след първоначалната насищаща доза, след 1 година и в края на втората година.

Налице беше също така силно намаление на централната ретинна дебелина (CRT) спрямо изходното. От първоначална средна ретинна дебелина ($400 \pm 130 \mu\text{m}$), на 6-ия месец от терапията тя беше ($288 \pm 74 \mu\text{m}$). Средната ре-

тинна дебелина на първата година беше редуцирана до $(294 \pm 75 \mu\text{m})$, а в края на втората година беше $(288 \pm 70 \mu\text{m})$.



Фиг. 97. Показана е промяната на ЗО, изразена като брой букви през периода от 2 години. Вижда се, че повишаването на ЗО е почти еднакво за Avastin и Lucentis и по-голямо за групата на Eylea

Като цяло се наблюдаваше тенденция към редукция на централната ретинна дебелина, в най-голяма степен това се проявяваше след първата насищаща доза.

Макулният обем (MV) също се намали значително от $9.97 \pm 1.21 \text{ mm}^3$ първоначален обем на $9.04 \pm 0.79 \text{ mm}^3$ на 6-ия месец. Макулният обем на първата година беше $8.03 \pm 0.65 \text{ mm}^3$, а на втората година беше $7.97 \pm 0.74 \text{ mm}^3$.

Пълно изчезване на течността в ретината наблюдавахме при 76% от пациентите след първоначалната насищаща доза, доста по-малко намаляване на течността се наблюдава на 1-вата и 2-рата година.

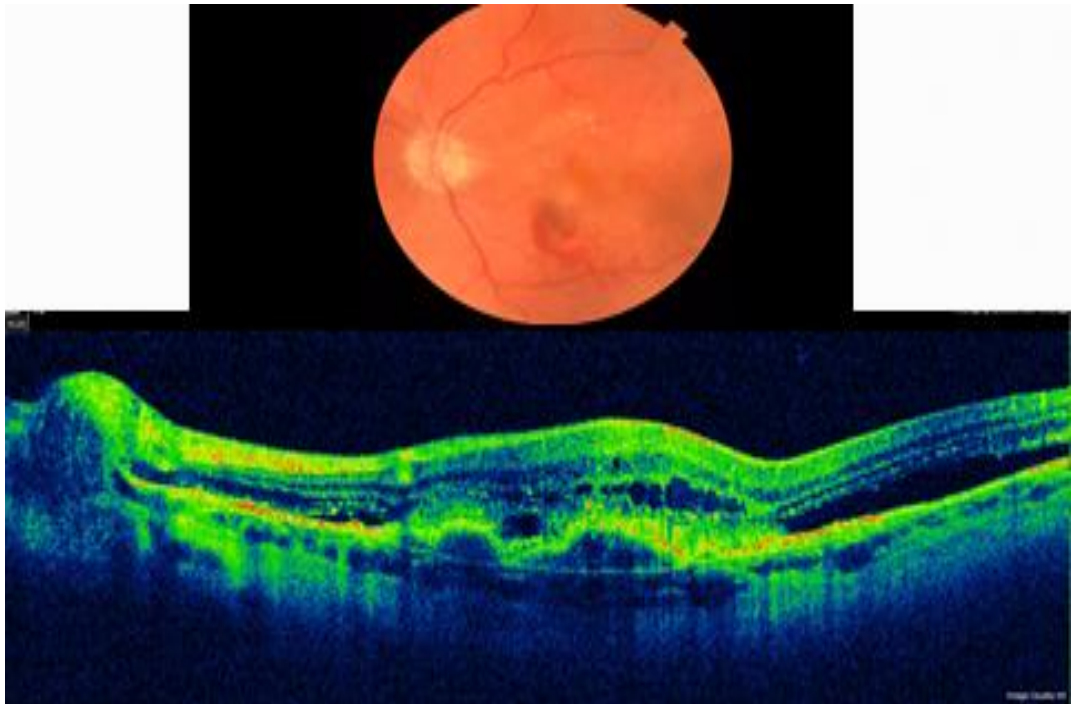
Субфовеоларната хориоидална дебелина остана без промяна през цялото проучване. Големината на неоваскуларната лезия също намаля през периода до втората година.

Таблица 7. Промени в ЗО, големината на лезията и централната ретинна дебелина

Промени в площта на лезията, VA и CRT при пациенти, лекувани с Eylea.				
	Начало	6 Месец	1 година	2 година
Mean NV leakage area Mm ²	27.79 +/- 6.29	5.43 +/-2.18	5.50 +/-1.76	5.70 +/-1.76
VA	20/160	20/125 P=0.5	20/100 P=0.5	20/63 P=0.5
CRT	400 ± 130 μm	288 ± 74 μm	294 ± 75 μm	288 ± 70 μm

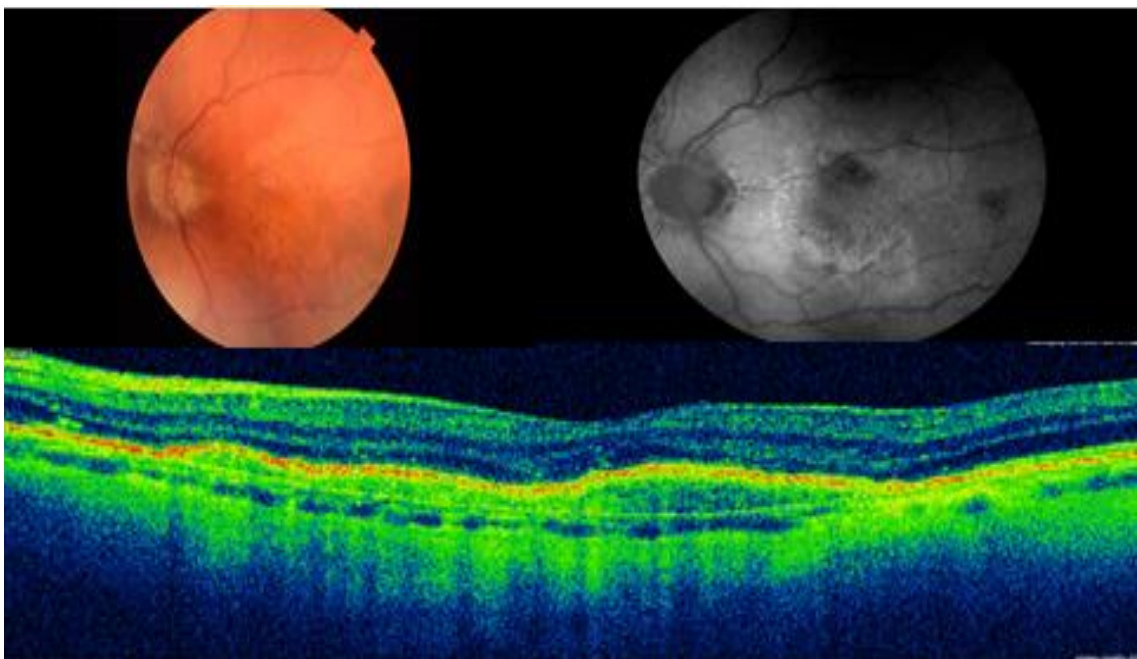
Особен интерес представляват пациентите с отлепване на РПЕ. При тях се наблюдаваше много отчетлив ефект още след първите инжекции, с изразено намаляване на височината на отлепването на РПЕ.

Повечето пациенти с тези изменения имаха подобна картина като на фиг. 98. Става въпрос за пациент на 65 години, с единствено зрящо ЛО и активна неоваскуларна мембрана, с отлепване на РПЕ и субретинна хеморагия. Първоначално ЗО на лявото око е 0.1. Налице са две отлепвания на РПЕ, едното с по-голяма площ.



Фиг. 98. Пациент преди започването на терапията с Eylea. Наблюдаваме изразено отлепване на РПЕ, активна неоваскуларна мембрана и събиране на течност в ретината

Още след първоначалната насищаща доза от 3 инжекции наблюдавахме подобряване на зрителната острота до 0.5, изчезване на ретинния кръвоизлив и слягане на отлепването на РПЕ. Това е добре видимо от фиг. 99.



Фиг. 99. Същият пациент след началната насищаща доза от 3 инжекции Eylea. Наблюдава се пълна резорбция на субретинния кръвоизлив, силно намаляване височината на отлепването на РПЕ и значително увеличение на ЗО – 0.5

Тенденция за намаляване височината на отлепването на РПЕ наблюдавахме и при другите изследвани пациенти. Средното намаляване на височината на отлепването на РПЕ беше съответно $155 \pm 87 \mu\text{m}$ средна височина на $139 \pm 80 \mu\text{m}$, на 3-тия месец. На 6-ия месец намаляването на височината на отлепването на РПЕ беше средно до $129 \pm 67 \mu\text{m}$, на 12-ия месец – $122 \pm 69 \mu\text{m}$, а на втората година беше $141 \pm 107 \mu\text{m}$.

Средният брой на поставените инжекции през първата година беше средно 8 (3-12), докато техният брой през втората година беше 3 (0-10), което говори за сравнително по-малък брой на инжекции във времето при повечето пациенти. Оказва се, че има съществена промяна в продължителността на интервала, през който могат да се правят инжекции, без това да води до рецидив на заболяването. Около 50% от нашите пациенти толерират добре поставяне на инжекции през 12-седмичен интервал на 2-рата година от терапията. А при 40% достигнахме интервал от 16 седмици на втората година. Това значително намалява броя на инжекциите и подобрява качеството на живот на пациентите, без да води до допълнителен риск от рецидив на заболяването. Само при 20% от случаите не можеше да се увеличи интервалът на инжектиране на повече от 8 седмици поради постоянното влошаване на състоянието и необходимостта от по-често инжектиране. Обикновено това бяха по-възрастни пациенти, с по-напреднала форма на МДСВ и необратими промени в нейната архитектура.

Втората група пациенти, лекувани с Eylea, бяха 27 човека, които преди това се лекуваха с друг медикамент. В този случай се налагаше промяна на лекарствения медикамент. Основните ни критерии за промяна в терапията са:

1. Намаляване на зрителната острота (5 букви).
2. Увеличаване на централната ретинна дебелина със $100 \mu\text{m}$ /запазване на същата ретинна дебелина.
3. Кръвоизлив в макулаа.

4. Класически тип нова CNV – ФА.

5. Персистираща течност в ретината повече от 1 месец след последната инжекция.

6. Признаци на активност на неоваскуларната мембрана.

По отношение на ретинната дебелина, измерена с ОСТ, не само увеличението на централната ретинна дебелина, но и задържането ѝ на същото положение в продължение на повече от 2 седмици е критерий за резистентност към терапията и нуждата от промяна.

След преминаването към aflibercept (Eylea) пациентите бяха лекувани по схемата ТАЕ, като при липса на данни за активност времето на апликациите се разреждаше с 2 седмици, а при рецидив се намаляваше интервалът с 2 седмици.

При някои от тези пациенти ЗО беше по-висока, средно 0.2 (SD=0,3).

Подобряването на ЗО беше до 0.4-0.5 след превключването към Eylea. Резултатите по отношение на ЗО са идентични с тези от предишната група, на наивните пациенти. По-добри резултати получавахме при пациенти с запазена структура на ретината, по-малки по брой лезии, с по-малък брой предишни апликации на медикаменти и в по-малка възраст. Повечето случаи бяха подобни на следващия клиничен случай:

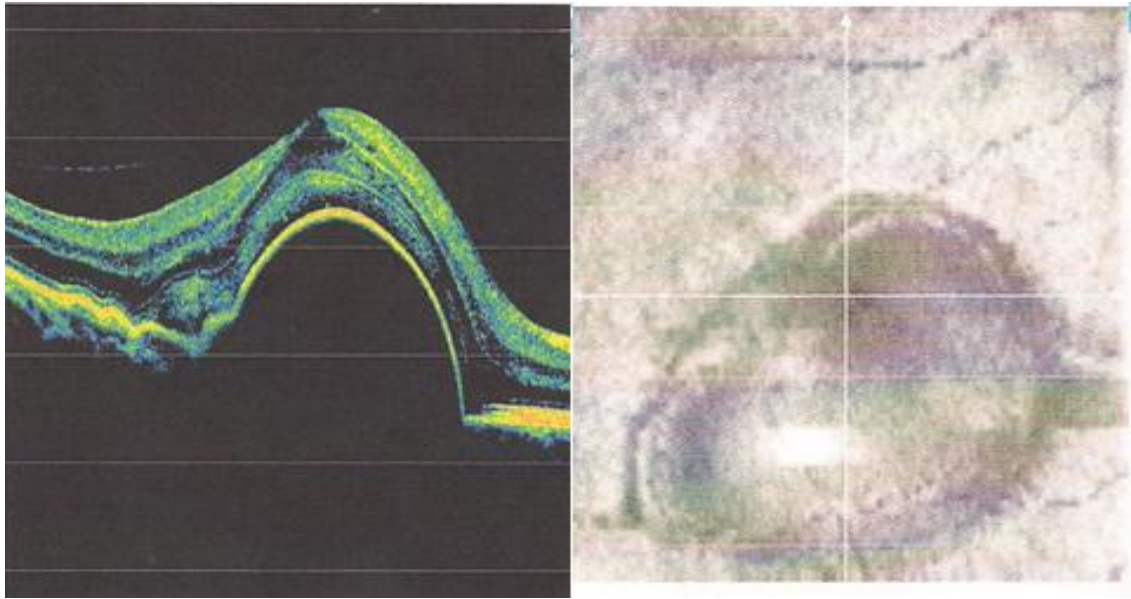
65-годишна жена М.Д., с влажна форма на МДСВ на ЛО.

На ОСТ изследването се открива активна мембрана и отлепване на РПЕ.

Макулната дебелина е 401 μ .

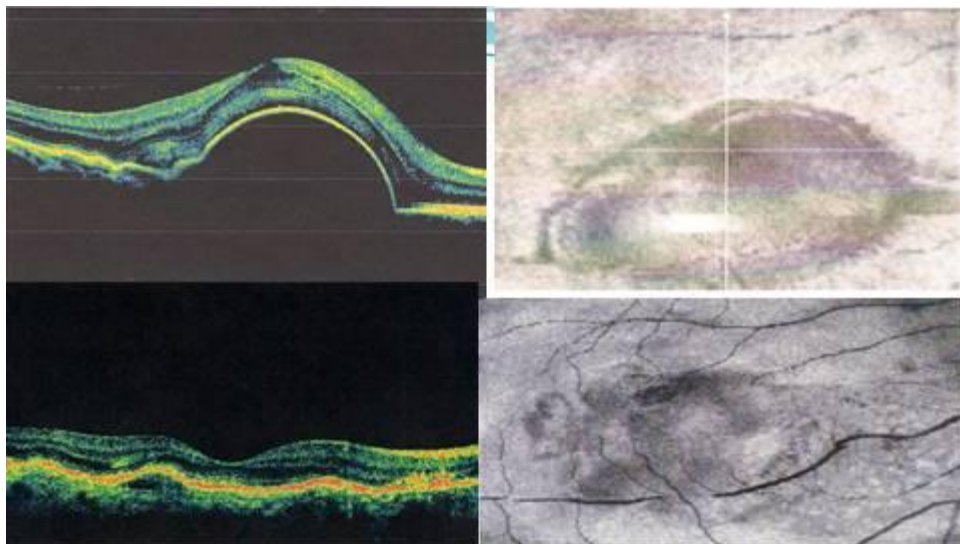
VOD-0.9; VOS-0.01

Направени са 4 апликации на Avastin през последната 1 година без обективен резултат.



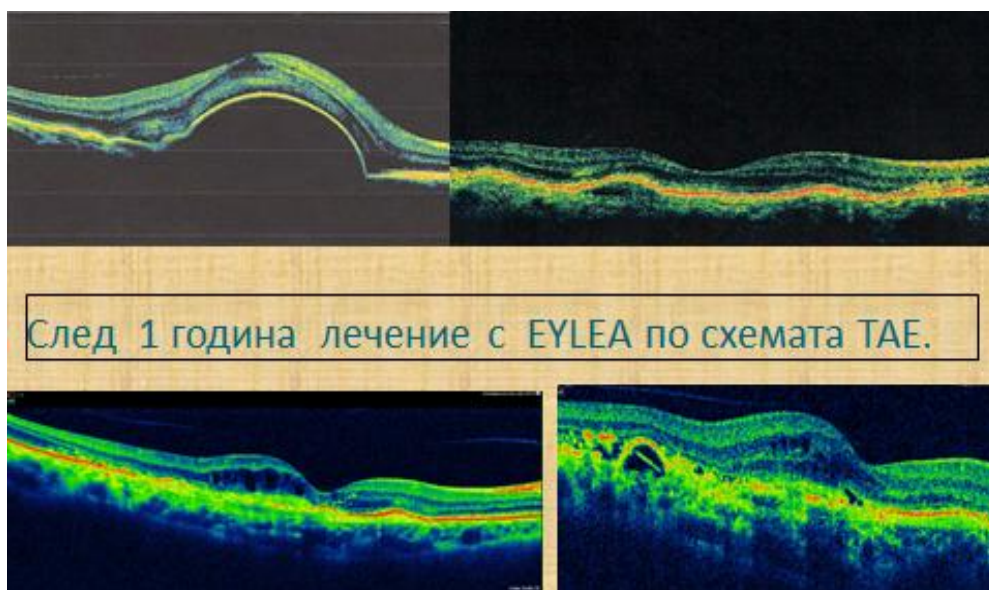
Фиг. 100. Пациентката след 3 апликации на Avastin преди преминаването към лечението с Eylea

Още след първите 3 инжекции на aflibercept се наблюдава подобряване на ЗО, която достигна 0.3 и беше налице почти пълно слягане на отлепването на РПЕ и редукция на ретинната дебелина до 250 микрона. Всичко това е добре видимо на фиг. 101.



Фиг. 101. Същата пациентка след 3 апликации на Eylea. Вижда се изглаждане на отлепването на РПЕ, подсушаване на макулата, нормализиране на структурата

Прилагайки схемата ТАЕ при лечението на пациентката, ние успяхме да задържим този добър резултат във времето, до края на първата година, почти без никаква промяна. Най-големият интервал на инжекции, който можехме да постигнем при тази пациентка, беше 12 седмици (фиг. 102). Вероятно поради по-големия първоначален брой инжекции индивидуалната нужда от въвеждане на препарата е по-съкратена като интервал, отколкото при наивните пациенти.



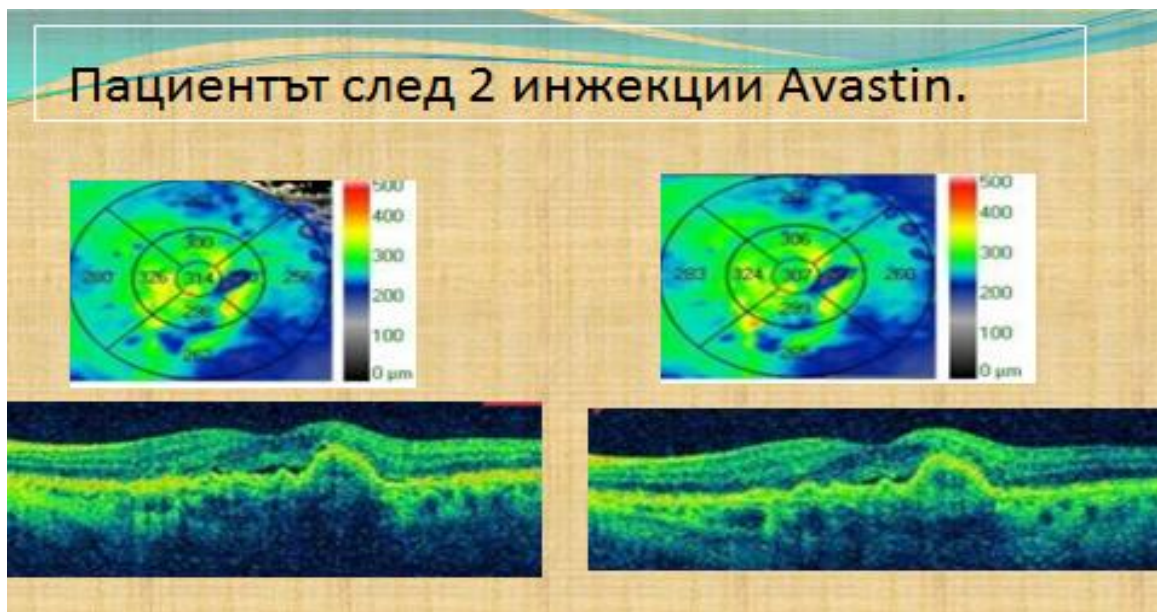
Фиг. 102. Пациентката 1 година след лечението с Eylea по схемата ТАЕ.
Запазва се почти същата OCT находка и на 12-ия месец

Същото наблюдавахме и при подобни клинични случаи като:

- 85-год. мъж Д.Д.
- влажна форма на МДСВ на ДО, ЛО – меки друзи
- VOD – 0.05, VOS – 0.7.
- OCT – екстрафовеоларна НВМ, персистираща субретинна течност.
- направени 2 апликации Avastin на ДО.

Независимо от подобрението на ЗО, установено след последната апликация на Avastin, което достигна до 0,1, при този пациент се наблюдаваше активност на неоваскуларната мембрана със задържане на течност в ретината.

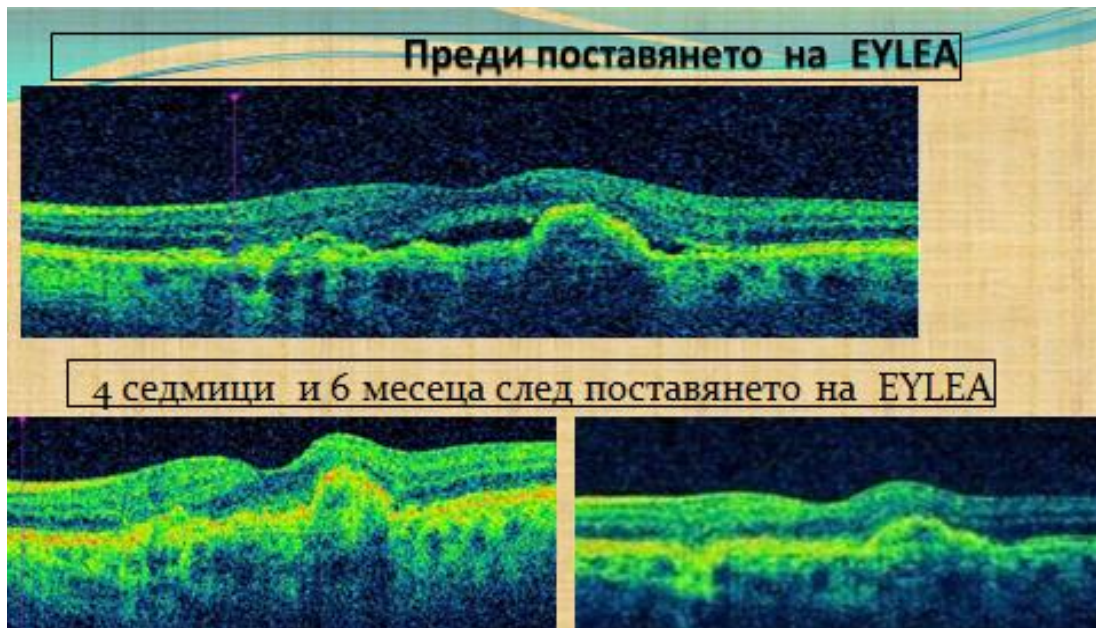
Именно резистентността на лечението беше причина да се смени лечението от Avastin на Eylea (фиг. 103).



Фиг. 103. Пациентът преди терапията с Eylea. Вижда се, че независимо от терапията с Avastin се задържа течност в ретината

Значително подобрение се наблюдаваше след поставянето на 3 инжекции Eylea. Наблюдавахме изчезване на интравитреалната течност и подсушаване в областта на макулата, както и липса на активност на неоваскуларната мембрана. Този ефект се запазваше и в продължение на 6 месеца (фиг. 104).

Добрият резултат се наблюдава още след първата инжекция на Aflibercept, като максимално повлияване наблюдавахме още след поставянето на 3-те насищащи дози. Добрият ефект се задържаше и по-нататък, до 6-ия месец.



Фиг. 104. Същият пациент 4 седмици и 6 месеца след лечението с Eylea.
Налице е пълно изчезване на течността в ретината

Нашите изследвания показват, че при по-голямата част от пациентите, преминали от предишен медикамент – Lucentis или Avastin на Eylea се наблюдава подобрение.

Налице е намаляване на ретинната течност и намаляване на ретинната дебелина средно с 0.32 mm^3 ($P = .01$). В същото време се намалява количеството на субретинната течност средно с около 0.08 mm^3 ($P = .04$). Подсушаването на макулата се наблюдаваше по-продължително време в рамките на 6 месеца след провеждането на терапията.

Наблюдавахме и подобряване на зрителната острота, която средно се повиши с 4 букви ($P=.04$) при преминаване от един препарат на друг. Това, което правеше впечатление, е въздействието на препарата върху отлепванията на РПЕ. Почти винаги иначе резистентни на терапията отлепвания на РПЕ се намаляваха значително и почти напълно слягаха. Средното намаляване на височината на отлепването на РПЕ, измерено с ОСТ, е 0.56 mm^3 ($P = .001$).

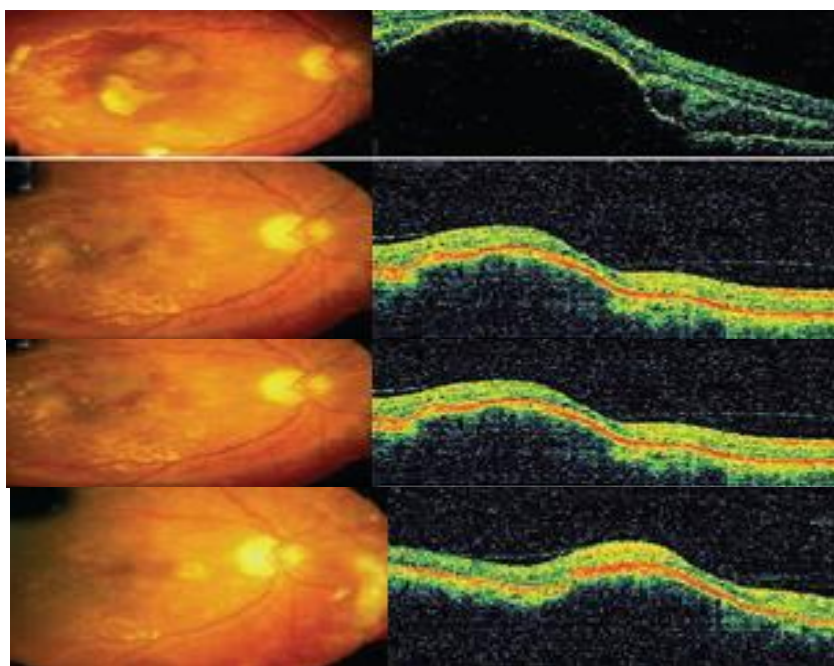
Отлепването на РПЕ е едно сериозно усложнение на влажната форма на МДСВ, което в повечето случаи предвещава развитието на неоваскуларна мембрана. То може да се класифицира по различен начин – друзевидно отлепване на РПЕ, серозно, хеморагично, фиброваскуларно отлепване на РПЕ. От

своя страна друзевидното отлепване на РПЕ наблюдаваме при сливането на няколко меки друзи и е най-началната форма на отлепване на РПЕ. То обаче е високорисков фактор за развитие на влажна форма на заболяването. Развива се обичайно, когато под големи меки друзи РПЕ загуби способността си да премахва течност и продукти на обмяната. Отчита се главно с помощта на ОСТ. Друзевидното отлепване на РПЕ е с най-добра прогноза, сравнено с останалите видове отлепвания на РПЕ. Много често се наблюдава спонтанно слягане.

Серозното отлепване на РПЕ е едно от най-често срещаните. Дължи си на натрупване на течност между РПЕ и бруховата мембрана. Смята се, че причината за неговото образуване е повишената пропускливост на хориокапиляриса, от една страна, а от друга, силно намалената помпена функция на клетките на РПЕ. На ОСТ се вижда много ясно очертана куполообразна лезия с определена височина, която може да бъде измерена. При него е по-вероятно след слягане да се развие атрофична зона.

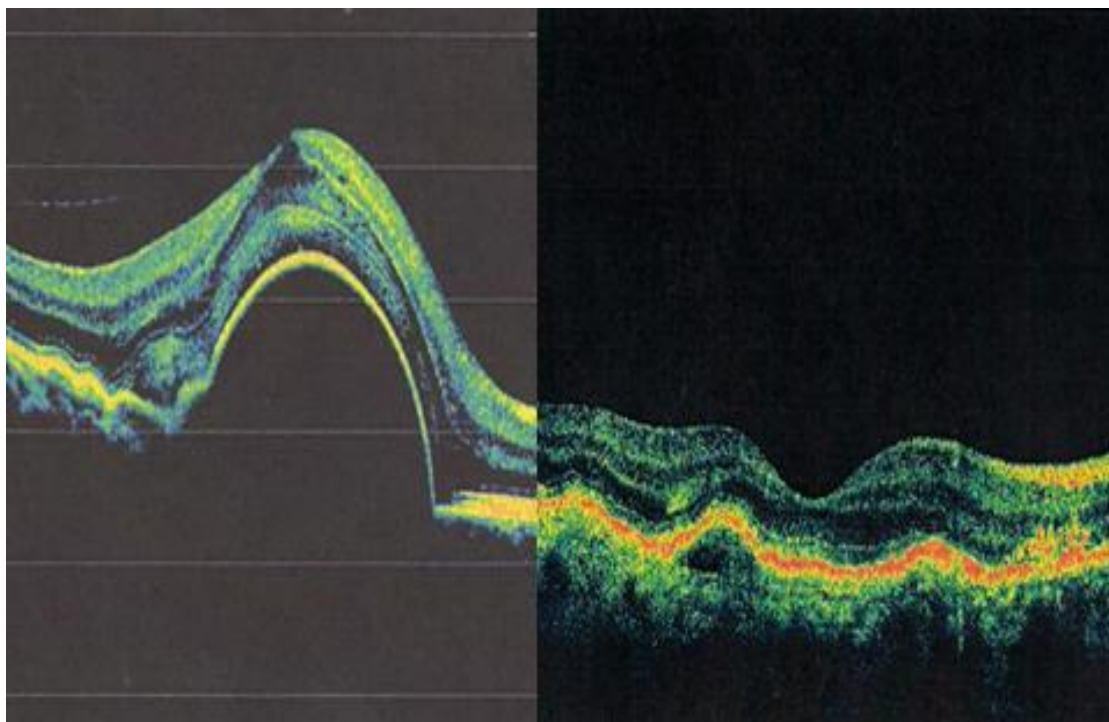
Хеморагичното отлепване на РПЕ, наречено от някои автори васкуларно, е тежко усложнение на МДСВ и се среща при тип 1 окултна неоваскуларна мембрана. На ОСТ се вижда отново като добре очертана лезия, с хиперрефлексивни сенки в нея – вероятно кръв или интравитреални ексудати. По-късна форма на хеморагичното отлепване е фиброваскуларното, което предшества образуването на дисциформен цикатрикс. Като цяло васкуларното отлепване на РПЕ е с повишен риск за образуване на дисциформен цикатрикс. В 10% от случаите се получава разкъсване на РПЕ, което често се потенцира от провежданата анти-VEGF терапия. Естественият ход на този вид отлепвания е до силно намаляване на зрителната острота.

В нашето проучване, особено при пациентите, лекувани с aflibercept (Eylea), наблюдавахме постепенно слягане на отлепването на РПЕ, което беше най-изразено след първите 3 натоварващи дози от интравитреални инжекции (фиг. 105).



Фиг. 105. Промяна във височината на отлепването на РПЕ след прилагането на анти-VEGF Eylea. На 1-ви и 3-ти месец след поставянето на инжекциите

В някои от случаите на пациенти, лекувани с друг препарат, прилагането на Eylea, доведе до драстично намаляване на височината на отлепването (фиг. 106).

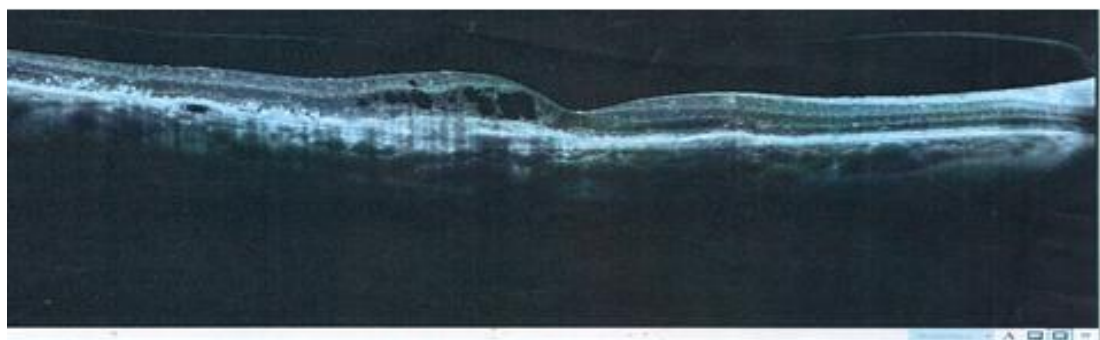


Фиг. 106. Пациент с отлепване на РПЕ преди и след прилагането на Eylea

В някои от случаите промяната се виждаше още след прилагането на първата инжекция на препарата, а в други след 3-ата насищаща доза (фиг. 107).

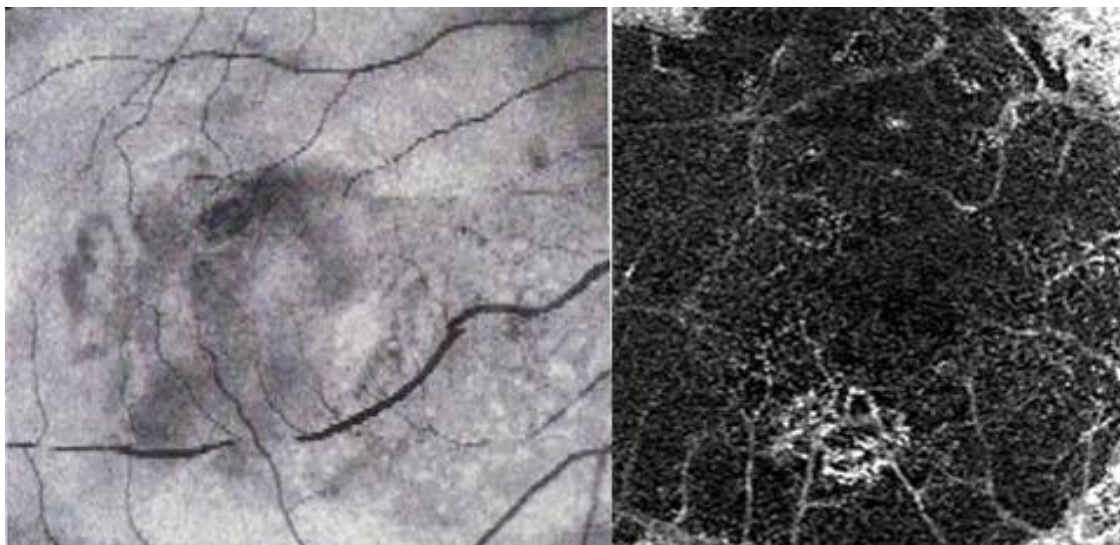


Пациент на 65 год. Преди и след 4 инжекции Eylea.



Фиг. 107. Пациент с голямо отлепване на РПЕ преди и след 4 инжекция с Eylea

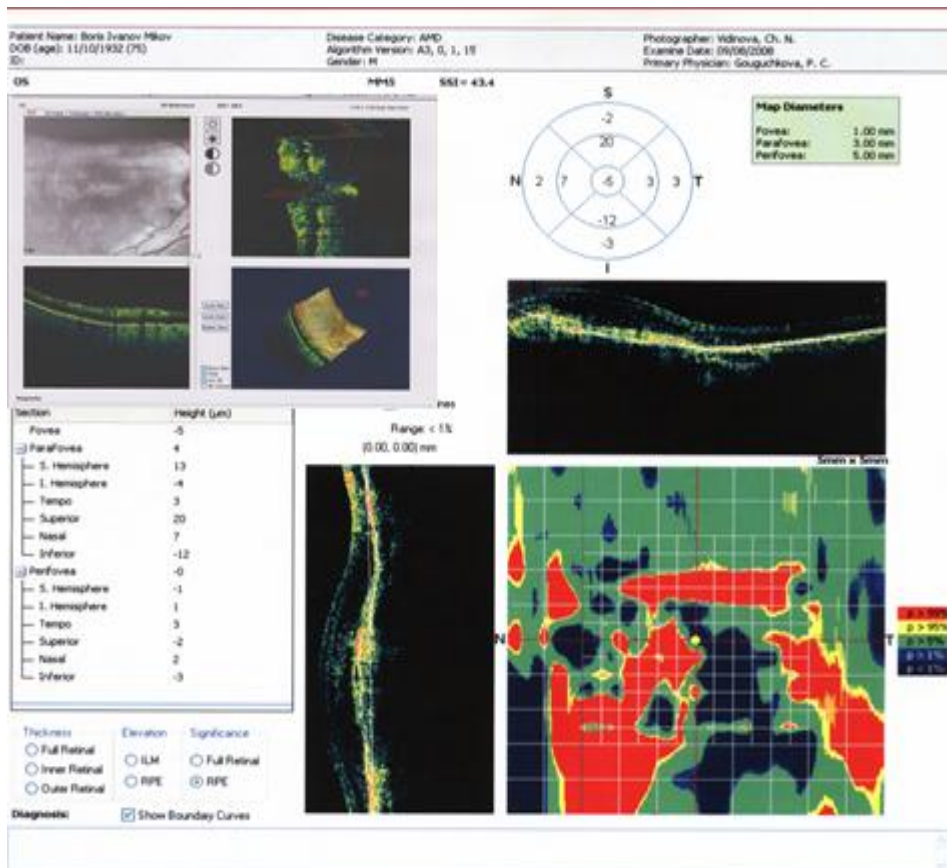
Промените във височината на отлепването на РПЕ, както и неговите характеристики могат да бъдат документирани с помощта на ОСТ диагностика, както и с помощта на ангио-ОСТ (фиг. 108). С програмите за количествен анализ е възможно да се измери както площта на отлепването, така и неговата височина. Нашите изследвания на пациенти с отлепване на РПЕ – 36 лекувани с трите вида медикаменти – Lucentis, Avastin и Eylea – съответно 7, 5, 24, показаха следните резултати: При пациентите, лекувани с Lucentis, се наблюдава намаляване на височината на васкуларното отлепване на РПЕ от средно 456 μ на 301 μ или средно с 155 μ в продължение на 1 година от терапията. При пациентите, лекувани с Avastin, не се наблюдаваше промяна във височината на отлепването. При пациентите, лекувани с Eylea наблюдавахме по-изразено намаляване на височината на отлепването на РПЕ от 460 μ на 275 μ средно или около с 185 μ в продължение на 1 година.



Фиг. 108. OCT ангиография на отлепване на РПЕ, наличието на неоваскуларна мембрана при сканирането на дълбокия васкуларен плексус показва, че става дума за васкуларно отлепване на РПЕ

Правеше ни впечатление, че намаляването на височината на отлепването е толкова по-изразено, колкото по-високо е то първоначално. Съществуваше правопрпорционална зависимост между първоначалната височина на отлепването и ефектът от лечението.

Преминаването от друг препарат на aflibercept показва добри резултати при пациенти с резистентни на лечение дотогава отлепвания на РПЕ. Като цяло ефектът при преминаване от друг препарат към Eylea беше много по-изразен по отношение на зрителната острота и анатомичните резултати при пациенти с отлепване на РПЕ. В повечето случаи 6 месеца след преминаване към Eylea се наблюдава значимо повлияване на височината на отлепването, което се запазва до края на първата година от терапията.



Фиг. 109. Количествен анализ на площта и височината на отлепването на РРЕ

Това, което правеше впечатление, беше, че при пациентите с отлепване на РРЕ, което е хипорефлексивно, се наблюдаваха по-добри резултати от терапията. Обратно, в случаите на хиперрефлексивност на отлепването на РРЕ резултатите не бяха толкова добри. Можем да кажем, че хипорефлексивността на отлепването е положителен прогностичен фактор за по-добър отговор на терапията с анти-VEGF препаратите.

Лечението на пациентите по схемата T&E позволи да проследим възможността да се прилагат анти-VEGF препаратите на по-големи интервали, без да се получи рецидив на състоянието. Това дава възможност за намаляване на броя на инжекциите, повишаване качеството на живот на пациентите и подобряване на комплайанса. При тази схема интервалите на проследяващите визити се избират спрямо клиничното протичане на заболяването при отделните пациенти. Така, когато пациентът не показва признаци на активност на заболяването – няма течност в макулата, интервалите на проследяване се раз-

реждат и обратното, ако се появи течност в макулата, интервалите на проследяване и инжектиране се скъсяват.

Резултатите показват, че на 52-рата седмица при пациентите от групата, лекувана с Lucentis, най-късият интервал на прилагане на лекарството е 8 седмици при 56.7%, 12 седмици е при 44.3%, а 16 седмици няма при никой. В групата с Avastin се наблюдават близки резултати – най-късият интервал на прилагане на лекарството е 8 седмици при 58.2%, 12 седмици е при 42.8%, а 16 седмици няма при никого. При групата лекувана с Eylea най-късият интервал от 8 седмици се наблюдава при 40%, 12 седмици при 39%, а при 20% има удължаване до интервал 16 седмици. Това показва, че последният дава възможност да бъде използван през доста по-големи интервали през втората година до 2-3 пъти годишно, което е голямо предимство за пациентите. Протоколът ТАЕ дава възможност за индивидуализирана терапия, която избягва недостатъчния или прекаления брой инжекции. Съвременното схващане е да се търси индивидуализирана терапия на основата на ТАЕ, която най-пълно да отговаря на нуждите на конкретния пациент. Сравнителна характеристика на трите медикамента използвани при лечението на влажна форма на МДСВ, е показана на табл. 8.

Таблица 8. Сравнителна характеристика на трите изследвани анти-VEGF препаратите

Лекарствено вещество	Механизъм на действие	Интервал между инжекциите	Средно промяна в зрителната острота	Средна промяна на ретинната дебелина ОСТ	Кръв в съткло видното тяло	Повлиява ли при РАП
LUCENTIS Ranibisumab 5mg/ml	Малък фрагмент от антитяло. Блокира анти- VEGF факторите	8 седмици	1 ред 0,2-0,3	около 100 микрона	не е особено ефективен	обещаващ резултат
Avastin Bevacisumab 25 mg/ml	Цялата молекула на антитялото. Блокира анти-VEGF факторите	8 седмици	1 ред 0,2-0,3	Около 100-150 микрона	Добър ефект – под Помага резорбцията	Не повлиява
EYLEA (Aflibercept) 2,5 mg/ml	Чисто човешки протеин Блокира anti –VEGF и	12-16 седмици По-малък брой инжекции	1-2 реда до 0,3- 0,4.	150 микрона	добър ефект.	не повлиява.

От нея ясно се вижда, че изследваните 3 групи пациенти, макар и лекувани с различни препарати, показват приблизително еднакво добри резултати по отношение на зрителната си острота и дебелината на макулата. Прави впечатление, че само aflibercept дава малко по-добри резултати от останалите. Предимство на препаратите е възможността да се поставя през по-дълги интервали, 16 седмици, при стабилни пациенти, което позволява да се намали значително броят на инжекциите във времето.

Сравнителен анализ между различните препарати

Таблица 9. Показани са резултатите по отношение на ретинна дебелина и ЗО и на 3-те препаратите за период от 2 години. Резултатите са приблизително еднакви, като само Eylea дава малко по-добър резултат от останалите 2

Kruskal Wallis Test

Показател	Препарат за лечение на МДСВ	N	Mean	Median	SD	Min	Max	p
Начална зрителна острота	Avastin	20	0,10	0,10	0,00	0,10	0,10	n/a
	Lucentis	22	0,10	0,10	0,00	0,10	0,10	
	Eylea	84	0,10	0,10	0,00	0,10	0,10	
Крайна зрителна острота на 2-рата година	Avastin	20	0,18	0,20	0,07	0,05	0,30	< 0,001
	Lucentis	22	0,20	0,20	0,07	0,05	0,30	
	Eylea	84	0,36	0,40	0,06	0,20	0,40	
Брой букви повече	Avastin	20	4,15	5,00	2,62	0,00	7,00	< 0,001
	Lucentis	22	4,86	5,50	2,38	0,00	8,00	
	Eylea	84	7,55	8,00	0,68	5,00	8,00	
Ретинна дебелина начало	Avastin	20	350,75	345,00	51,11	230,00	450,00	0,003
	Lucentis	22	371,86	363,50	42,90	250,00	450,00	
	Eylea	84	391,70	400,00	43,94	310,00	460,00	
Ретинна дебелина след лечение	Avastin	20	248,75	230,00	55,31	200,00	400,00	0,695
	Lucentis	22	242,82	220,00	74,25	120,00	400,00	
	Eylea	84	241,32	230,00	48,04	160,00	350,00	

Индивидуалната схема на ТАЕ е приложима и при трите препарата, като при всички пациенти трябва да се преценят индивидуалните особености на заболяването, преди да се започне с един или друг препарат. Avastin обаче дава най-добри резултати според нашите изследвания за разнасяне на кръвта от стъкловидното тяло. Ето защо се препоръчва да се поставя 3-7 дни преди витреална хирургия и дори по време на самата процедура, за да се намали интраоперативното кървене. Много добри резултати при пациенти с хемофтальм наблюдавахме и при пациентите, лекувани с Eylea. Макар и в по-малка степен препаратът подпомага по-бързата дезинтеграция на еритроцитите. От всички изследвани от нас пациенти само при тези с РАП и Lucentis се наблюдава повлияване на състоянието и забавяне скоростта на развитие на процеса. Останалите препарати не дадоха желания резултат.

Резултати след терапията

Сравнителен анализ на резултатите преди и след лечение

Таблица 10. Сравнителен анализ на резултатите от трите препарата Avastin, Lucentis, Eylea по отношение на ЗО и ретинна дебелина. Вижда се, че и за трите препарата $p < 0,001$, т.е. и при трите имаме статистическа достоверност

Wilcoxon Signed Ranks Test

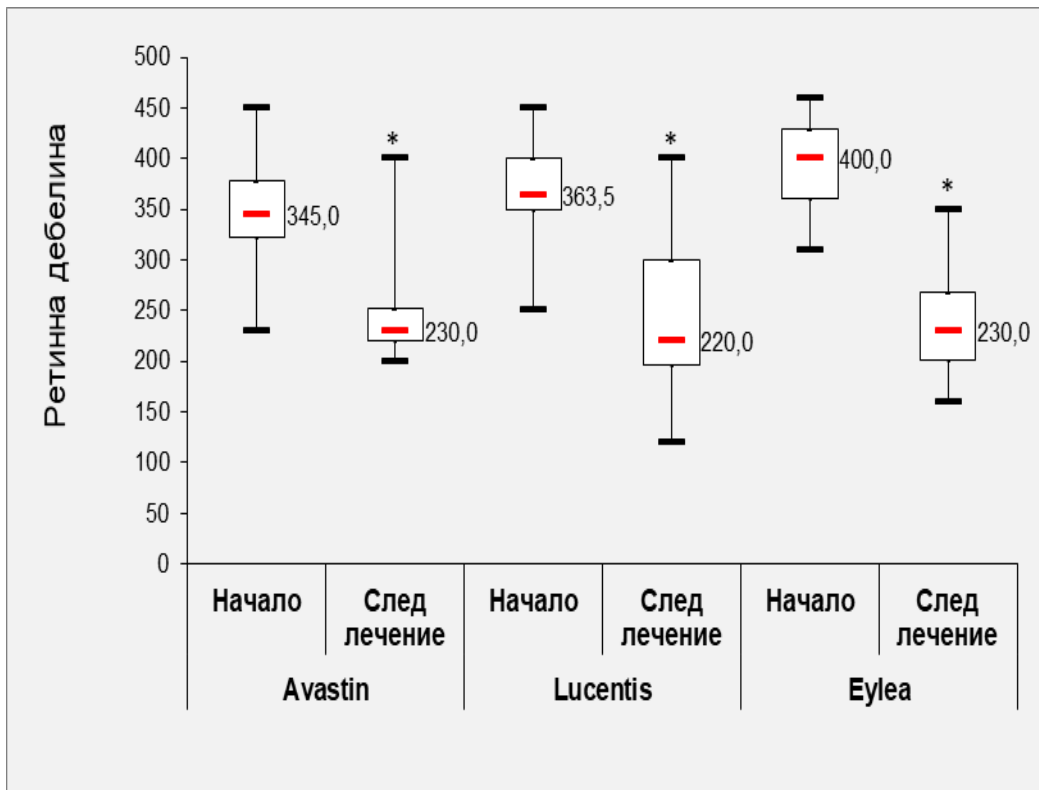
Сравнения	Препарат за лечение на МДСВ		
	Avastin	Lucentis	Eylea
	p	p	p
Крайна зрителна острота на 2-рата година – Начална зрителна острота	< 0,001	< 0,001	< 0,001
Ретинна дебелина след лечение – ретинна дебелина начало	< 0,001	< 0,001	< 0,001

Статистическите данни показват, че и трите препарата имат статистически значим ефект – т.е. те са ефективни при лечението на пациенти с МДСВ. Вижда се, че и за трите препарата $p < 0,001$, т.е. и при трите имаме статистическа достоверност.

Данните от сравнителния анализ показват, че препаратите Avastin и Lucentis имат почти еднакъв ефект по отношение на ЗО и ретинна дебелина. И двата препарата водят до подобряване на ЗО на втората година до 0.2, или средно с 5 букви. По същия начин двата препарата водят до почти идентично редуциране на ретината до 230 μ .

Малко по-ефективен се оказва препаратът Eylea, който дава подобрение на ЗО на втората година до 0.4, или средно с 8 букви за втората година. По отношение на ретинната дебелина ефектът на препарата е съпоставим с ефекта на останалите 21, като се отчита почти сходно намаление на ретинната дебелина.

Още по-демонстративно тези получени резултати са онагледени на фиг. 110.



Фиг. 110. Намалвяване на ретинната дебелина след прилагането на различните анти-VEGF препарати. Най-силна е редукцията на ретинната дебелина при пациентите, лекувани с Eylea

Усложнения на лечението с анти-VEGF препарати

Усложненията след анти-VEGF терапията могат да се разделят на две големи групи:

- Усложнения, дължащи се на самата инжекция
 - Ендофталмит.
 - Отлепване на ретината
 - Повишено ВОН.
 - Кръвоизлизи – субконюнктивни, ретинни.
 - Системни странични ефекти
- Усложнения дължащи се на развитието на МДСВ.
 - Резистентност на терапията
 - Разкъсване на RPE.
 - Атрофия на ретината.
 - Фиброза

При разглежданата от нас извадка усложненията, дължащи се на поставянето на интравитреалните медикаменти (ИВМ) бяха под 7%. От тях основно наблюдавахме субконюнктивни хеморагии и повишаване на ВОН. При 1 от изследваните пациенти се получи енд офталмит. Не сме наблюдавали пациенти с отлепване на ретината или ретинални кръвоизливи.

Субконюнктивните хеморагии бяха доста чести – при около 10% от всички пациенти, лекувани с интравитеални медикаменти, като по-често се срещаха при тези от тях, които бяха на антикоагулантна терапия. Обикновено тези кръвоизливи са бенигнни и сами изчезват след около 7 дни. Много рядко се наблюдава по-изразен кръвоизлив при засягане на някои от по-големите съдове.

Повишаването на ВОН след интравитреалната инжекция беше често срещана компликация, която наблюдавахме при 30% от инжектираните пациенти. Най-често повишаването на налягането се наблюдаваше при пациенти, суспектни за глаукома или с доказана глаукома, и се случваше към 30-ата мин след инжекцията до към първия час. Вариациите на ВОН бяха в диапазона 23-26 mm Hg като при нито един от пациентите ни не се наблюдава налягане над 30 и не се наложи терапевтична парацентеза. При 25 от наблюдаваните пациенти се установи трайно повишаване на ВОН и нужда от включване на антиглаукомна терапия. Ние го обясняваме с постоянното въвеждане на допълнително количество вещество в стъкловидното тяло, което при предразположени пациенти, с промени в преднокамерния ъгъл води до развитие на глаукома.

Не наблюдавахме усложнение от разкъсване и отлепване на ретината при нашите пациенти. Такива усложнения се развиват много рядко и се дължат на неправилна техника на интравитреалната инжекция, най-вече грешно място на поставяне и различно от регламентираното отстояние от лимба.

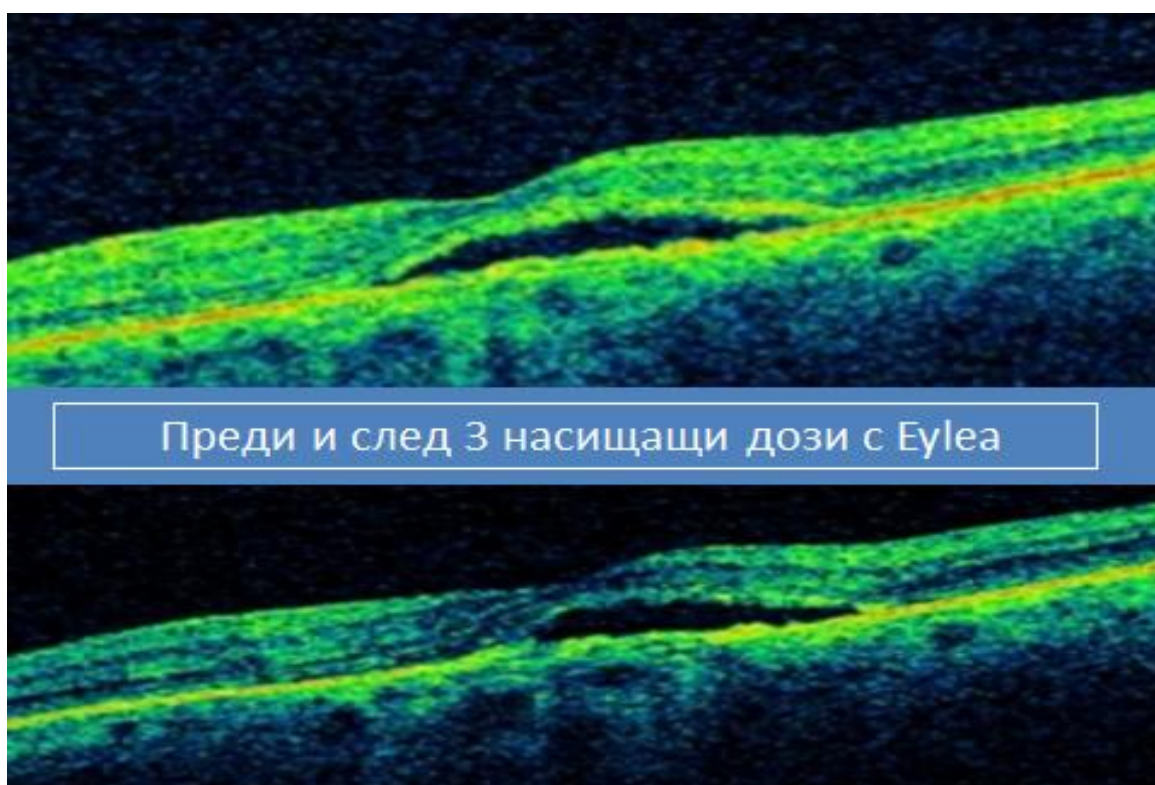
От по-голямо значение бяха усложненията, дължащи се на развитието на МДСВ.

Най-тежкото и неприятно от тях беше развитието на субретинна фиброза, свързана с необратимо увреждане на зрителната острота. За съжаление, то-

ва усложнение не беше много рядко и в повечето случаи се свързваше с използването на по-силно действащи анти-VEGF препарати.

Неповлияване от терапията

Макар изключително рядко имахме случаи на неповлияване от проведената терапия. Често след 3-та насищаща доза състоянието оставаше непроменено или дори течността в ретината се увеличаваше.

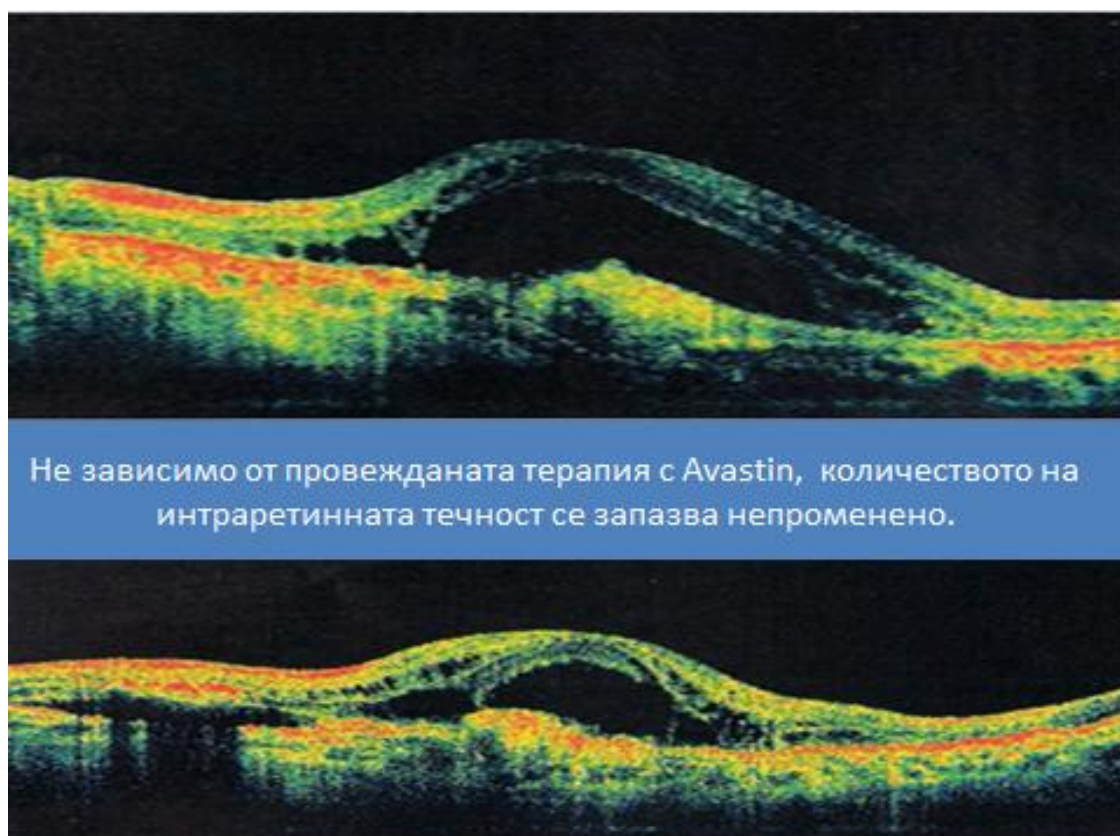


Фиг. 111. Пациент с влажна форма на МДСВ и неповлияващо се от терапията състояние

Като неповлияване на състоянието разбираме не само липсата на положителна промяна, като намаляване на количеството течност, на големината на отлепването на РПЕ, но и запазване на състоянието, както е било преди терапията. Ако 4 седмици след последната инжекция на анти-VEGF се запазва същото количество течност в ретината, то тогава имаме работа с рефрактерна на терапия макулна дегенерация. Нашите изследвания показаха, че при сравнително малък процент – 7% от изследваните 126 пациенти с влажна форма и 9 с РАП, се наблюдава липса на ефект от провежданата анти-VEGF терапия.

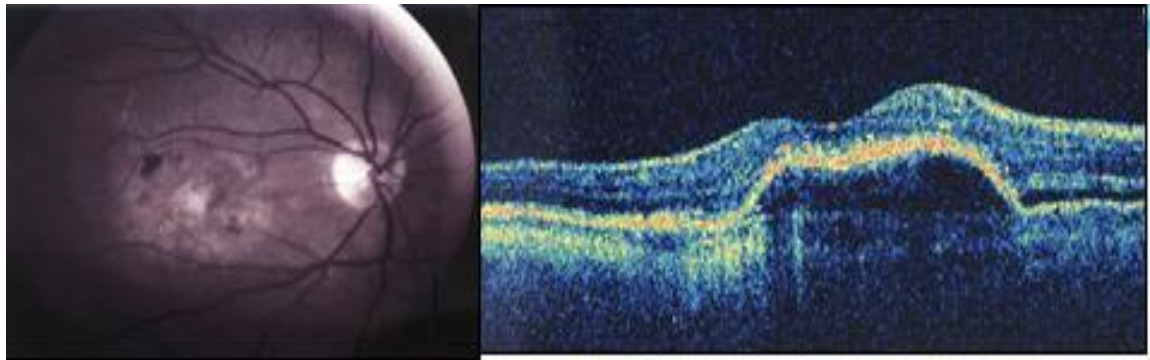
Нашите изследвания показаха, че най-често неповлияване от терапията имаме при:

- Пациенти с хроничен едем и кисти в макулата в резултат на него.
- Пациенти с налични хиперрефлексивни отлагания на ниво на РПЕ, особено такива, които са централно разположени или ясно отграничени.
- Пациенти с хеперрефлексивно отлепване на РПЕ, което е с голяма височина.

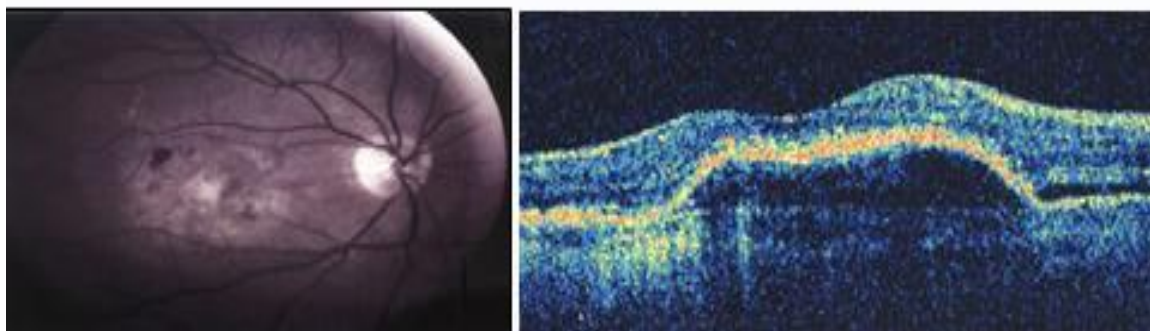


Фиг. 112. Пациент с влажна форма на МДСВ, кистовиден оток и хиперрефлексивна зона на ниво РПЕ. Виждаме, че не се постига ефект от провежданата терапия

Освен пациентите с рефрактерен на терапия интратретинен оток, особен проблем са и тези с резистентни на лечение отлепвания на РПЕ. Обичайно при тях наблюдавахме наличието на хиперрефлексивни зони и отлагания на мястото на отлепването. При изброените групи пациенти лечението трябва да започне максимално рано и при най-къси възможни интервали, за да се очаква запазване на състоянието в неговия първоначален вид.



Пациент с влажна форма на МДСВ и хеперрефлективно отлепване на РПЕ, който не се повлиява от лечението с Eylea.



Фиг. 113. Пациент с рефрактерно на терапия хиперрефлективно отлепване на РПЕ

Също така препоръчителна е смяна на терапията с друг препарат за преодоляване на рефрактерността.

Разкъсване на РПЕ

Разкъсването на РПЕ е било описано за първи път през 1981 год. от Hoskin et al. като усложнение на МДСВ. Разкъсването може да бъде резултат на естественото развитие на заболяването при окултна форма на МДСВ, РАП или да се провокира от провежданата терапия за МДСВ – най-вече интравитреални инжекции. Това усложнение се среща в 5-25% от случаите. Спонтанното разкъсване на васкуларните отлепвания на РПЕ се среща в 10% от случаите. По-големият процент е свързан с продължително поставяне на анти-VEGF медикаменти. Още 2006 г. има описани случаи за разкъсване на РПЕ след поставяне на Avastin. Разкъсването на РПЕ може да се получи спонтанно като стадий на болестта или да са резултат на множеството повтарящи се интравитреални инжекции. Доказано е, че анти-VEGF препаратите предизвикват

съкращаване на неоваскуларните мембрани и това е основната причина да акселерират процеса на разкъсване на РПЕ. Смята се, че основният механизъм на разкъсването е свързан с контракция на намиращи се по вътрешната повърхност на васкуларното отлепване фиброваскуларни мембрани. Така на границата отлепване/нормална ретина действат две взаимно противодействащи си сили – контракция на мембрана и адхезивните сили между РПЕ, което води до разкъсване на РПЕ.

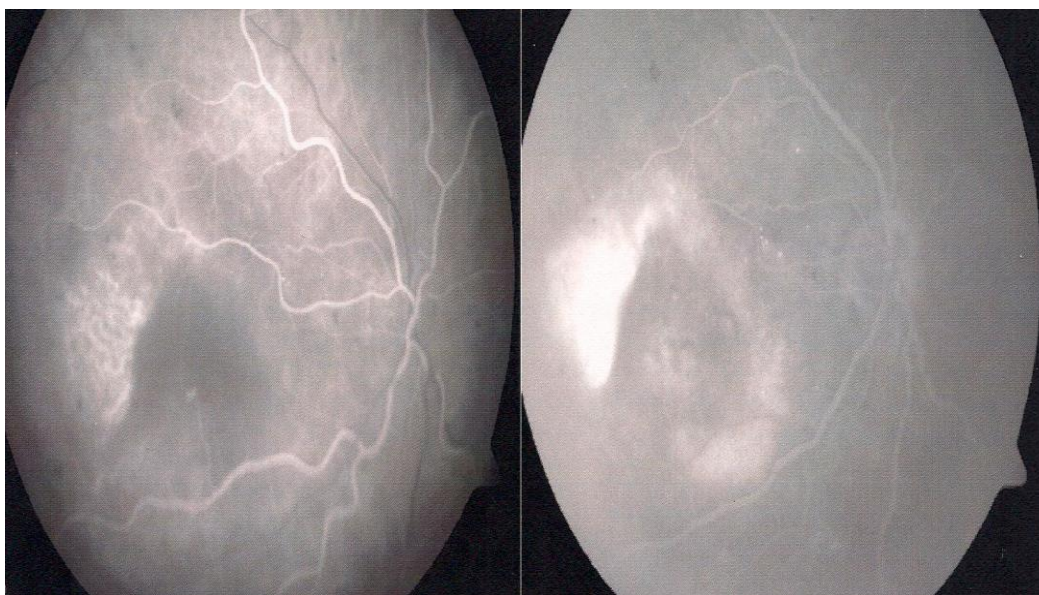
Отлепването на РПЕ е свързано с рязък спад на зрителната острота.

В наблюдаваната от нас извадка имахме 3 случая на разкъсване на РПЕ.

В един от случаите ставаше дума за 65-годишен пациент с изразено серозно отлепване на РПЕ, с изразена височина. Пациентът е лекуван с Avastin в продължение на 1 година – 8 инжекции. След 8-та апликация зрителната острота внезапно се влошава от 0.2 на 0.01, а при ОСТ изследването се наблюдава разкъсване на РПЕ – фиг. 114.

Наличие на *хиперрефлексивност* на отлепването на РПЕ, видимо на ОСТ, говори за наличие на активна неоваскуларизация на отлепването и като цяло повишава риска от разкъсвания. Напукванията на РПЕ се визуализират на ФА с преминаване на багрило в субретинното пространство и леко размазване на границите на лезията, което също е рисков фактор за разкъсване.





Фиг. 114. Пациент с разкъсване на РПЕ след терапия с анти-VEGF

Най-интересна е връзката между риска от разкъсване и *давността на отлепването*. По наши наблюдения отлепвания с *по-малка давност*, сравнително пресни, са с по-голям риск от развитие на това усложнение, най-вероятно поради наличието на млада неоваскуларна мембрана, която по-лесно се контрахира. Обратно по-старите отлепвания обичайно са фиброваскуларни, с по-малко активни неосъдове и по-малко възможности за контрактилни сили.

Най-вероятно към рисковите фактори за развитие на разкъсване на РПЕ трябва да се причисли и *дозата на прилагания медикамент*. В нашето проучване нямаме пациенти с различни дози на един и същи медикамент, но резултатите на други автори показват, че повишената доза от някое анти-VEGF вещество може да доведе до засилване на контрактилните сили в неоваскуларната мембрана и да увеличи риска от развитие на разкъсване на РПЕ.

Това, което препоръчваме, е активното търсене на рискови фактори за развитието на разкъсване на РПЕ. При наличие на такива да се прави задължително ОСТ оценка след всяка апликация на анти-VEGF медикаменти. В случай на акумулиране на рискови фактори или поява на нови да се спре за известно време поставянето на медикамента или ако това е невъзможно, да се намали дозата наполовина. След изчакване за период от един месец обикно-

вено се наблюдава възвръщане към нормалното състояние на отлепването на РПЕ и става възможно да се продължи с терапевтичната схема.

От наблюдаваните от нас случаи на разкъсване на РПЕ 2 бяха на пациенти с bevacisumab, а другият, на пациент, лекуван с Eylea. Нито един не беше от групата пациенти на лечение с ranibicimab. Макар данните да не са статистически значими за обобщение и изводи, все пак можем да изтъкнем, че препаратите с по-изразено действие по отношение на свиване на неоваскуларната мембрана, каквито са посочените 2 медикамента, са по-рискови за разкъсвания на РПЕ. Известно е, че aflibercept има много по-голям афинитет на свързване към анти-VEGF факторите – 140 пъти по-голям от ranimizumab и времето на полуживот на препарата в стъкловидното тяло е повече от 1 месец, с което превъзхожда всички останали препарати от тази група. Той свързва не само всички изомери на анти-VEGF А, но също анти-VEGF В и плацентарния растежен фактор. Именно заради тези свойства се смята, че препаратът, подобно на Avastin, има по-силно действие върху неоваскуларните мембрани и би могъл да предизвика по-силни контрактилни сили в тях. За това, макар да действа изключително добре на отлепванията на РПЕ, трябва винаги да се прилага при такива пациенти, които нямат рискови фактори за разкъсване на РПЕ. Индивидуалната терапия на пациентите с МДСВ изисква лечение на различните пациенти с различни препарати. При пациенти с висок риск от разкъсване е добре да се премина към терапия с Lucentis. При разкъсване на РПЕ ние препоръчваме да се прекрати поставянето на интравитреалните инжекции и да се мониторира по-често състоянието. При наличие на активност на неоваскуларната мембрана е по-добре да се продължи терапията, като се прилага по-ниска от обичайната доза. Препоръчително е използването на 0.5 mg Lucentis. При всички случаи мониторирането на високорискови пациенти е много важно.

Фиброза на РПЕ

Фиброзата на макулата е последният стадий на МДСВ. Състоянието е описано от Pagenstecher, 1875. Макулната фиброза води до унищожаване на РПЕ, фоторецепторите и до сериозно увреждане на зрителната острота. Спонтанно като естествен ход на заболяването фиброзата се развива в 39% от случаите, но след въвеждането на интравитреалните инжекции този процент нараства на 55%. Клинично фиброза наблюдавахме при 12% от изследваните от нас пациенти. На офталмоскопия фиброзните участъци се наблюдаваха като добре отграничени жълто-белезникави лезии на нивото на ретината. Фиброзните цикатрикси на ФА показват начална хипофлуоресценция в ранните фази и последваща хиперфлуоресценция по граничната повърхност. ОСТ диагностиката показваше субфовеоларна хиперрефлексивност, с ясно очертани граници. Субфовеоларната фиброза преминава през 3 стадия – като 3-ият стадий е свързан с наличието на пълна атрофия на надлежащите слоеве на невросензораната ретина. В този случай активната и обратима неоваскуларизация се превръща в невъзвратима фиброза.

Патологията на субретинната фиброза е един процес, свързан с няколко основни фактора:

– *активиране на клетките на екстрацелуларния матрикс – миофибробласти, фибробласти и перицити;*

– *свърхекспресия на елементите на екстрацелуларния матрикс – глюкозаминогликани, колаген, ламинин, протеогликанови комплекси, фибронектин;*

– *включване на много растежни фактори и клетки на възпалението.*

Фиброзата е свързана с разрастване на съединителна тъкан и като цяло представлява завишено отлагане на елементи на междуклетъчния матрикса в процеса на възстановяване на тъканите. Възстановяването е процес, който включва активирането на клетките на възпалението и на фибробластите. В околото активираните фибробласти са миофибробластите и те синтезират протеини като фибронектин, ламинин и гликозаминогликани. Когато увреждането се повтаря или става въпрос за хронично възпаление, процесът на възс-

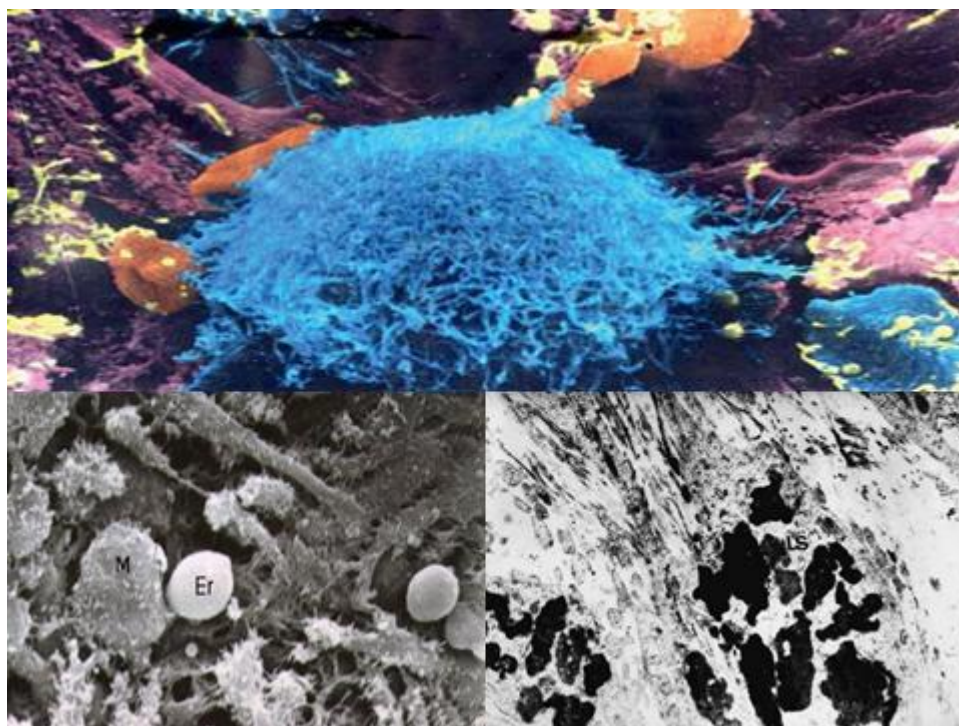
тановяване е не контролируем и се развива патологична ексцесивна фиброза. Фиброзата на макулата при МДСВ е различна от обичайната, защото се развива от предшестваща неоваскуларна мембрана. Ето защо тя е фиброваскуларна и в нея са включени и патологичните неосъдове с тяхната неосъдова мрежа. Макар процесите на макулна фиброза да остават все още лошо изучени от морфологична гледна точка, смята се че в процеса участват множество и различни по вид клетки – ендотелни, РПЕ, макрофаги, фибробласти и миофибробласти. Голямо значение се отделя и на глиалните клетки като участници в макулната фиброза. Много изследователи смятат, че те могат да се трансформират в миофибробласти. Оказва се, че в условията на патология при МДСВ мюлеровите глиални клетки отделят елементи на междуклетъчния матрикс и участват активно в ремоделирането на ретината. Мюлеровите клетки в тези условия губят глутамат сулфат и експресират α SMA, което е причина много автори да приемат, че те могат да се трансдиференцират в миофибробласти. От разглежданите при нас пациенти при 12 наблюдавахме развитие на субретинна фиброза. *Основните рискови фактори*, които ние можем да обобщим са следните:

- **Наличие на макулна хеморагия**
- **РАП или ПРВ**
- **Наличие на рефрактерни на терапия интравитреални кисти**
- **ОСТ изследване, показващо наличието на субретинално натрупване на хиперрефлексивен материал, който е централно разположен.**

Най-често фибротични промени наблюдавахме при пациентите, лекувани с bevacizumab и aflibercept. Като цяло по-силно действащите анти-VEGF препарати след продължително прилагане – 2 години, водят до развитие на фиброза, в порядъка от 12-14%.

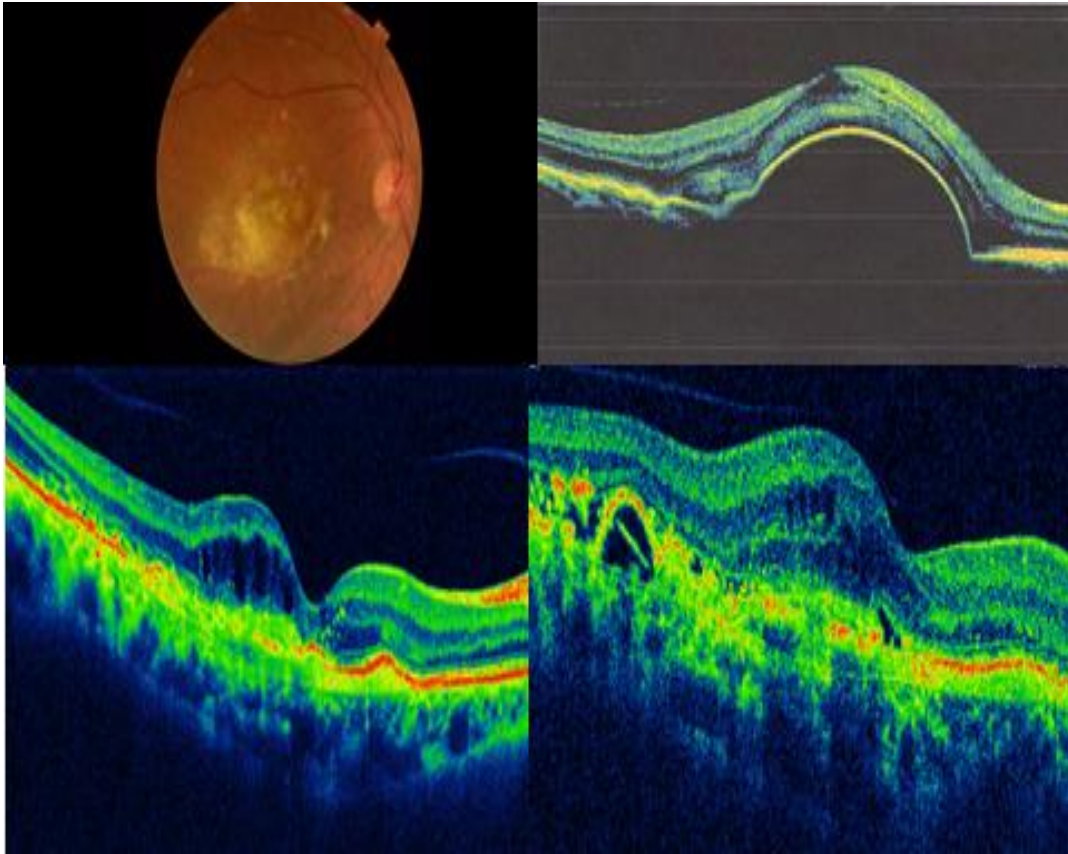
Хистологичните изследвания на субретинните мембрани показаха наличието на васкуларна мрежа и фиброзни елементи. Ставаше дума за фиброваскуларна тъкан. В по-голямата част от случаите се оказа, че фиброзната тъкан е изградена главно от фибробласти, РПЕ клетки, астроглиални елементи и голямо количество макрофаги и елементи на възпалението. Оказва се, че при

пациентите, лекувани с Eylea, наблюдаваме повишено количество на макрофаги и елементи на възпалението. Най-вероятно това се дължи на повишената имуногенност на прилагания препарат.



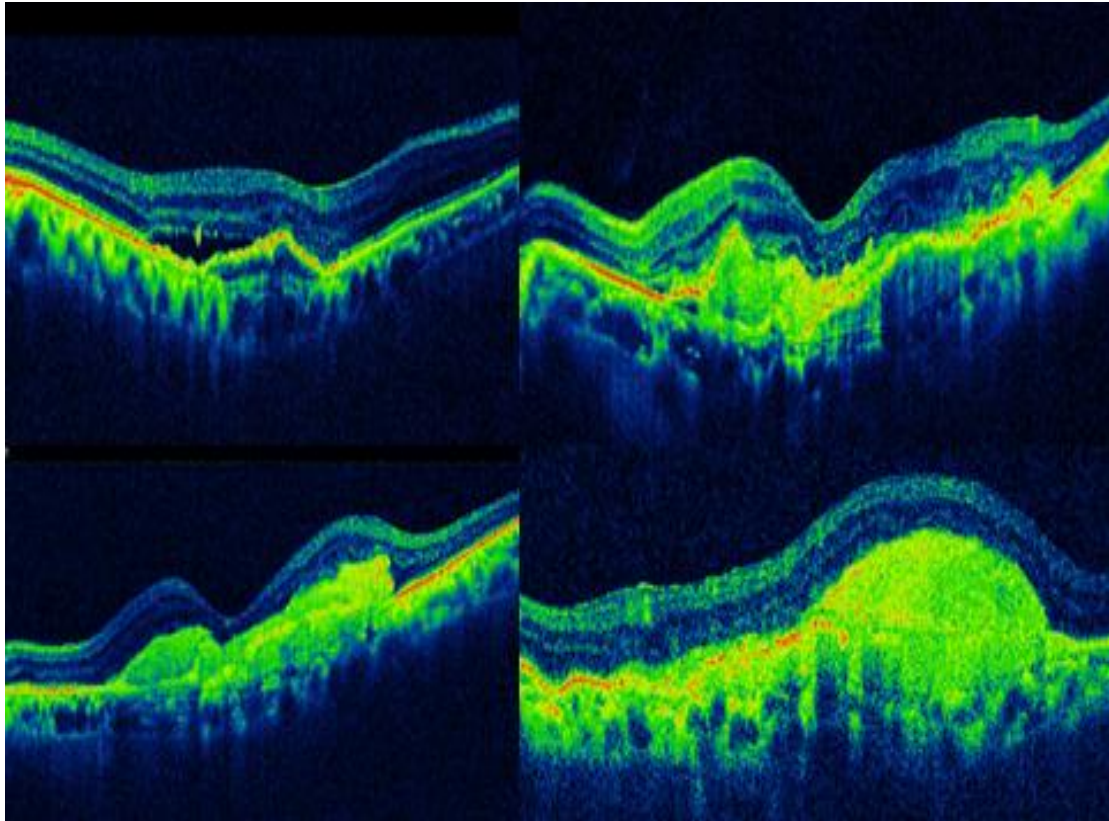
Фиг. 115. Наличие на голямо количество макрофаги във фиброзната тъкан след лечение на пациентите с Eylea

Повечето пациенти с фиброза бяха като показания по-долу клиничен случай. Касае се за 64-годишна жена с рефрактерно на терапия отлепване на РПЕ, лекувана с 3 апликации на Avastin без резултат. При преминаване на лечение с Eylea се наблюдава бързо изглаждане на отлепването още след първите 3 насищащи дози. След 1 година се наблюдава рецидив на заболяването и ново отлепване на РПЕ, с натрупване на хиперрефлексивен материал субфовеоларно. През втората година се наблюдаваха повторни рецидиви и в крайна сметка се стигна до развитие на фиброза с намаляване на зрителната острота. Резултатите от нашите няколкогодишни изследвания показват, че с най-голям риск от развитие на фиброза са пациентите с отлепване на РПЕ, съчетано с интравитреални кисти.



Фиг. 116. Пациент с МДСВ след лечение с Eylea

Тези пациенти се повлияват бързо с Aflibercept и се получава бързо изглаждане на отлепването. В повечето случаи обаче се получават рецидиви и в крайна сметка се развива фиброза със загуба на зрение. Сравнявайки клетъчния състав на фиброзната тъкан след лечение с Eylea и bevacizumab, можем да кажем, че те са приблизително еднакви по състав.



Фиг. 117. Същият пациент на втората година от лечението, който развива изразена фиброза

Единствената разлика е в клетките на възпаленето, чийто брой е увеличен при пациентите, лекувани с Eylea.





Фиг. 118. Клетъчен състав на фиброзната тъкан при пациентите, лекувани с Avastin и Eylea. Оказва се, че количеството на Фибробластите и РРЕ е почти еднакво, но при лекуваните с Eylea наблюдаваме по-голямо количество клетки на възпалението

Възпаление и енд офталмит след интравитреални инжекции

По статистически данни честотата на възпалителните реакции и по-специално на енд офталмитите е изключително ниска за интравитреалните инжекции. В световен мащаб това е най-честата офталмологична процедура след катаракталната хирургия. Ако при катаракталната хирургия честотата на енд офталмита е средно между 0.09 и 0.33, то при интравитреалните инжекции е от порядъка на 0.03. В нашите пациенти – общо 126 пациенти с влажна форма на МДСВ и атипичните форми – 14 души, само при 2 се наблюдава наличието на енд офталмит. В тези случаи се касаеше за пациенти, лекувани с Avastin. По-голямата честота на енд офталмита след лечението с Avastin се обяснява с възможността за контаминиране на лекарството по време на приготвянето на инжекционния разтвор. Препоръчително е внимателното изтегляне на лекарството с филтърна игла за еднократна употреба, както и разделянето на лекарствения разтвор на няколко пациенти едновременно, за да не се

налага престояването му в хладилник и увеличаване на риска от възможна контаминация.

Клиничните прояви на очното възпаление бяха еднакви при 2 пациенти, като се характеризираха с намаляване на зрението, зачервяване и болка. Тези оплаквания се появяваха средно на 3-4-ия ден след поставянето на интравитреалната инжекция. Впоследствие се наблюдаваше изразено помътняване на стъкловидното тяло поради развиващия се витрит. На по-късен етап към 5-6-ия ден се развиваха клиничните белези на преден увеит с хипопион и синехиране на зеницата. В 1 от случаите вследствие на проведеното своевременно антибиотично лечение се наблюдава възстановяване на зрението, макар че не се възвърна зрителната острота напълно. При другия пациент състоянието не се подобри и се наблюдава трайно ниска зрителна острота. Лечението е главно с антибиотици, а в тежки случаи може да се направи терапевтична витректомия, с поставяне на антибиотик в стъкловидното тяло. Протичането на ендофталмита зависи много от вирулентността и вида на патогенния микроорганизъм. Много изследвания доказват, че ендофталмитите след катарактална хирургия се дължат на попадане на *Staphylococcus epidermidis* и *Staphylococcus aureus* вътре в окото, като тези бактерии произтичат от нормалната флора на конюнктивата и кожата и могат да попаднат в окото при недобре адаптиран разрез на роговицата. Статистиката показва също така, че пациентите с ендофталмит, предизвикан от *Staphylococcus epidermidis* се повлияват по-добре и протичат по-леко в сравнение с тези, предизвикани от по-силно вирулентни микроорганизми каквито са стрептококите и грам-негативните микроорганизми.

При изследваните от нас пациенти с развит ендофталмит бяха изолирани само стрептококи като причинител. Това беше и причината за като цяло по-тежкото и протрахирано протичане на възпалението. Наличието на стрептококи е свързано и с по-различен механизъм на контаминиране – най-вероятно чрез замърсяване на оперативното поле с въздушни капки или пръски при дишането на пациента или лекаря. Ето защо поставянето и носенето на пред-

пазни маски както на пациента, така и на лекаря намалява значително честотата и риска от развитие на енд офталмит след интравитреалната инжекция.

Основните препоръки за превенция на развитието на енд офталмит, които можем да изтъкнем, са следните:

1. Поставяне на интравитреалните инжекции в стерилна среда в операционна.
2. Носене на маска от пациента и от лекаря.
3. Поставяне на 5% разтвор на повидон йод на конюнктивата преди поставянето на инжекцията.
4. Поставяне на стерилен дрейп за отделяне на миглите и веждите от оперативното поле.
5. Поставяне на инжекцията в долнотемпоралният квадрант на конюнктивата.
6. Прилагане на антибиотична терапия след поставяне на инжекцията в продължение на 7 дни.

От особено значение е използването на повидон йод при подготовката за интравитреалните инжекции. Проучвания доказват, че той намалява наполовина колонизацията на конюнктивата с бактерии. Неговото значение е по-голямо от това на използването на антибиотични капки локално преди или след процедурата. При всички случаи трябва активно да се търсят признаците на очно възпаление – болка, зачервяване, намалено зрение, които ни насочват към правилната диагноза и навременното лечение.

ГЛАВА V. ДИСКУСИЯ

Настоящият дисертационен труд разглежда едно социално значимо заболяване – МДСВ, което по своята същност е една от водещите причини за слепота в световен мащаб заедно с глаукомата. Неговата разпространеност е всеобхватна и се смята, че до 2026 г. заболялите с МДСВ ще бъдат повече от 210 милиона души (2, 13, 21). Макар и широко изследвано през последните години, това заболяване все още се радва на небивал научен интерес и поставя редица въпроси, на част от които се постаряхме да дадем ясен отговор.

В нашето проучване бяха включени 274 пациенти, диагностицирани и лекувани в Очна клиника, ВМА – София и МЦ „Зрение“ – София, през периода от 2009-2020 г. (11 години). От тях 154 души бяха мъже, а 130 жени. Пациентите бяха на възраст между 61 и 83 години, средна възраст 69,6 години. Пациентите със суха форма на МДСВ са 50% от цялата извадка. Пациентите с влажна форма на МДСВ са 46%, а тези с атипични форми на МДСВ са 4% от всички (3, 22, 208). Обработката на данните показва, че в проучването са включени достатъчно голям дял пациенти както със суха, така и с влажна форма на заболяването, като това дава статистическа достоверност на получените резултати и за двете форми на заболяването. Малкият брой пациенти с атипични форми не дава възможност за статистическа значимост на резултатите, но насочва към проблеми за по-нататъшни научни търсения. От особен интерес са резултатите от отделната подгрупа на пациенти с МДСВ и хемофтальм – 11 очи, при които се направи ППВ, с изследване за електронна микроскопия и имунохистохимия.

Макулната дегенерация, свързана с възрастта, е една от основните причини за невъзвратима слепота при хора над 50 години. От особено значение е определянето на наличието или липсата на рискови фактори за прогресия на заболяването, както и дългосрочната прогноза по отношение наличието или липсата на прогресия на състоянието (205). Именно с тези теми се занимава настоящият дисертационен труд. Множество генетични, епидемиологични и

биохимични изследвания са направени, за да се разкрие комплексният механизъм на това мултифакторно заболяване. Оказва се, че голям брой рискови фактори, свързани с развитието на МДСВ – генетична предиспозиция, променен липидно-холестеролов профил,

кардиоваскуларна патология и фактори на средата, са всъщност рискови фактори и за други дегенеративни заболявания на стареенето, водещи до увреждане на организма като цяло (19, 20, 21). Нашите изследвания показват, че рисковите фактори при МДСВ могат да бъдат разделени на две големи групи: **общи и клинично-специфични рискови фактори.**

От общите рискови фактори според нас от най-голямо значение за появата и прогресията на състоянието са възрастта, артериалната хипертония, лошият липиден статус и затлъстяването.

Статистиката показва, че около 11 милиона души са болните от МДСВ в САЩ, а броят им в световен мащаб е 170 милиона души. В тази статистика заболялите в България са около 650 хиляди. **Основният рисков фактор за развитието на заболяването си остава възрастта (20).** Прогнозите сочат, че вероятно до 2050 г. броят на пациентите с МДСВ в САЩ ще бъде около 22 милиона, а по света около 280 милиона. Прогнозата за България е броят на заболялите да достигне 950 хиляди до 2050 г. Нашите изследвания показват, че общият брой на пациентите с МДСВ е средно около 35% от цялата очна патология, което означава голяма регионална и глобална значимост на заболяването и диагностичните проблеми, свързани с него.

Възрастта си остава основен рисков фактор, като в изследваната от нас извадка се оказа, че най-висок процент прогресия на състоянието имаме при пациенти над 65-годишна възраст (208). С всеки 5 години увеличаване на възрастта на пациентите се увеличава 3 пъти рискът от прогресия на състоянието. Нашите резултати показаха статистически значим превес на МДСВ при жените в съотношение 2:1 при $p = 0.0004$, като при тях наблюдавахме и по-голяма тенденция за прогресия на заболяването (201, 209).

Повишеното кръвно налягане е често свързвано с рисковите фактори за прогресия на МДСВ, тъй като при тези пациенти се намалява кръвотокът през

хориоидеята, което е предпоставка за дегенеративни изменения в тази зона. Още през 1977 г. Kahn et al. в своите проучвания докладват за връзка между МДСВ и хипертонията (Framingham Eye Study). В други изследвания (Vidaurre et al.) показват връзка между появата на друзи и диастолното налягане сред еврейското население. През 1986 г. Sperduto и Hiller публикуват труд за връзката между давността на хипертонията и развитието на МДСВ. Подобно на резултатите от тяхното проучване и нашите резултати показват, че пациентите с **давност на хипертонията повече от 10 години** са с двойно по-висок риск от развитие на МДСВ (20, 21, 22, 200). При над 60% от пациентите с 10 и повече години давност на хипертонията наблюдавахме прогресия на МДСВ. Интересен факт е, че пациентите с повишено диастолно налягане показаха риск от прогресия към влажна форма на МДСВ.

Това кореспондира с резултатите на Human et al. (2000 г., AMD Risk Factors Study Group). Yang et al. показват данни за повишена честота на МДСВ при хора с нелекувана хипертония в Китай.

Макар много автори да отричат зависимост между артериалното налягане и прогресията на МДСВ (BDES, POLA study (128), Cardiovascular Health Study (130), ние сме на мнение, че продължителното повишаване на артериалното налягане, особено на диастолното води до трайно влошаване на кръвотока в хориоидеята и е сериозна предпоставка за развитието на дегенеративни промени в зоната хориоидея, брукхова мембрана, РПЕ. Това според нас е и причината за по-големия риск от прогресия на МДСВ при тези пациенти.

От значение като рисков фактор за прогресията на МДСВ са и повишаването на серумния холестерол и патологичният липиден статус. Още през 1992 г. The Eye Disease Case-control Study Group consortium (107)] публикува резултати, показващи повишен риск от прогресиране на МДСВ към неоваскуларна форма при пациенти с повишени стойности на серумния холестерол. От друга страна, AMD Risk Factors Study Group (144) също потвърждава връзка между развитието на МДСВ и повишения холестеролов прием, както и по-високите нива на HDL липиди в кръвта. Проучването BDES (2013) доказва

връзка между повишените нива на холестерол в кръвта и развитието на географска атрофия у пациентите (109).

В нашето проучване наблюдавахме връзка между повишените нива на холестерол и триглицериди в кръвта и прогресията на географската атрофия при пациенти със суха форма на МДСВ. В 30% от случаите на повишен серумен холестерол наблюдавахме прогресия на географската атрофия. Тези наши резултати се потвърждават и от ALIENOR study (149), показващо връзката между повишените нива на HDL-C и развитието на друзи при МДСВ, както и от резултатите на Vassilev et al. (119) за повишения риск от МДСВ при пациенти с хиперлипидемия.

Предполагаме, че повишените нива на липидите и холестерола в кръвта стимулират отлагането на базални ламинарни депозити по бруховата мембрана и така повлияват на прогресията на МДСВ, водейки до бърза загуба на РПЕ клетки. Разбира се, фините механизми на действие на холестерола върху механизмите на развитие на МДСВ трябва още да бъдат проучвани.

Едно можем да кажем, имайки предвид епидемиологичните фактори, пациентът с най-високорисков профил от прогресия на МДСВ е пациент над 70 години, от женски пол, с продължителна хипертония над 10 години, повишено диастолично налягане и повишени нива на холестерол и липиди в кръвта.

Рисков фактор за развитие на МДСВ се оказва и наличието на заболяването в едното око. Интерес представлява какъв е процентът на развитие на МДСВ във второто око при наличието на рискови фактори и друзи. Някои проучвания (Bird AC, Curcio CA, Klein R) показват, че при загуба на зрението от МДСВ рискът да се случи същото в другото око е между 7 и 10% с всяка следваща година. Макар да са нужни още доста изследвания, нашите резултати показват, че при 40% от изследваните пациенти се наблюдава развитие на заболяването по същия начин и в другото око за период от 2 години (32, 202, 222). Но това е строго индивидуално за пациентите и свързано с наличие или не и на други рискови фактори. Наличието на висок риск в някое от 2 очи не означава задължително висок риск и прогресия на състоянието и в другото

око. В тези случаи от значение е и зрителната острота на пациентите. Пациенти с ниска зрителна острота на едното око са с по-висок риск от засягане и прогресия на състоянието в другото око (203). Това обаче не се отнася за пациентите с висока зрителна острота и високорискови характеристики. Там корелация между прогресията на състоянието за двете очи не се установи.

Сред рисковите фактори и тези, свързани с прогресията на заболяването, са клиничните рискови фактори, тези, свързани с вида на дегенерацията, нейния стадий, както и някои определени диагностични признаци.

Съвременното схващане за МДСВ показва, че става дума за невродегенеративно заболяване, което селективно засяга макулата (221, 223). Заболяването се класифицира като ранна форма, средно развита и напреднала форма, в зависимост от тежестта на симптомите и големината на друзите, както и наличието на хипер- и хипопигментации, наличието или липсата на неоваскуларна мембрана. Тази класификация е най-добре описана от Age-Related Eye Disease Study (AREDS) (152, 153), където се използва 4-степенна скала. Очите без МДСВ са поставени в категория 1 (AREDS1). Група 2 (AREDS2) включва пациенти с начални промени от МДСВ с малки по големина друзи < 63 μm (наричани още „твърди“ друзи), единична средна по големина друза 63-124 μm и/или пигментни изменения на ретината.

Категория 3 (AREDS3) включва очи с развита форма на МДСВ, с повече на брой друзи, като се наблюдава поне една по-голяма друза > 124 μm („мека“ друза), множество средни по големина друзи с наличие на географска атрофия, която все още не засяга централната макула. Категория 4 (AREDS4) са очи с географска атрофия на централната макула и/или налична неоваскуларна мембрана.

От клиничните рискови фактори с най-голямо значение според настоящия труд е *големината на друзите и тяхната локализация*. Подобно на много други автори – Holz, Pulenaikoff, и ние си поставихме за цел да определим на-

личието на какви типове друзи би довело до прогресия на състоянието (225, 231).

Резултатите при изследването на пациентите със суха форма на МДСВ показаха, че както ФА, така и ОСТ изследването са необходими в еднаква степен за определяне стадия на МДСВ и рисковете от нейната евентуална прогресия. С помощта на ФА, подобно на много други автори (2, 64, 226, 257) ние бяхме в състояние да разделим друзите според тяхната големина на:

- меки друзи с малки размери до 150-200 μ .
- меки друзи със средни размери – 250-300 μ .
- меки друзи с големи размери над 350 μ .

Проследяването на пациенти с налични друзи от посочените групи за времето от 2 години показва прогресия на състоянието най-вече при пациенти с наличие на меки друзи с големи размери 350 μ и повече, при които много често се наблюдава активно изтичане на флуоресцеин от лезиите в късните фази на ангиографията.

Нашите изследвания показват, че големината на друзите, отчетена на ФА, е един от основните рискови фактори за прогресия на заболяването.

Освен големината на друзите основен допълнителен рисков фактор за прогресия на МДСВ е *наличието на отлепване на РПЕ*.

Подобно на резултатите и на други автори (13, 23, 232) така и в нашето проучване комбинацията големи друзи над 350 μ и отлепване на РПЕ в 65% от случаите беше причина за развитие на неоваскуларна мембрана и прогресия към влажна форма на заболяването.

В нашето проучване се наблюдаваше тенденцията пациентите със средни по големина друзи 250-300 μ да прогресират до географска атрофия за 2 години, особено в случаите на комбинация с друзевидно отлепване на РПЕ или наличие на хиперпигментации (227). При такава комбинация рискът от прогресия нарастваше с още 25%.

Друзевидното отлепване на РПЕ е резултат от сливането на няколко меки друзи и представлява високорисков белег за развитие и прогресия на суха-

та форма на МДСВ. Конфлуиращите меки друзи и отделянето на РПЕ се наблюдават при прогресия на МДСВ. Причината за това е, че нефункциониращите нормално РПЕ клетки не могат да премахват отпадни продукти от метаболизма на фоторецепторните клетки и течност от ретината (249). Фундоскопски друзевидното отлепване не може да се отграничи от една голяма друза с равномерни граници и неправилна форма. На ОСТ изображенията отлепването се изобразява като хиперрефлексивна надигната лента на РПЕ и хипорефлексивна зона под нея – свързана с наличие на субретинна течност (228). От особен риск е прекъсването на линията на РПЕ, което може да се смята за предвестник на бъдеща прогресия. Друзевидното отлепване на РПЕ е обичайно изофлуоресцентно или хиперавтофлуоресцентно на автофлуоресценция (246).

Нашите изследвания показват, че при началните форми на развитие на МДСВ от значение като високорискови за прогресия са:

- **меките друзи, с размери над 350 μ**
- **наличието на друзевидно отлепване на РПЕ и/или хиперпигментации.**

Това се потвърждава и от много други автори, които предлагат система от точки за определяне на степента на риск от прогресия, като за високорискови се смятат пациентите, които имат събрани поне 4 точки. Обикновено тези случаи прогресират към влажна форма на заболяването.

На ОСТ изследването наличието на дефекти на линията РПЕ/хориоидея се приема за рисков фактор за прогресия на МДСВ (250). ОСТ изследванията на пациенти с начална форма на заболяването дадоха възможност да се диференцират ОСТ критериите за различните видове друзи, както и да се получи точна представа за техните основни характеристики – големина, форма, конфлуиране, наличие или липса на увреждане на РПЕ или неговото отлепване.

Наличието на хиперрефлексивни зони – *хиперрефлексивни фокуси на ОСТ*, при меките друзи е дискутирано от множество и различни автори (Schlanitz F, Sacu S, 2015). В нашето проучване ние също наблюдавахме хиперрефлексивни фокуси при меките друзи, които в повечето случаи прогресси-

раха към сливане и географска атрофия (230). Според нас наличието на тези зони е високорисков биомаркер за бъдеща прогресия на състоянието към географска атрофия. Най-вероятно става дума за интратретинна миграция на РПЕ в тези зони. Характерно е такива фокуси да се откриват при друзите с по-голям размер, които са високорискови (244). Сливането на друзи и друзевидното отлепване на РПЕ от своя страна способства интратретинната миграция на РПЕ клетки и с това – прогресията на състоянието.

Наличието на *нодуларни друзи* е рисков фактор за прогресия. По своята същност те представляват меки друзи с по-големи размери от обичайните – над 350 μ , които се характеризират с повишена от обичайното хиперрефлексивност (244). Това най-вероятно се дължи на отлагането на хиалин или калциеви соли в тези структури. При всички нодуларни друзи има увреждане на целостта на бруховата мембрана и накъсване на линията на РПЕ, което е и причината за високия риск от развитие на неоваскуларна мембрана при тези пациенти.

В обобщение можем да заключим, че от клиничните белези на ранната МДСВ меките конфлуиращи друзи с размити граници, нодуларните друзи, пигментните абнормалности са основните рискови фактори за прогресията на състоянието.

Нашите изследвания показваха, че някои от биомаркерите, свързани с прогресия на заболяването се крият в морфологичната структура на наблюдаваните друзи (229).

Много автори (Gass JDM, Burns RP, Hogan MJ), провеждайки морфологични изследвания, доказват, че различните видове друзи имат различна морфологична структура.

С голямо значение са резултатите от морфологичното изследване на друзите, взети от трупен материал. То потвърди резултатите на други автори (Ishibashi T, Mullins RF) за разлика в структурата на различните видове друзи. Тази морфологична разлика може и до голяма степен да обясни клинично наблюдаваното високорисково значение на определен тип друзи за разлика от други (229).

При „твърдите друзи“ ядрото се състои главно от холестерол и липиди, като не се наблюдават нарушения в покривната обвивка. Цялата структура изглеждаше хомогенна на хистохимичните препарати. Все още се спори за произхода на тези протеини и холестерол в структурата на друзите (234). Според нас те произлизат главно от съдовете на хориоидеята и са по-малко свързани с нарушената функция на РПЕ. Именно за това съществува и логична връзка между повишеното ниво на холестерол и липиди в кръвта и наличието на друзи.

За разлика от „твърдите“ друзи „меките“, считани за рискови, имат хиподенсно ядро, изградено освен от липиди и от голямо количество протеини, които са отговорни за имуногенния ефект на тези друзи. Периферната обвивка е по-тънка, често изградена от амилоидни вещества (235, 236). При нашите проучвания се установи повишено количество на витронектин и протеоглигани по повърхността на меките друзи. Друга съществена разлика, която наблюдавахме при меките друзи е наличието на мембранозни тела и капковидни хиалинни отлагания във вътрешния колагенен слой на бруховата мембрана на тези друзи (237). Наличието на хиалинизирани капчици в бруховата мембрана в основата на друзите е белег, който е описван и от множество други автори (Sarks J, Arnold JJ), всички те подобно на нас смятат, че именно те говорят за прогресия и стимулират увеличаването на друзите и последващата атрофия. В твърдите друзи не се наблюдаваха подобни отлагания.

Особеностите на нодуларните друзи са по-плътното ядро, богато на аморфни субстанции, калциеви йони и хиалин, както и повишеното количество на протеини в ядрото и периферно, определящо голямата имуногенност на друзата.

Налице беше тенденцията тези друзи за разлика от останалите видове да инфилтрират бруховата мембрана и да променят нейната анатомична структура. Морфологичните различия на отделните типове друзи обясняват в голяма степен по-голямата реактивност и имуногенност на меките и нодуларните друзи и съответно тяхната склоност към прогресия и инициране на възпалителни реакции в организма (238).

Тези резултати са доказани от други автори (240, 241), които дори експериментално доказват, че в условията на клетъчна култура РПЕ клетки са способни да отделят екстрацелуларни депозити, съдържащи хидроксиапатит, липиди, протеини и калциеви йони (Matthew G). Така те доказват, че в основата на МДСВ стои дисфункцията на РПЕ, заедно с променената пропускливост на бруховата мембрана, и на съдовете на хориокапиляриса (239). Вероятно съчетанието на различните фактори води до развитието на различни по своя състав и морфология друзи.

Както се вижда, наблюдаваните клинични рискови характеристики на друзите имат своето морфологично обяснение и именно друзите, свързани с нарушаване на целостта на бруховата мембрана и натрупване на хиалин и аморфни вещества, са тези, които клинично показват високорискови характеристики.

Биомаркерите за прогресия наблюдавахме и при пациентите с напреднала форма на МДСВ и развита географска атрофия. При тях много важни диагностични методи за оценка на състоянието се оказаха ОСТ диагностиката и в по-малка степен флуоресцеиновата ангиография. С помощта на ОСТ се оказва възможно да се разграничат лезиите на:

- **начална атрофия – с все още запазена цялост на фоторецепторните клетки;**
- **напреднала атрофия, при която всички слоеве в засегнатата зона са напълно унищожени.**

Тази оценка има косвено значение за прогнозата на състоянието. Благодарение на ОСТ измерванията става възможно да се измери площта на атрофичните лезии и да се следи във времето евентуалният им прогресия.

С най-голяма стойност за определяне на прогнозата и риска от прогресия при пациенти с начална географска атрофия е автофлуоресценцията.

Фундусовата автофлуоресценция (FAF) ни дава сведения за състоянието на РПЕ, който има ключова роля за патогенезата на МДСВ. ФАФ ни показва промени в РПЕ, които се намират в наглед фундоскопски нормална зона от ретината. По този начин ние получаваме информация за промените на клетки-

те на РПЕ, преди те да станат фундоскопски видими, и можем да прогнозираме развитието на заболяването.

ФАФ има особена роля за диагностицирането, проследяването и оценката на географската атрофия на ретината. В ранните фази на заболяването ФАФ показва главно спорадични промени в зони, които иначе изглеждат напълно нормални офталмоскопски (36). При пациентите с разгърната картина на заболяването се наблюдават по-често зони на засилена – хиперавтофлуоресценция (11, 17, 23). International Fundus Autofluorescence Classification Group (IFAG) представя своя класификация на хиперавтофлуоресценцията при суха форма на МДСВ.

Те ги разглеждат като нормална находка, фокални промени в РПЕ, огнищно, линейно или ретикуларно разпространение на лезиите. В нашите изследвания, особено при началните форми на заболяването и ние наблюдавахме зони с променена активност на РПЕ, които на ФАФ изглеждаха хиперавтофлуоресцентни. Според нас обаче не толкова видът и формата на огнището имат значение за прогресията, колкото конfluирането на отделните огнища, тяхната локализация и големината им. При конfluиращи помежду си и централно разположени абнормални участъци от ретината рискът от прогресия е по-висок. Това се потвърждава и от изследванията на много други автори (23, 32, 41), които съобщават за по-висок риск от прогресия при пациенти с фокално конfluиращи хиперавтофлуоресцентни зони, фокално плаковидни или дифузно конfluиращи хиперавтофлуоресцентни зони (37).

Напредналата форма на МДСВ е свързана с вече развила се географска атрофия (38). Географската атрофия, която наблюдавахме при нашите пациенти се представяше като добре отграничена унифокална лезия или множество мултифокални зони с ясно очертани граници, изглеждащи тъмни – хипофлуоресцентни на ФАФ снимките, поради липсата на съдържащия липофусцин РПЕ. Подобно на описаните от други автори (4, 12, 18, 22, 23, 26, 35, 38-40, 44), така и при нашите изследвания географската атрофия предилекционно се развиваше централно или парафовеоларно и имаше тенденция да се разраства перипапиларно. Често няколко огнища, разположени парафовеоларно, се сли-

ваха, образувайки типични форми на „конска подкова“ или „полупръстен“. Понякога наблюдавахме случаи със запазена вътрешна зона от ретинна тъкан, което позволяваше по-високата зрителна острота на пациентите. При появата на нови зони на географска атрофия те най-напред показваха по-слабо изразена хипоавтофлуоресценция, изглеждаха повече сиви, отколкото черни на автофлуорографските плаки (242).

ФАФ даде възможност да се измери точно и размерът на лезиите, тъй като на снимките границите са точно очертани с голям контраст между хипофлуоресцентната зона и нормалната автофлуоресценция на ретината. ОСТ изследванията и особено програмите за количествен анализ също ни дават възможност да проследим прогресията на атрофичните лезии във времето.

Чрез софтуерната програма беше възможно да се диагностицират точно зони с намалена дебелина на разглежданата лезия, тоест участъците, в които атрофията прогресира и преминава в тотална. Макар и ФАФ, както и ОСТ изследванията да ни дават възможност точно да отчитаме до микрометри промените в големината на лезиите, ФАФ ни позволява да отграничим прецизно дори и най-малките зони на атрофия (254). Те се виждат тъмни на автофлуоресцентните плаки, нещо, което не е възможно с другите методи. Флуоресцеиновата ангиография и ОСТ диагностиката ни дават много точна и морфологично детайлна информация за състоянието на атрофичната лезия при МДСВ, но те са методи за диагностика на състоянието, които не дават информация за риска от прогресия.

От нашите проучвания става ясно, че с най-голяма прогностична роля е автофлуоресценцията в граничаната зона атрофична–здрава ретина.

Последните проучвания показват, че хиперфлуоресценция в зоната, заобикаляща географската атрофия, се наблюдава в около 65% от случаите на атрофия (12, 13) и варира от няколко единични точки на хиперавтофлуоресценция до големи зони с неправилна форма. В нашето проучване процентът на хиперавтофлуоресценцията беше малко по-висок – 75% от случаите, което си обясняваме с подбора на пациенти, с напреднала форма на МДСВ и също най-вероятно с регионалните особености на нашите пациенти. Промените в гра-

ничната зона са детайлно описани от The Fundus autofluorescence in Age-related macular degeneration group (FAM study group), която разделя пациентите в зависимост от автофлуоресцентната находка на 4 подгрупи:

- с фокална хиперавтофлуоресценция
- с лентовиден тип хиперавтофлуоресценция
- с островен тип хиперавтофлуоресценция
- с дифузен тип хиперавтофлуоресценция.

От своя страна дифузният тип хиперавтофлуоресценция според авторите е такава автофлуоресценция, която излиза извън границите на атрофичната зона в околната ретина и може да има ретикуларен, грануларен или огнищен характер (9, 11, 18, 22, 23, 26, 52-54). Много често големината на зоната на дифузна хиперавтофлуоресценция може да нараства (9, 18, 23).

В нашето проучване отделихме особено значение на изследването на автофлуоресценцията в граничната зона около географската атрофия, тъй като смятаме, че именно тази автофлуоресценция предопределя прогресията на заболяването. Всички наши 134 пациенти със суха форма на МДСВ бяха изследвани задължително с ФАФ. В зависимост от това каква беше автофлуоресценцията в граничната зона и съгласно класификацията на FAM study group ги разделихме в следните 4 основни групи: пациенти без патологична автофлуоресценция в граничната зона, такива с усилена автофлуоресценция но само в граничната зона (фокална, лентовидна, петниста), пациенти с усилена автофлуоресценция в граничната зона и около нея – дифузен тип (251). В нашата класификация, ние сме използвали класификацията на FAM study group, но сме обединили лентовидния и петнистия тип в една категория и сме добавили групата на пациентите без хиперавтофлуоресценция.

От изследваните 134 пациенти:

- Без патологична автофлуоресценция в граничната зона бяха 52.
- С фокална автофлуоресценция – 24
- С лентовиден тип АФ – 14
- С дифузна АФ – 44.

Статистически това показва, че най-чести са случаите, в които няма АФ или тя е от дифузен тип. Много се дискутира по въпроса, защо се наблюдава хиперавтофлуоресценция в граничната зона около географската атрофия. Някои автори (39, 44, 52) смятат, че това е свързано с клетките на РПЕ, които претърпяват хиперплазия в тази зона, които често фагоцитират меланин и остатъци от фоторецепторните клетки и предизвикват повишено светене. Според нас хиперавтофлуоресценцията в околната тъкан е свързана с натрупването на липофусцин в клетките на РПЕ около атрофията и е белег на настъпваща дисфункция и увреда на тези клетки (243, 252). Показва се вероятният участък на бъдеща атрофия на клетките на РПЕ.

Тези предположения, често корелират и с ОСТ изследванията на пациентите, където се установяват изменения във външните ретинни слоеве и доказват връзката между натрупването на липофусцин и последващата прогресия на атрофията. При пациентите без хиперавтофлуоресценция в граничната зона считаме, че заболяването е стационарирано и в съседните клетки на атрофичната зона не се развиват патологични промени с натрупване на липофусцин. При пациентите с дифузна автофлуоресценция процесите на дегенерация тепърва засягат и съседната ретина и са маркер за предстоящо увеличаване на атрофичната зона.

От изключително значение е проследяването на размера на лезията във времето при пациентите с различен тип АФ в граничната зона.

При проследените от нас пациенти *без патологична АФ в граничната зона* – 52 души (39%), при 48 не се наблюдава промяна в големината на лезията за времето на проследяване 2 години. При измерването на големината на лезията с помощта на програмата за анализ на ОСТ апаратът се оказва, че за 6 месеца размерът на лезията е променен от 0.46 mm^2 на 0.56 mm^2 , което е приблизително едно и също.

При 24 от изследваните пациенти (18%) наблюдавахме фокална автофлуоресценция – само в определена зона се проявяваше хиперавтофлуоресценция. Проследявайки тези пациенти за срок от 2 години, се установи бавно нарастване на големината на атрофичната зона. Измерването на големината на

лезията с помощта на ОСТ програмите за количествен анализ показва нарастване на големината на атрофичната зона средно с $2-3 \text{ mm}^2$.

Пациентите с АФ само по ръба или лентовиден тип бяха сравнително малка група 14 от общата извадка (10%) и при тях светенето се наблюдаваше в цялата гранична зона атрофична/нормална ретина.

Това, което наблюдавахме при тези пациенти, е увеличаване на размера на атрофията във времето. В общия случай лезията увеличаваше средно с $1/3$ своите размери до края на 2-рата година. Статистическата обработка на данните показва прогресия средно с $+ 5 \text{ mm}^2$ за разглеждания период, което е значително и статистически значимо (252).

Най-интересна се оказа групата с дифузен тип АФ. При тези пациенти се наблюдаваше засилена АФ не само в граничната зона, но също така и в околната тъкан – дифузно светене. Това наблюдавахме при 44 от изследваните пациенти – 33% от цялата извадка, което е доста често срещан вариант (253). При някои от случаите увеличението на размерите на атрофичната зона беше почти двойно от 2.53 mm^2 на 4.09 mm^2 . Най-често такова увеличение се наблюдаваше в първите 6 месеца до 1 година, когато е най-голямото нарастване на атрофия, докато през втората година състоянието малко или повече се стабилизираше и скоростта на прогресия намаляваше. Въпреки това можем да кажем, че в тази група увеличаването на размера на лезията е най-голямо и прогресията на заболяването най-изразена. Статистическата обработка на данните показва, че при:

- географска атрофия без наличие на АФ в граничната зона – промяната на размера на лезията е с $1-2 \text{ mm}^2$ за 2 години.

- географска атрофия с фокална АФ в граничната зона – промяната в размера на лезията е с $-2-3 \text{ mm}^2$ за 2 години.

- географска атрофия с лентовиден тип АФ в граничната зона – промяната в размера на лезията е с 5 mm^2 за 2 години.

- географска атрофия с дифузен тип АФ в граничната зона – промяната в размера на лезията е с 10 mm^2 за 2 години.

Според хода на заболяването и най-вече прогресирането или не на атрофичната зона, се установи, че пациентите със суха форма на МДСВ и географска атрофия могат да се разделят на следните групи според скоростта на прогресията:

– Географска атрофия с бавен ход на прогресия: При липсваща или фокална АФ в граничната зона

– Географска атрофия с умерен ход на прогресия: При лентовиден, петнист тип АФ в граничната зона

– Географска атрофия с бърз ход на прогресия: Дифузен тип АФ в граничната зона

От нашите проучвания и проведения статистически анализ на данните става ясно, че с най-голям процент на вероятност от прогресия са пациентите с дифузен тип АФ в граничната, докато с най-малък риск от развитие на заболяването са пациентите без АФ в граничната зона.

Пациентите с линеен тип АФ показват умерен ход на прогресия. Това се потвърждава и от изследванията на повечето автори (9, 23, 54), които доказват по-голям процент на прогресия на географската атрофия при пациенти с дифузна хиперавтофлуоресценция, нещо, което не се наблюдава при пациенти без автофлуоресценция в граничната зона. Подобно на това Holz et al. доказват в своите проучвания, че най-бавно прогресират пациенти с липсваща автофлуоресценция в граничната зона, а скоростта на прогресия нараства при пациенти с фокална автофлуоресценция, лентовиден тип и дифузна автофлуоресценция в граничната зона. Тези автори (9) описват и няколко допълнителни подтипа на дифузна автофлуоресценция, като колкото по-изразена е хиперфлуоресценцията, толкова по-голяма е вероятността от прогресия на географската атрофия.

Нашите резултати показаха, че при пациентите без или само с фокална автофлуоресценция се наблюдаваше нарастване на лезиите с 1.5 mm^2 , а при пациентите с дифузна хиперавтофлуоресценция увеличаването на размера на атрофичната лезия за 2 години е $4,5 \text{ mm}^2$. Подобни са резултатите и на други автори (9, 12, 53), които съобщават за средно увеличение на размера на лезии-

те с $3.02 \text{ mm}^2/\text{год.}$, докато при пациенти без автофлуоресценция в граничната зона е около $0.38 \text{ mm}^2/\text{год.}$; а при очите с фокална автофлуоресценция скоростта на прогресия е $1.67 \text{ mm}^2/\text{год.}$

Причината за по-голямата скорост на прогресия при пациентите с хиперавтофлуоресценция в граничната зона е свързана според нас с натрупването на по-голямо количество липофусцин и други флуорофори в клетките на РПЕ. Впоследствие тези клетки дегенерират и зоните на географска атрофия се разрастват. Тези наши схващания съвпадат с изследванията на Smith et al., които доказват по-голямо количество липофусцин в меките друзи в граничната зона атрофична нормална ретина. Те приемат, че самото развитие на МДСВ е свързано с вторичното натрупване на допълнително количество липофусцин около зоната на географската атрофия (4, 22, 23).

Големината на лезиите при суха и влажна форма на МДСВ е важен рисков фактор за прогресия. Множество проучвания показват прогресия на състоянието на географска атрофия при наличието на множество лезии ($0.32\text{-}0.42 \text{ mm}$ годишно или $0.9\text{-}1.97 \text{ mm}^2$ годишно) в сравнение с наличието на само една единствена зона на географска атрофия ($0.19\text{-}0.26 \text{ mm}$ годишно или $0.3\text{-}1.05 \text{ mm}^2$ годишно) (42, 43, 59, 61, 62). Причината за това **все** още се дискутира, но се смята, че при множество лезии зоната на активност на заболяването като цяло е по-голяма и това води до бързата прогресия поради отделянето в окото на по-голямо количество растежни фактори.

Много проучвания (12, 23, 32, 40) *показват* зависимост между *локализацията на лезиите* при суха МДСВ и прогресията. Така например според доста проучвания екстрафовеоларните зони на географска атрофия или неоваскуларнии мембрани имат по-голяма скорост на прогресия ($0.31\text{-}0.33 \text{ mm}$ годишно) в сравнение с фовеоларните лезии ($0.22\text{-}0.27 \text{ mm}$ годишно) (57, 59, 62, 63).

Нашите изследвания показват, че от използваните диагностични методи при пациентите със суха форма на МДСВ и географска атрофия с най-голямо прогностично значение е ФАФ. Това е метод на избор при откриването, оценяването и проследяването на зоните с географска атрофия. Макар и подценя-

ван дълги години, методът на автофлуоресценцията в момента се превръща в основен метод за оценка на риска от прогресия при пациенти със суха форма на МДСВ. Той е ефективен, лесно изпълним и неинвазивен, което го прави лесно приложим в ежедневната офталмологична практика.

Разработеният от нас работен протокол за преглед на пациенти със суха форма на МДСВ акцентира именно върху най-важните за диагностиката изследвания. Дава възможност лесно да се стигне до точната и прецизна диагноза на състоянието. Предложените ОСТ програми дават възможност да се открият и локализируют атрофичните лезии (Cross line, 5 Cross line), сканирайки ретината както в хоризонтална, така и във вертикална равнина. Системите за количествен анализ (EMM5, 3 D Macula) дават възможност да се локализира лезията и всеки път да се открива същото място в ретината, както и с точност до милиметър да се измери големината на изследваната зона. Именно тези програми са с голяма диагностична стойност при определяне наличието или липса на прогресия и нейната скорост. Последното е от изключителна важност при прогнозиране на състоянието и опасността от влошаване на зрението на пациентите.

Както се вижда от работния протокол ФА при суха форма на МДСВ не е от основно значение и би могла да се използва само при първоначалния преглед при поставяне диагнозата на заболяването. ФА може да се пропусне при проследяването на пациентите с вече доказана суха форма на МДСВ, в случаите когато имаме достатъчно информация от АФ и ОСТ изследванията. Тя обаче е необходима във всички случаи, когато имаме съмнение за преход от суха към влажна форма на МДСВ. Предложеният работен протокол има практическа ориентираност и цели да улесни офталмолозите специалисти в тяхната ежедневна практика и диагностика на пациентите с МДСВ. Някои автори (19, 25) предлагат различни работни протоколи при диагностика на сухата форма на МДСВ. Те всички са свързани с диагностика на състоянието и оценка на риска от развитие на болестта. Подобно на предложения тук протокол, то и в тях основно място за отчитане на прогностичния риск има автофлуоресценцията.

Голяма част от изследванията в този дисертационен труд са посветени на пациентите с **влажна форма на МДСВ**. И при тази форма се търсят прогностичните и рисковите фактори за прогресия на състоянието. В настоящото проучване бяха включени 126 пациенти с влажна форма на МДСВ. Отделно от тях бяха включени и 14 пациенти с атипични форми на МДСВ – ретинални ангиоматозни пролиферации – 9, и полипоидна хориоидална васкулопатия – 5.

По принцип в световен мащаб се оказва, че влажната форма на МДСВ заема 20% от всички форми на МДСВ, но главно на нея се дължат сериозните увреждания на зрителната острота и слепотата вследствие това заболяване (18, 21, 25). Рисковите фактори за прогресия на МДСВ са изключително важни и обект на много проучвания.

Средностатистически при 1-2 човека с налични меки друзи се наблюдава прогресия за период от 5 години към географска атрофия или неоваскуларна мембрана (Sunness et al., 1999; Davis et al., 2005; Wong et al., 2008). От друга страна, методите за лечение на заболяването са скъпо струващи и свързани с редица компликации. Антиангиогенната терапия е инвазивна и скъпа (Raftery et al., 2007), свързана с постоянната необходимост от нови интравитреални инжекции и проследяване, с възможност от възникване на инфекция в окото. Съвременните статистически данни показват, че само в САЩ броят на хората с трайно намалена зрителна острота вследствие на МДСВ ще се удвои до 2050 г., а използването на анти-VEGF медикаменти ще намали тази бройка едва със 17% (Rein et al., 2009). *Всичко това показва, че е много по-важно да се открият евентуалните рискови фактори и да се лекуват и издирват таргетни групи, които са с повишен риск от прогресия.*

Именно това беше и нашата задача при пациентите с влажна форма на заболяването.

Един от доказаните рискови фактори за развитие на влажна форма е наличието на неоваскуларна мембрана в другото око.

Това е известен рисков фактор за прогресия на влажната форма на заболяването. Нашите изследвания показаха, че в 40% от случаите наблюдавахме

прогресия на заболяването, подобна на тази в първото око до 2-рата година от развитието на състоянието.

Много автори (31, 36, 43) публикуват данни, в които процентът на прогресия е повече от 50 и измененията са идентични и във второто око в рамките на 2 години. При всички случаи наличието на МДСВ в едното око е важен рисков фактор за прогресия на заболяването в другото око.

Други рискови фактори за прогресия на МДСВ са наднорменото тегло ($BMI \geq 30$) и повишеният холестерол.

Наднорменото тегло е известен рисков фактор за развитието на МДСВ. Seddon et al. (2003) установяват, че при пациенти с $BMI \geq 30$ рискът от развитие на влажна форма на МДСВ е 2.35 пъти по-висок от тези с нормално тегло. Те доказват увеличаване на риска от прогресия почти двойно с нарастване на обиколката на талията и теглото. От друга страна хората, които спортуват активно, поне 3 пъти в седмицата, са с 25% по-малък риск от развитие на МДСВ в сравнение с тези, които изобщо не спортуват. Според техните данни наднорменото тегло е рисков фактор за прогресия при напредналите форми на МДСВ.

В нашите проучвания пациентите с наднормено тегло бяха 25% от цялата извадка и като цяло при тях наблюдавахме изразена прогресия на заболяването.

Повишените нива на серумния холестерол са също рисков фактор за развитието на влажна форма на МДСВ. Повечето проучвания показват, че нископлътностните липопротеини (LDL) са с повишени нива, а високоплътностните (HDL) са с намалени нива при пациенти с влажна форма на МДСВ в сравнение с контролната група (13, 15, 23, 28). Повишеният общ холестерол в серума е рисков фактор за прогресия на МДСВ (Reynolds et al., 2010). Покорашни изследвания на Raun et al. (2015) показват, че повишените нива на серумния холестерол са свързани с определен генотип, свързан с повишен риск от прогресия на МДСВ (СЕТР, ApoE и FADS1). От гореизложеното е видно, че отчитането на нивата на холестерола може да ни ориентира за риска от прогресия на състоянието при пациенти с МДСВ. Едва 12% от изследвани-

те от нас пациенти бяха с повишен холестерол в серума и при тях наблюдавахме изразена прогресия.

От ФА белезите можем да кажем, че типът на неоваскуларната мембрана е рисков фактор за прогресия. Пациентите с окултен тип неоваскуларна мембрана, показваха по-изразен ход на прогресия. Най-често се касаеше за CNV – разположена под РПЕ или маскирана от отлепване на РПЕ или хеморагия (255).

Наблюдавахме два ангиографски типа – окултна неоваскуларна мембрана:

- Тип 1 – окултна CNV/фиброваскуларно отлепване на РПЕ.
- Тип 2 – окултна CNV/с дифузна ексудация.

При *втория тип окултна форма* неоваскуларната мембрана не е очертана, по-скоро се наблюдава дифузен ликидж – изтичане на багрило и едем, чийто източник не може добра да се диференцира.

Именно в тези случаи на окултен тип 2 CNV мембрана наблюдавахме засилена прогресия на заболяването. Нашите проучвания, както и на други автори (17, 23, 34, 44) показват, че пациентите с окултен тип неоваскуларни мембрани са с 2 пъти по-висок риск от прогресия в сравнение с тези с класически тип неоваскуларна мембрана.

Хистопатологичните изследвания на субретинни мембрани при пациенти с окултна CNV показаха морфологични разлики между двата типа. Оказва се, че съдовете при 2 CNV са значително по-големи по калибър и оттук идва и по-голямото изтичане на багрило на ФА плаките (247).

За разлика от тях при CNV1 имаме по-малки по калибър неосъдове и силно развит фиброзен компонент, което е причината лезията да не се вижда добре на снимките, както и по-малка склоност към прогресия.

По принцип *изтичане на багрило – ликидж, на ФА* е рисков фактор за прогресия на състоянието и един от белезите, доказващи нуждата от продължаване на терапията. Натрупването на серозна течност под или в невросензорната ретина е важен биомаркер за активност на заболяването и е белег за бъдеща прогресия. То се наблюдава на ангиографските плаки под формата на

ликидж или пулинг, които винаги са белези на активност. Тъй като развитието на CNV е свързано с промени в структурите, включващи хориокапиляриса, РПЕ и невросензорната ретина, много често е доста трудно да се разграничи ликидж на ФА плаките от staining особено след няколко терапии с анти-VEGF (41, 42). В други случаи CNV може да не проявява характерния ликидж на ФА поради начален регрес на съдовете. В този случай OCT диагностиката е по-точна за определяне на рисковите фактори. OCT белезите на активност и риск от прогресия са:

- Големина на неоваскуларизацията
- Тип – класическа, или окултна
- Хиперрефлексивност на лезията.
- Нарушения на целостта на слоя на РПЕ/отлепване на РПЕ.
- Наличие и степен на ретинния едем.

Големината на лезиите при суха и влажна форма на МДСВ е важен рисков фактор за прогресия. При влажната форма от значение е размерът на неоваскуларната мембрана. Лезии с над 3 mm големина показват увеличен риск от прогресия (33, 36, 42). В нашите проучвания подобно на посоченото по-големите по размери неоваскуларни мембрани бяха свързани с по-засилено развитие на заболяването и по-изразена ексудация в околната ретина.

Хиперрефлексивните зони са също биомаркер за прогресия. Това са зони, отбелязващи дегенеративно променен РПЕ. Най-често се дължат на натрупване на дегенеративни елементи при увреждането на клетките на РПЕ. Проследявайки такива пациенти в продължение на 2 години, се оказа, че при тях 5 пъти по-често в сравнение с останалите пациенти се наблюдава прогресия до напреднала форма на МДСВ. Най-често пациентите развиват географска атрофия и много по-рядко влажна форма на МДСВ (248).

Суб-РПЕ хиперрефлексивни струпвания – тези отлагания под РПЕ са свързани с инсуфициенция на слоя на РПЕ и говорят за напреднала дисфункция на тези клетки. Наличието на тези хиперрефлексивни сенки на OCT диаграмите беше свързано с 27% по-голям риск от прогресия на влажна напредна-

ла форма на МДСВ при пациентите. Това ние определяхме като сериозен рисков фактор.

Отлепването на РПЕ представлява отделяне на РПЕ от брукховата мембрана. То от своя страна може да се класифицира като друзевидно, серозно, серохеморагично, хеморагично и фиброваскуларно отлепване на РПЕ. На ФА се наблюдава като ранно светеща лезия с ясно очертани граници и бързо запълване още през ранните фази, която продължава да свети почти до края на ангиографията. Наличието на друзевидно отлепване на РПЕ е свързано с конфлуирането на няколко меки друзи и се открива по-ясно на ОСТ, отколкото на ФА.

Повечето автори показват възможност за прогресия на друзевидното отлепване на РПЕ в 19% към географска атрофия за срок от 2 години (18, 47, 55, 56) и в 23% към влажна форма на МДСВ за срок от 5 години (47, 50, 53, 55, 56.) В нашето проучване друзевидно отлепване наблюдавахме при 34 пациенти, като при 8 се наблюдава прогресия към суха форма на МДСВ, а при 17 – прогресия към влажна форма за срок от 2 години. Само при 9 пациенти не наблюдавахме прогресия на състоянието. Статистически погледнато само в 16% от случаите на друзевидно отлепване на РПЕ не се наблюдава прогресия на състоянието към една или друга форма на МДСВ.

Смята се, че *серозното отлепване на РПЕ* се развива в резултат на повишеното хидростатично налягане от подлежаща активна неоваскуларна мембрана (54). Ето защо то е високорискова находка и е белег за активност и бъдеща прогресия на състоянието. При 24 от изследваните 126 пациенти наблюдавахме отлепване на РПЕ. При по-голямата част от пациентите то беше серозно, само в 4 случая налице беше хеморагично отлепване на РПЕ, а в 5 – фиброваскуларно. По принцип всички отлепвания на РПЕ при изследваните от нас пациенти бяха свързани с повишен риск от прогресия на състоянието. Фиброваскуларното отлепване в някои случаи беше свързано с наличието на скрита неоваскуларна мембрана, а в други – резултат от разрастване на фиброзна тъкан. Флуоресцеиновата ангиография има особено важно значение за

доказването на цикатрициалните стадии на заболяването, тъй като фиброзната тъкан за разлика от активната неоваскуларизация не показва ексудация.

Други белези на прогресия, които се наблюдаваха, но с по-малко значение, бяха задебеляването на слоя на РПЕ и хориоидеята, нарушаване целостта на *membrane limitans externa*, патологични промени в съдовете на хориоидеята и субфовеоларно задебеляване на хориоидеята.

ОСТ диагностиката при влажна форма на МДСВ ни дава информация за запазването или не на целостта на РПЕ. Когато той е със запазена или само локално нарушена цялост, пациентите са с добра прогноза и това са най-благоприятните случаи за прилагане на анти-VEGF терапия. Дифузното нарушаване целостта на РПЕ в съчетание със серозно отлепване на невросензорната ретина е лош прогностичен фактор и намалява с до 30% шансовете за благоприятно повлияване от анти-VEGF терапия.

ОСТ-А при пациенти с влажна форма на МДСВ

Оптичната кохерентна томография-ангиография – ОСТ-А е сравнително нов, неинвазивен метод за оценка на промените в структурата на ретината и нейното кръвообращение. ОСТ-А е по-бърз и по-лесен за изпълнение метод, позволяващ да се получат *cross-sectional* и *en face* изображения на ретината и хориоидеята с триизмерна визуализация на хориоидалните лезии. С помощта на методиката, можем да видим структурата на неоваскуларната мембрана, дори в случаите когато тя е субклинична – т.е няма натрупвания на течност в ретината.

ОСТ-А сегментира ретината и дава информация за съдовата микроциркуляция в 3 зони – повърхностен ретинен плексус, показва съдовата мрежа между ILM и IPL, дълбок ретинен плексус – показва ретинната съдова мрежа между IPL и OPL. Този плексус не може да бъде визуализиран с ФА. Последната зона, която се вижда на ОСТ-А, е аваскуларна.

Въвеждането на ОСТ-А технологията ни даде възможност да визуализираме неоваскуларните мембрани.

Според OCT-A критериите неоваскуларните мембрани при МДСВ могат да бъдат разделени на 3 основни типа:

Тип 1 – неоваскуларизация – при него съдовете произтичат от хориоидеята, имат форма на корал и се разполагат под РПЕ (отговаря на окултен тип НВМ).

Тип 2 – неоваскуларизация – при него неосъдовете също произхождат от хориоидеята, преминават през РПЕ и се разполагат над РПЕ и невросензорната ретина (отговаря на класически тип НВМ).

Тип 3 – неоваскуларна мембрана – наличие на интравитреални и ретинно-хориоидални анастомози, произхождащи от дълбокия ретинен плексус. Отговаря на ретинните хориоидални анастомози (253).

OCT-A изследването ни даде възможност да изучим структурата на неоваскуларните мембрани при пациентите с влажна форма на заболяването.

В повече от 55% от случаите на нашите пациенти неоваскуларната мембрана беше с формата на „медуза“ или „корал“ – с множество радиално излизащи и разклоняващи се съдове, произхождащи от един основен хранещ съд.

В някои от наблюдаваните случаи откриването на неоваскуларизацията беше доста трудно, тъй като тя се намираще под РПЕ. Само в сканиранията, преминаващи през хориоидеята, се откриваха променените неоваскуларни съдове. Всички останали сегменти на OCT-A дават нормални изображения. Тези мембрани отговарят на окултната форма на влажна МДСВ, която се смята за високорискова.

Като OCT-A биомаркери за активност на лезията и изразен риск от прогресия се приемат:

- *субклинична неоваскуларна мембрана.*
- *неоваскуларна мембрана тип ветрило или дантела с множество разклоняващи се капилляри.*
- *наличие на големи по калибър, груби неосъдове в неоваскуларната мембрана.*
- *наличие на анастомози между съдовете.*

– *периферни аркади и разклонения в края на неоваскуларната мембрана.*

Наличието на мрежа от множество млади капилляри, извиващи се и анастомозиращи помежду си, е признак за активна мамбрана. Тези с по-малко, големи, неанастомозиращи съдове – като “мъртво дърво”, при изследваните от нас пациенти показаха ниска степен на прогресия. Това смятахме за белег за активност и риск от бърза пролиферация на мембраната.

Тези наши резултати напълно корелират с проучванията на други автори (11, 14, 25, 45) според които мембраните от окултен тип с налични груби неосъдове тип „метла“ и „ветрило“ са с най-голям риск от прогресия на МДСВ. Наличието на субклинична неоваскуларна мембрана показва 5 пъти по-висок риск от прогресия на заболяването при тези пациенти. Именно в тези случаи се очертава голямото предимство на ОСТ-А да открива пациенти с неоваскуларна мембрана, която е невидима за другите методи на изследване.

Много автори (Sarraf et al.) използват ОСТ-А, за да оценят резултатите от приложението на анти-VEGF препаратите при тип 2 лезии на МДСВ. Сравнявайки ОСТ-А изображенията преди и след терапията, те показват намаляване на големината на лезията с 40% след 3 инжекция и редуция на васкуларната съдова мрежа с 50%. Намаление на гъстотата на съдовете с още 25% се наблюдава на 5-ата инжекция от лечението. Те успяват да изучат и морфологичните особености на неоваскуларната мембрана и установяват, че основният хранещ съд на мембраната закърнява най-трудно.

В нашите проучвания само малка група пациенти бяха изследвани преди и след анти-VEGF терапията с ОСТ-А. Наблюдавахме редуция на площта с около 30% и намаляване гъстотата на съдовата мрежа с 40% след третата инжекция. Големината и калибърът на хранещия съд при тип 2 CNV се запазваха до края на първата година. Този феномен си обясняваме с факта, че големите неосъдове за разлика от младите и по-малките имат перицити и по-изразена базална мембрана в съдовата си стена и по-трудно се стига до тяхното облитериране и закърняване.

Пациенти с атипични форми на МДСВ

Към атипичните форми на МДСВ спадат ретиналните ангиоматозни пролиферации и полипоидната хориоидална васкулопатия, наричана от някои автори – идиопатична полипоидна хориоидална васкулопатия (ИПХВ). РАП се характеризира с разрастване на неосъдове от ретината към хориоидеята с развитието на ретино-хориоидални анастомози. За първи път за РАП се споменава от Harnett et al. през 1992, който го описва като състояние свързано с неоваскуларна пролиферация, произхождащо от ретиналните артерии. Много покъсно Yannuzzi et al. (2001) доказват, че пролиферациите произхождат от дълбоките ретинални слоеве, които се разрастват и образуват ретино-хориоидални анастомози.

Freund et al. назовават РАП лезиите „неоваскуларизация тип 3“, като по този начин я отграничават от останалите видове неоваскуларизация 1 и 2, при която неосъдовете произхождат от хориоидеята.

Пациентите с РАП имат патогномонични характеристики – това са по-възрастни пациенти, по-често жени, с двучно засягане и с натрупване на меки друзи или ретикуларни псевдодрузи в макулата (40, 46, 55). Честотата на РАП лезиите при бялата раса е средно 15%, докато те почти не се среща в азиатската раса и за Япония техният процент е под 5% (41, 45). Това, за което всички автори са единодушни, е по-бързият ход на развитие и много бързата прогресия на ексудативните промени при РАП лезиите в сравнение с тези при другите форми на макулна дегенерация. Диагнозата РАП е свързана сама по себе си с по-лоша прогноза за пациентите. Заболяването преминава през 3 основни стадия:

Стадий I – RAP I: Интраретинни неоваскуларизации (IRN)

В този стадий съдовите пролиферации се намират в ретината и произлизат от дълбокия капилярен плексус. Има множество пръснати хеморагии и оток, налице са ретинно-ретинални анастомози.

Стадий II – RAP II: субретинна неоваскуларизация (SRN)

Неосъдовете навлизат и в субретинното пространство- над ретинния пигментен епител. Наблюдават се интра- и преретинални хеморагии, често и отлепване на невросензорната ретина или серозно отлепване на РПЕ.

Стадий III – RAR III: Хориоидална неоваскуларизация (CNV)

В този стадий се наблюдават ретино-хориоидалните анастомози, често съчетани с отлепване на РПЕ и силно изразен едемен синдром в ретината.

От диагностичните методи ФА е удачен най-вече за началните стадии на заболяването за откриване на променения ход и калибър на ретиналните съдове и наличието на изразен едемен синдром. В развитите стадии на заболяването ФА не може да покаже добре ретино-хориоидалните анастомози и голяма част от промените се маскират от дифузното изтичане на багрило поради изразения едемен синдром (247).

До момента ОСТ диагностиката е единственият начин да се разграничат отделните стадии на RAR, защото благодарение на нея могат да се видят в дълбочина ретино- хориоидалните анастомози. Често едновременно с тях се наблюдава и отлепване на невросензорната ретина или на РПЕ, което е белег за последваща прогресия.

Като рискови фактори за прогресия на състоянието, както и за резистентност на терапията можем да отчетем следните ОСТ белези:

- *наличие на ретино-хориоидални анастомози*
- *изразен едемен синдром*
- *отлепване на РПЕ*
- *изтъняване на хориоидеята – открито с EDI-ОСТ.*

От всички диагностични рискови фактори най-голямо значение има отлепването на РПЕ. Gharbiya et al. (47) в свои предишни проучвания показват, че наличието на отлепване на РПЕ при RAR лезиите е свързано с лош зрителен резултат и нужда от многобройни приложения на анти-VEGF медикаменти за повлияване на състоянието. Нашите резултати макар и само от 9 пациенти показаха значително по-бърз ход на заболяването при пациентите с отлепване на РПЕ. При тези 3 пациенти не наблюдавахме повлияване на състоянието

след проведената анти-VEGF терапия. При останалите 6 пациенти без отлепване на РПЕ, особено при тези с по-ранни фази на РАП имахме задоволителни резултати по отношение на зрителната острота и повлияване след терапията с анти-VEGF препаратите (256). Именно тези резултати водят до извода, че наличието на отлепване на РПЕ при РАП пациентите показва, че се касае за по-продължително, дългосрочно увреждане на ретинните структури, до образуването на ретинно-хориоидални анастомози, което води до по-лош зрителен резултат и по-голяма резистентност на провежданата анти-VEGF терапия.

През последните години с навлизането EDI-ОСТ, Yamazaki et al. доказват, че РАП пациентите имат значително по-тънка хориоидея в сравнение с нормални контроли. Те изказват хипотезата, че нарушената циркулация на хориоидеята е много важен елемент в патофизиологията на РАП.

Най-точният диагностичен метод за доказване на РАП си остава индоцианин грийн ангиографията, позволяваща да се обективизират и съдовете на хориоидеята.

При това изследване се вижда по-точно изтичането на багрилото в късните фази поради интратетинния едем и могат ясно да се отграничат ретинно-хориоидалните анастомози.

Също много точна може да бъде диагностичната стойност на ОСТ-А в тези случаи, тъй като тя позволява да се диагностицират промените в дълбокия съдов плексус на ретината и да се докажат ретинно-хориоидалните анастомози.

Много автори като Sarraf et al. (32) описват ОСТ-А характеристиките на неоваскуларните мембрани при РАП. По нашите изследвания те се визуализират като силно разклоняващи се неоваскуларизации на ниво външен плексиформен слой винаги свързани с основен хранещ съд, който ги свързва с дълбокия капилярен плексус.

В 80% от случаите се наблюдава активност на лезиите, изразена чрез значителен интратетинен и субретинен едем. При 30% от наблюдаваните от нас пациенти беше налично отлепване на РПЕ. Освен отлепването като важен рисков фактор за по-лоша прогноза на състоянието е наличието на по-голям

по размери хранещ съд или образувани ретино-хориоидални анастомози. При РАП пациентите повлияващи се от анти-VEGF терапията, наблюдавахме намаление на размера и облитериране на „хранещия“ съд. Това бяха и пациентите, които запазиха приемлива зрителна острота.

При повечето от наблюдаваните от нас пациенти с РАП до 2 година се появиха признаци на заболяването и в другото око. Това е в унисон със световните статистически данни (13, 17, 23, 32, 44), според които РАП е билатерално заболяване и до 1 година 60% го получават и в другото око, а до 3 години – 100%. През 2005, Gross et al показват, че при 40% от пациентите с РАП за 1 година се развива същото заболяване и в другото око, процентът на РАП в другото око е 56% за 2 години и 100% за 3 години от началото на болестта. Samra et al. изнасят почти същите данни, но при тях 60% от пациентите развиват заболяването във второто око на 3-ата година. Изследванията през последната година на Sawa et al. показват, че при 50% от японските пациенти с РАП имаме засягане на второто око на 4-ата година. Те доказват, че наличието на струпвания на ретикуларни псевдодрузи в макулата е рисков фактор за билатерално засягане при пациенти с РАП. Именно затова при всеки преглед на пациентите с РАП е важно да се изследва и другото око, за да се избегне евентуална билатерална загуба на зрението. При очите с РАП 1 първата проява на заболяването е наличието на централен макулен едем, който лесно се открива с OCT диагностика. Ето защо OCT сканирането на другото око е от особена важност при пациентите. При откриване на заболяването в ранните стадии на РАП1 обикновено анти-VEGF терапията дава добри резултати.

Полипоидна хориоидална васкулопатия

ПХВ наблюдавахме при 5 от разглежданите от нас пациенти. Тя представлява сравнително рядко заболяване, по-типично при по-млади пациенти от обичайната възраст за МДСВ под 65 години. По-честа е при пигментираните раси, азиатци и африканци. Честотата на ПХВ е доста по-голяма при японците, отколкото при европейското население. Средно процентът на поява на заболяването при бялата раса е 4% до 13.9% (7, 11). При пациентите от азиатс-

ката раса процентът на заболяване от ПХВ е средно между 22.3% и 61.6% (12). Мъжкият пол и тютюнопушенето са сериозни рискови фактори за развитието на ПХВ (23, 43). С повишен риск за развитие на ПХВ са пациентите с наднормено тегло, по-голям ВМІ и повишени нива на С-реактивен протеин (23, 25, 28). Доста автори (13,32,45) доказват връзка между прекаран в миналото централен серозен хориоретинит и развитието на ПХВ, което навежда на мисълта за връзката между двете заболявания, както и с дегенеративните промени в съдовете на хориоидеята.

Полипоидната хориоидална васкулопатия се характеризира с неоваскуларизация, дължаща се на промени в хориоидалните съдове. Дегенеративните изменения засягат както артериолите, така и капилярите и венулите на хориоидеята. Наблюдават се аневризмални разширения и формирането на полипоидни образувания. Наред с това е налице изразена ексудация на фибрин и плазма около лезията. Хистопатологичните изследвания показват уголемени хориоидни артериоли и венули с изразена хиалинизация на артериолите (32). ПХВ се описва за първи път от Yannuzzi et al. (35) като полипоидни, субретинални, васкуларни лезии, свързани със серозно или хеморагично отлепване на РПЕ. В диагностичен план най-точна и патогномонична си остава индоцианин грийн ангиографията (ICG).

Макар този метод да е малко разпространен у нас, той позволява да се докажат повишена пропускливост и хиперпермеабилитет на хориоидалните съдове.

Чрез него могат да се обективизират добре полипоидните разширения на хориоидалните съдове, както и да се види променената хориоидална мрежа.

Всичко това го прави диагностичен метод на първи избор за доказване на диагнозата ПХВ (245, 258). ICGA показват 2 основни характеристики: разклоняваща се мрежа от неосъдове под брукховата мембрана и наличието на аневризмално разширени съдове в периферията на неоваскуларизацията (64). Именно тези изменения, описвани като фокални субретинални лезии, са патогномонични за доказване на диагнозата ПХВ. ФА не дава точна визуализация на лезиите и често поради отока се наблюдава само дифузно светене. ОСТ

изследването може да определена степен да покаже полипоидните лезии като хиперрефлексивни пръстени под отлепването на РПЕ и двойна линия – разделяне на РПЕ от брукховата мембрана (259, 261). Разбира се, поради по-трудното визуализиране на хориоидеята с ОСТ, диагностиката на ПХВ е затруднена.

От друга страна обаче, много точен диагностичен метод при това заболяване е ОСТ-А. Голям брой изследвания показват, че ОСТ-А е също толкова информативен диагностичен метод както ИЦГА. Чрез ОСТ-А може по-прецизно и точно да се открият измененията в хориоидните съдове и наличната неоваскуларна мрежа. Единствените случаи на неуспех да се открият полипоидните лезии е, когато кръвотокуът в тях е силно забавен (260, 264). При всички изследвани от нас пациенти се обективизира променената хориоидална мрежа с нейните разклонения. Наблюдавахме и полипите, разположени точно под върха на отлепването на РПЕ, между него и брукховата мембрана. Наблюдаваните при нашите пациенти модели на хориоидна неоваскуларизация бяха от гломерулен тип – множество разклоняващи се и анастомозиращи помежду си неосъдове, без наличието на основен, стволосв съд. Според повечето автори това е доста чест вариант на ПХВ, срещащ се при 33% от случаите.

При 2 от пациентите се наблюдава основен стволосв съд и това бяха и случаите с по-затегнат ход на протичане и по-резистентни на терапията с анти-VEGF. Друг рисков фактор за прогресия и по-лоша прогноза на заболяването е намалената дебелина на хориоидеята, което се отбелязва като рисков биомаркер и от много други автори (24, 32). Разбира се, нашата извадка е доста малка за статистическа достоверност, но поставя редица въпроси за бъдещи изследвания на ПХВ (262).

Резултатите от терапията на ПХВ са силно противоречиви, най-вероятно поради факта, че самото заболяване се характеризира със своята хетерогенност. Приема се, че основните разлики в резултатите от терапията са свързани най-вече с дебелината на хориоидеята и пропускливостта на неосъдовете. Колкото по-груба е неоваскуларната съдова мрежа и по-пропускливи са съдовете, толкова по-лош е терапевтичният резултат.

Морфологични промени в субретинните мембрани на пациентите влажна форма на МДСВ като рисков фактор за прогресия на заболяването

От хистопатологична гледна точка основните промени при МДСВ се случват на границата РПЕ, брехова мембрана. Последната е изградена от ядро от еластин, обградено от двете страни от колагенни влакна и покрито от базална ламина (56-59). Приема се, че бариерните свойства на РПЕ и бреховата мембрана спират миграцията на клетки и разрастването на неоваскуларна тъкан от хориоидеята към субретинното пространство. Патологични промени в тази зона може да се наблюдават при патологична промяна в структурата на бреховата мембрана. Много автори (14, 16, 20, 25) описват дефекти и дегенеративни промени в бреховата мембрана преди развитието на МДСВ. Възрастните морфопатологични промени в бреховата мембрана могат да се обобщят по следния начин:

- прогресивно задебеляване на колагенните влакна на бреховата мембрана
- модифициране и дегенеративно променяне на колагена и еластина в мембраната
- повишени количества на крайни продукти на гликирането, липиди, неколагенни протеини
- натрупване на суб-РПЕ депозити

Всички тези промени в структурата на бреховата мембрана водят до промяна в нейната пропускливост и възможност за неоангиогенеза в субретинното пространство.

Приема се също така, че топографските вариации в структурата и дебелината на бреховата мембрана са причина за по-лесното засягане на областта на макулата в сравнение с другите ретини зони. Морфометричните измервания показват (15, 26, 54), че ламина еластика на бреховата мембрана в макулата е 3-6 пъти по-тънка и с 2-5 пъти по-малка плътност, сравнена със средната

периферия на ретината при млади хора (60). Това способства деструкцията на еластина именно в тази зона.

Деструкцията на еластиновите влакна в макулата има основна роля при иницирането на неоваскуларизацията, защото пептидите при дегенерацията на еластина са силно ангиогенни и имат способността да активират макрофагите (101). Базалните ламинарни депозити BLamD от своя страна са силно имуногенни и свързани с увреждането на бруховата мембрана. Електронномикроскопската им структура показва, че съдържат в себе си колагенни влакна от тип VI (74, 84, 108-115).

Наред с увреждането на бруховата мембрана хистопатологични промени се наблюдават и в клетките на РПЕ. Много автори (12, 23, 57, 90) описват дегенеративни промени в РПЕ клетки, които са с повишено количество на меланин и липофусцин в своята цитоплазма. Имайки предвид, че РПЕ клетки са отговорни за транспорта на йони, хранителни вещества и метаболити към невросензорната ретина, то тяхното увреждане е свързано с нарушение на целостта на кръвно-окуларната бариера и възможност за развитие на неоваскуларизация в субретинното пространство.

От групата на пациентите с влажна форма на МДСВ – 126 на брой, беше обособена отделна подгрупа на пациенти с МДСВ и хемофталам – 11 очи, при които се наложи извършването на ППВ, по време на която беше взиман материал – субретинна тъкан за електронномикроскопско и имунохистохимично изследване. При всички, наблюдавани от нас пациенти – 11 на брой, се диагностицира влажна форма на МДСВ с наличие на изразена в различна степен неоваскуларна мембрана (CNV).

Субретиналните мембрани бяха изградени основно от фибробласти с различна степен на зрялост (236, 239, 241, 265), единични или групирани РПЕ клетки и множество елементи на кръвта, най-често макрофаги, еритроцити и левкоцити. Прави впечатление, че основно се срещат „зрелите“ фибробласти. Тези клетки се характеризират с добре изразена синтетична активност, за което свидетелства големият брой колагенови влакна в междуклетъчното пространство.

Интересен е фактът, че с увеличаване давността на заболяването се увеличава и броят на фибробластите в мембраната, с което нараства и количеството на елементите на междуклетъчния матрикс и колаген. С времето нараства фибротичната активност на субретинната мембрана. Именно с това се обяснява и развитието на фиброваскуларни цикатрикси в по-късните етапи на МДСВ. Наблюдавахме единични или групирани РПЕ клетки. Нормално РПЕ са хексагонални клетки (263). Най-често в субретинните мембрани ги наблюдавахме на групи с малка и средна големина. Те имат голям ядрено-цитоплазмен индекс и ексцентрично разположено ядро. РПЕ в субретинните мембрани на пациентите с МДСВ показваха дегенеративни промени. Най-често срещаното беше намаляването на броя на меланозомите в клетките за сметка на увеличения брой на липофусцинови гранули и везикули, съдържащи токсични биопродукти. В някои от случаите се достига до пълно запълване на клетъчната цитоплазма с липофусцинови гранули, които са унищожили останалите клетъчни органели и довеждат до смъртта на клетките. Субретинните мембрани при МДСВ са преди всичко фиброваскуларни мембрани, които изобилстват на съдове с различна степен на зрялост (242). Характерно беше, че наблюдавахме както капиляри на млади(ранни) неосъдове, така и на „зрели“ (развити) неосъдове. Капилярите на младите неосъдове са с по-широк лумен. Тяхната стена е изградена от един тънък слой фенестрирани ендотелни клетки, с приплесната форма и ексцентрично разположени ядра „Зрелите“ неосъдове се наблюдаваха по-рядко. Те се характеризираха с по-тесен лумен и добре оформена базална мембрана (266). Наличен беше един слой ендотелни клетки от фенестриран тип, с продълговата форма.

В голяма част от изследваната тъкан наблюдавахме клетки на възпалението – най-вече макрофаги и левкоцити.

Една от теориите за патогенезата на МДСВ приема, че е свързана с развиващо се, хронично възпаление на ниво ретинен пигментен епител, брухова мембрана, предизвикано от прекомерното отлагане на отпадни продукти на обмяната – базални ламинарни депозити от РПЕ клетки (256, 263). С това може да бъде обяснено и по-голямото количество на макрофагеални клетки в

разглежданата от нас субретинна тъкан при пациенти с влажна форма на МДСВ. Тези клетки бяха значително повече, при по-възрастни пациенти. Макрофагите доказано имат про- и антиангиогенен ефект, който се подчинява на сложна и комплексна регулация, най-вече от цитокини. Приема се, че тези клетки имат дуалистична характеристика и могат да влияят на неоангиогенезата.

Оказва се, че дегенеративните промени в клетката влияят върху нейните възможности да участва в неоангиогенезата. Най-вероятно се загубва способността на клетките да инхибират и регулират процесите на ангиогенеза. Ето защо се приема, че клетките на възпалението имат ключова роля в патогенезата на МДСВ.

Много автори (14, 15, 27, 46) разглеждат субретинните мембрани при МДСВ като фиброзна реакция на организма вследствие на свръхразвити репаративни процеси в резултат на нарушена цялост на кръвно-окуларната бариера. Нашите изследвания са в потвърждение на тази хипотеза предвид патоморфологичната характеристика на субретинната тъкан, която е вид съединително тъканна структура, богата на зрели фибробласти, колагенни влакна и голямо количество протеогликани в междуклетъчния матрикс. Повечето проучвания (82, 83) доказват, че неоваскуларните мембрани при МДСВ и тези при други заболявания имат една и съща ултраструктура. Това е така, защото неоваскуларизацията е неспецифичен репаративен отговор на организма на увреждане на целостта на бруховата мембрана. Патоморфологичната характеристика на субретинните неоваскуларни мембрани показва, че се касае за разрастване на грануляционна тъкан като репаративен отговор на нарушена цялост на бруховата мембрана (4-6). При МДСВ обаче в допълнение се включват механизмите на неоангиогенезата и възпалението, водещи до появата на макрофаги и неосъдове, които затварят порочния кръг предизвиквайки още по-бурно развитие на съединителнотъканните елементи. Именно връзката на образуването на неоваскуларните мембрани с репаративните механизми в организма навежда някои автори (34, 45, 67) на мисълта за използване на амниотични мембрани като основа за възстановяване на РПЕ след отстраняване на

неоваскуларната мембрана. Амниотичните мембрани са базални мембрани известни с антиангиогенните и противовъзпалителните си свойства. Някои автори в експериментални животински модели показват повторен растеж на РПЕ след трансплантация на амниотична мембрана в субретинното пространство (25, 29). Използването на амниотичните мембрани при хирургията на макулата е многобещаваща идея, тъй като мембраната може да се поставя лесно хирургически, има антиангиогенни и противовъзпалителни свойства и спира развитието на неоваскуларизацията.

АМ е и отлична основа за прорастване на РПЕ в засегнатите зони на макулата. Морфологичните изследвания показват близостта на процесите с репаративните процеси при зарастващи рани и доказват значението както на елементите на фиброзообразуване така и на възпалителните клетки (240).

Изследвайки морфологично неоваскуларните мембрани, можем да кажем, че младите мембрани, изградени от млади неосъдове с голям калибър, богати на клетъчни елементи, са високорискови за прогресия на заболяването.

Дискусия на резултатите от приложението на анти-VEGF препарати при пациенти с влажна форма на МДСВ

В нашето проучване бяха включени 274 пациенти, разпределени в три основни групи:

Пациенти със суха форма на МДСВ – 134 пациенти.

Пациенти с влажна форма на МДСВ – 126 пациенти.

Атипични форми на МДСВ – 14 пациенти, от тях 9 с РАП и 5 с ПХВ.

Процентното разпределение на изследваните пациенти в зависимост от използваните анти-VEGF медикаменти е, както следва:

32,0% от всички с Влажна форма на МДСВ са лекувани с Avastin.

17,0% от всички с Влажна форма на МДСВ са лекувани с Lucentis.

51,0% от всички с Влажна форма на МДСВ са лекувани с Eylea.

Става ясно, че сравнително най-голям е дялът на пациентите, които се лекуват с Eylea, следвани от тези лекувани с Avastin, и значително по-малък е дялът на лекуваните с Lucentis (247). Интравитреалните инжекции са една от

най-честите манипулации в офталмологията. Тя е свързана с поставянето на лекарствено вещество в стъкловидното тяло. Интравитреалните инжекции са много ефективна селективна терапия. Чрез нея се постига максимален терапевтичен ефект, на точно желаното място при минимални системни компликации.

Анти-VEGF са група лекарствени средства, прилагани основно за лечението на МДСВ, тъй като се смята, че те ефективно блокират растежните фактори VEGF, отговорни за неоангиогенезата (248, 249, 255).

Основните характеристики на анти-VEGF препаратите, които имат значение при МДС са, че:

- Намаляват пропускливостта на съдовете и едема в тъканите.
- Намаляват прогресията на неосъдовете.
- Намаляват риска от витреална хеморагия.
- Имат бърз ефект до 24 h след приложението.
- Водят до подобрене на зрителната острота.

Най-често използваните анти-VEGF препарати са *bevacizumab* (Avastin), *ranibizumab* (Lucentis) и *aflibercept*(Eylea).

– *Bevacizumab* (Avastin) е моноклонално антитяло, свързващо се с всички изоформи на VEGF факторите (248). През 2006 г. се появява *Ranibizumab* (Lucentis), който представлява само фрагмент от моноклонално антитяло и е с пъти по-висока прониквателна способност – свързва всички изоформи на VEGF факторите и е с пъти по-висок афинитет от *Bevacizumab*. *Aflibercept* (Eylea) представлява човешки протеин с по-голям афинитет на свързване към VEGF-A от досега съществуващите, но който се свързва с VEGF-B и плацентарния растежен фактор (255). Препаратът улавя VEGF молекулите, преди да се свържат с нативния рецептор, затова го наричат още „капан за VEGF”. Действието на *Aflibercept* е да блокира неоангиогенезата и пролиферацията на съдове, да намалява пропускливостта на съдовете и едема в ретината [17], както и да намалява неоангиогенезата при МДСВ. Много клинични проучвания показват по-добри резултати от приложението на *Aflibercept* в сравнение с *ranibizumab* и *bevacizumab* (245).

Освен избора на препарат обаче, от особено значение за успеха на терапията при МДСВ е *изборът на терапевтична схема* за лечение на заболяването. Предложени са следните клинични схеми или протоколи за прилагане на препаратите:

- прилагане през фиксиран интервал – 1 или 2 месеца.
- Pro-renata – при необходимост.
- Treat and Extend- удължава се или се намалява периода на инжектиране.
- Индивидуализиран подход при терапията ТАЕ.

Протоколът ТАЕ има за цел, от една страна, да намали броят на апликациите на пациента и в същото време да осигури своевременно лечение, което да не позволи натрупването на течност в макулата (257). При тази схема интервалите на проследяващите визити се избират спрямо клиничното протичане на заболяването при отделните пациенти. Така, когато пациентът не показва признаци на активност на заболяването – няма течност в макулата, интервалите на проследяване се разреждат и обратното, ако се появи течност в макулата интервалите на проследяване и инжектиране се скъсяват. Основното е, че не на всяка проследяваща визита се прави инжекция, състоянието на ретината определя интервала до следващата инжекция. Именно затова ТАЕ протоколът може да се нарече “проактивен” протокол за разлика от PRN, който е реактивен протокол (16).

Досегашните проучвания показват, че фиксирани комбинации, с често прилагане на медикаментите водят до прекомерно, ненужно лечение в повечето случаи, като в същото време се увеличава натоварването на пациентите от множеството визити. Повишеният брой инжекции води до повишен риск от усложнения, като инфекции, глаукома, и възможна атрофия. Терапевтичният подход PRN от своя страна дава възможност за рецидив на заболяването и натрупване на течност в ретината (250). Проучването на Асоциацията на ретиналните специалисти – American Society of Retina Specialists (ASRS), 2014, показва, че в световен мащаб се използва най-често протоколът ТАЕ при ан-

ти-VEGF терапията (78%), прилагането на PRN се прилага доста по-малко (в 16% от случаите), а фиксираната терапия почти не се използва (2%).

Проучването ALTAIR е многоцентрово, рандомизирано, фаза 4, проведено в 40 клинични центъра в Япония, и сравнява 2 различни начина на прилагане на схемата TAE. Пациентите са разделени на две групи: едните, лекувани на 2 седмици, а другите – на 4 седмици (248). Интервалът на третиране се удължава при липса на течност в ретината, задържа се в същия интервал, ако има остатъчна течност и се скъсява, ако течността в ретината се увеличава. Резултатите показват, че на 52-рата седмица в групата пациенти с 2-седмичен интервал на визити най-късият интервал на прилагане на лекарството е 8 седмици при 58.%, 12 седмици е при 42.3%, а 16 седмици няма при никого. В групата с удължаване през 4 седмици най-късият интервал от 8 седмици се наблюдава при 60%, 12 седмици при 49%, а при 40% има удължаване до интервал 16 седмици.

Протоколът TAE дава възможност за индивидуализирана терапия, която избягва недостатъчния или прекаления брой инжекции. Проучването ALTAIR показва, че интервалът от 4 седмици е най-удачният за мониториране на лечението. Тази схема за лечение дава възможност да се идентифицират пациентите, които нямат нужда от постоянно мониториране и чести инжекции (247, 252). В същото време не се допуска появата на рецидиви на заболяването, както и натрупването на течност в ретината, като се дава възможност за запазване на зрителната острота. Проучването ALTAIR показва, че прилагането на тази схема през 4 седмици води до увеличаване на зрителната острота с около 8-10 букви, при намален брой приложения и честота на прилагане.

Изборът на един или друг вид препарат за започване на лечението на пациентите е много важен и е свързан с внимателно прецизиране на индивидуалните особености на отделните препарати, както и със специфичните индивидуални особености на отделните пациенти.

Статистическите данни показват, че само в САЩ около 11 милиона американци имат различни форми на МДСВ (Reena Mukamal). Данните са категорични, че 90% от слепотата причинена от МДСВ се дължи на влажната форма

на заболяването. До неотдавна влажната форма на МДСВ причиняваше невъзвратима загуба на зрение при две трети от пациентите (243). Използването на анти-VEGF лекарствени средства намалява наполовина броя на пациентите със слепота в САЩ и дава възможност да се запази зрителната острота, а дори в някои случаи да се подобри ([Reena Mukamal](#)).

От множеството лекарствени средства, представени на пазара – три са разработени единствено и само за приложение при МДСВ (260), а именно ranibizumab (Lucentis), aflibercept (Eylea) и brolocizumab (Beovu).

Единствено bevacizumab (Avastin) е предназначен първоначално за лечение на различни видове рак, най-вече колоректален карцином, но се използва в много страни като off-label препарат за лечението на МДСВ.

Основните критерии, по които можем да сравним тези препарати, са следните:

Наличие на лиценз за употреба при пациенти с МДСВ (FDA approval)

Lucentis, Eylea и Beovu са специално разработени за приложение в окото при пациенти с МДСВ и имат разрешение от FDA. Единствено Avastin няма такова одобрение и неговото приложение е възможно само при строги показания и в off-label режим (230). Въпреки това, лекарството не е напълно нелегализирано. През февруари 2004, то получава лиценз за прилагане при колоректален карцином и от тогава се използва успешно в много страни по света, включително и в България, за лечение и на влажна форма на МДСВ поради много добрите резултати от лечение с него. В някои страни, той дори е първо средство на избор при терапията на пациенти с влажна форма на МДСВ.

Цена и разходи за пациента

Цената на Avastin е в пъти по-ниска в сравнение с тази на другите препарати (\$50 в сравнение с ~\$1800-\$2000 за Eylea, Lucentis или Beovu). Това прави в някои случаи, когато препаратите не се реимбурсират от здравната каса, изборът на лекарствено средство до голяма степен предрешен.

Риск за пациента

Множество проучвания (12, 56, 72) показват, че рискът от усложнения при интравитреалното приложение на анти-VEGF препаратите е приблизително еднакъв за тези, които са предназначени за очно приложение. Голямото предимство на прилагането на Eylea, Lucentis или Veovue, че те се произвеждат в еднократни дози, които се прилагат веднага, без да се налага да се репакетират или разделят на отделни дози (250, 257). Отчита се по-голям процент на инфекции след прилагането на Avastin поради нуждата от разделяне на препарата на отделни дози от 1 основен по-голям флакон и възможността за микробна контаминация при този процес. От друга страна обаче, световната статистика показва (46, 78), че основният процент на случаи на ендофталмит след интравитреални инжекции се дължи на замърсяване от очната повърхност на самия пациент, а не на инжектираното лекарствено вещество. Така, че доводът за по-голям риск при разделянето на Avastin е донякъде необоснован.

Продължителност на действието

Проучванията доказват, че продължителността на действие на Lucentis и Avastin е приблизително еднаква и се изчерпва в рамките на 30-40 дни. Именно това налага по-честата апликация на тези медикаменти, не позволяваща да се използва пълноценно терапевтичната схема Treat and Extend.

Препаратът Eylea има по-продължително действие от другите два и ефектът се изчерпва средно за 40-52 дни. Първоначалният протокол на прилагане е всеки месец в продължение на 3 месеца, след което на всеки 8 седмици веднъж до края на 2-рата година (261).

Veovu се смята, че има още по-продължителен ефект дори от Eylea. Смята се, че концентрацията му се запазва повече от 60 дни в окото, което позволява да се постига желаният терапевтичен ефект само с 4 инжекции годишно.

Ефективност и терапевтичен ефект

Един от най-силните аргументи, свързани с това кой медикамент да се избере при начало на терапията за МДСВ е това кой би имал най-изразен терапевтичен ефект, отчитайки индивидуалните особености на пациента.

Повечето проучвания показват близък ефект от приложението на Lucentis, Eylea и Avastin (255). Основното при определяне кой е по-ефективен са клиничните и ОСТ признаци на индивидуалния пациент, които ни карат да предпочетем един или друг препарат.

В нашето проучване бяха включени 126 пациенти с влажна форма на МДСВ и 14 с атипични форми на МДСВ. Те бяха разделени на три групи в зависимост от това каква терапия сме използвали:

– *Пациенти с влажна форма на МДСВ, лекувани с Avastin (bevacizumab)*
– *41 пациенти.*

– *Пациенти с влажна форма на МДСВ, лекувани с Lucentis (ranibizumab)*
– *12 пациенти.*

– *Пациенти с влажна форма на МДСВ, лекувани с Eylea (aflibercept) – 73 пациенти*

Ние използвахме при всички пациенти схемата ТАЕ с удължаване през 4 седмици. Основните критерии за времето на инжектиране бяха базирани на ОСТ критерии за активност на неоваскуларната мембрана. Такива са:

- задържане или увеличаване на ретинната дебелина.
- задържане или увеличаване на субретинната течност.
- поява на интравитреални кисти.
- отлепване на РПЕ или увеличаване на височината му.
- кръвоизлив.
- намаляване на зрителната острота.

В случаите, когато се наблюдаваше липса на течност в ретината, се увеличаваше интервалът с 4 седмици, ако течността в ретината персистираще, се запазваше същият интервал. В случаите, когато се наблюдаваше активност по изброените критерии, се налагаше намаляване на интервала.

Сравнявайки пациентите, лекувани с Lucentis и с Avastin (255), можем да кажем, че се наблюдават почти еднакви резултати по отношение на промяна на зрителната острота и централната ретинна дебелина, съответно: средно подобряване на зрителната острота при Avastin – 0,2-0,3 (SD 0.3: P < 0.001) средно подобряване на зрителната острота при Lucentis – 0.3-0.4 (SD 0.3: P < 0.001). Средното подобряване на ЗО е с около 4-5 знака. При централната ретинна дебелина, измерена с OCT, нещата са също аналогични – средната промяна при лекуваните с Avastin е 100 μ , докато средната промяна в ретинната дебелина на пациентите, лекувани с Lucentis е 150 μ . Можем логично да заключим, че двата препарата имат еднаква ефективност по отношение на повлияване на ЗО и централната ретинна дебелина (226, 259). В същото време се отчита общата и за двата препарата тенденция да имат по-добър ефект при пациенти в по-млада възраст и с по-малки лезии. Можем да отбележим също така, че Avastin се оказва значително по-ефективен при случаи с хеморагична активност, тъй като директно подпомага дезинтеграцията на еритроцитите в ретината и стъкловидното тяло.

От друга страна, макар и върху малка бройка и без статистическа достоверност, наблюдавахме по-добър терапевтичен ефект при използването на Lucentis при пациентите с РАП, отколкото при лекуването им с Avastin. Схемата ТАЕ се оказа изключително удачна и при двете групи, но индивидуалният интервал за инжекциите беше различен при двата препарата. Използвайки Avastin, можехме да разредем апликациите, докато при използването на Lucentis се налагаше по-често инжектиране (250). Най-дългият интервал, през който не се наблюдава рецидив, беше 10 седмици. При пациентите с РАП се налагаше значително по-често инжектиране.

Нашите резултати са в подкрепа на много международни проучвания. Така например много сходни са резултатите от проучването ANCHOR, оценяващо ефекта на различни концентрации ranimizumab – Lucentis, при лечението на предимно класически тип влажна форма на МДСВ. Проучването е рандомизирано, мултицентрово, обхващащо 423 пациенти. Резултатите показват, че в края на първата година при 94% от пациентите се наблюдава подобряване на

ЗО с около 8 букви при концентрация на медикамента 0.5 mg. Сериозни странични ефекти не се наблюдават (241).

Особено значими са многоцентровите проучвания САТТ и IVAN, чиято основна цел е да сравнят Avastin и Lucentis по ефективност, както и по схеми на действие. Проучването САТТ включва 1208 пациенти с влажна форма на МДСВ и сравнява не само ефекта на bevacisumab и ranibizumab, но и резултатите при ежемесечно прилагане на препаратите, както и при прилагането им само когато е необходимо. Резултатите от изследването на 12-ия месец показват еквивалентно повишаване на ЗО при двете групи пациенти, лекувани с bevacisumab и ranibizumab, и приложение всеки месец – 5.0-6.5 букви средно (257). Това е съпоставимо с нашите резултати за подобрене на ЗО при използването на медикаментите средно с 4-5 знака. Техните резултати по отношение на централната ретинна дебелина са за средна редукция на ретинната дебелина при прилагането на ranibizumab от 196 μ , а при bevacisumab от 168 μ . Изследването показва, че двата препарата имат съпоставими резултати при лечението на МДСВ, като прилагането на медикаментите всеки месец е по-удачно от прилагането при нужда. Резултатите се запазват и на 2-рата година, като разликата в ефекта на двата препарата е пренебрежимо ниска от порядъка на 1 буква.

Нашите резултати напълно съответстват с данните от мултицентровите проучвания, показвайки съпоставимост на резултатите при лечение с Avastin и Lucentis и много добър ефект при използването на схемата treat and extend.

Пациентите, лекувани с интравитреални инжекции на *Eylea (aflibercept)*, в доза от 2 mg (0.05 ml), бяха 73. Средната възраст беше 63 год (+/- 4). Средният брой на поставените при тях интравитреални инжекции беше 14 (SD 3.4 от 3 до 16). Пациентите бяха проследявани за срок от 2 години.

Лекуването на пациентите и при терапията с AFLIBERCEPT се извършваше по протокола ТАЕ. Първоначално се поставяха 3 апликации през 4 седмици като насищаща доза. При пациентите без данни за активност следващите инжекции се правиха след удължаване с 2 седмици на интервала. Най-краткият интервал на прилагане беше 4 седмици (244,259). Ако наблюдавахме

рецидив на заболяването, намалявахме интервала на инжектиране с две седмици. При всички пациенти се стремяхме да намерим оптималният индивидуално специфичен интервал за поставяне на инжекциите.

В повечето случаи наблюдавахме увеличаване на ЗО средно с около 4 ± 2 букви в края на първата година от проследяването и средно с 5.2 ± 1 букви в края на втората година. В края на втората година от лечението по указаната схема при 94% от пациентите се наблюдаваше запазване или подобряване на зрителната острота, а 71% показваха повишаване на зрението с повече от 5 букви.

Налице беше също така силно намаление на централната ретинна дебелина (CRT) спрямо изходното. От първоначална средна ретинна дебелина ($400 \pm 130 \mu\text{m}$), на 6-ия месец от терапията тя беше $388 \pm 74 \mu\text{m}$. Средната ретинна дебелина на първата година беше редуцирана до $294 \pm 75 \mu\text{m}$, а в края на втората година беше $288 \pm 70 \mu\text{m}$. Като цяло се наблюдаваше тенденция към редукция на централната ретинна дебелина, в най-голяма степен това се проявяваше след първата насищаща доза (244, 265).

Макулният обем (MV) също се намали значително – от $9.97 \pm 1.21 \text{ mm}^3$ първоначален обем на $9.04 \pm 0.79 \text{ mm}^3$ на 6-ия месец. Макулният обем на първата година беше $8.03 \pm 0.65 \text{ mm}^3$, а на втората година беше $7.97 \pm 0.74 \text{ mm}^3$.

Пълно изчезване на течността в ретината наблюдавахме при 76% от пациентите след първоначалната насищаща доза, доста по-малко намаляване на течността се наблюдава на 1-вата и 2-рата година.

Субфовеоларната хориоидална дебелина остана без промяна през цялото проучване. Големината на неоваскуларната лезия също намаля през периода до втората година.

Това, което правеше впечатление, е въздействието на прапарата върху отлепванията на РПЕ. Почти винаги, иначе резистентни на терапията отлепвания на РПЕ, се намаляваха значително и почти напълно слягаха. Средното намаляване на височината на отлепването на РПЕ, измерено с ОСТ, е 0.56 mm^3 ($P = .001$). Правеше впечатление, че намаляването на височината на отлепва-

нето е толкова по-изразено, колкото по-високо е то първоначално. Съществуваше правопрпорционална зависимост между първоначалната височина на отлепването и ефекта от лечението.

Нашите изследвания показват, че при по-голямата част от пациентите, преминали от предишен медикамент – Lucentis или Avastin на Eylea, се наблюдава подобрене.

Налице е намаляване на ретинната течност и намаляване на ретинната дебелина средно с 0.32 mm^3 ($P = .01$). В същото време се намалява количеството на субретинната течност средно с около 0.08 mm^3 ($P = .04$). Подсушаването на макулата се наблюдаваше по-продължително време в рамките на 6 месеца след провеждането на терапията.

Получените от нас резултати са в пълен синхрон със световните проучвания като The VEGF trap Eye: Investigation of efficacy and Safety in Wet AMD studies (VIEW1 and VIEW 2). Те са рандомизирани клинични проучвания, при които се сравнява ефикасността на aflibercept и ranibizumab в различни схеми на прилагане за период от една година (259). Според техните данни средното подобрене на зрителната острота при пациентите, лекувани с Eylea, е 7,6-7,9 букви в зависимост от прилаганите схеми. Подобряването на централната ретинна дебелина е съпоставимо с резултатите от приложението на другите анти-VEGF препарати, но с много по-малък брой инжекции.

Нашите проучвания напълно корелират с данните от проучването View 1-2, че препаратът Eylea дава съпоставими, даже в някои начални форми малко по-добри резултати от останалите анти-VEGF препарати, като безспорно по-добър е ефекта на медикамента при отлепване на РПЕ. Вероятно това е свързано с директния му протективен ефект върху РПЕ клетки. Ето защо Eylea е медикамент на първи избор при пациенти с отлепване на РПЕ.

Нашите проучвания показаха и точно определени критерии за промяна на лечението от един препарат на друг, които до голяма степен съвпадат с критериите за продължаване на анти-VEGF терапията (15, 64, 265). Такива са:

- намаляване на ЗО
- увеличаване на централната ретинна дебелина

– персистиране на течност в ретината повече от месец след последната инжекция

– ретинен кръвоизлив

– поява на нова CNV, доказана на ФА.

Независимо от приложената терапия и смяната на медикаменти, 7% от всички случаи не се повлияваха от лечението и бавно прогресираха към трайно увреждане на зрението. В световната статистика процентът на резистентните на лечение случаи е около 10% (9, 20). В тази група спадат пациентите, които прогресират до дисциформен цикатрикс, разкъсване на РПЕ, субретинна хеморагия, географска атрофия или показват персистираща ретинна течност на OCT изображенията и прогресивно намаляване на зрението (253). Резистентните на анти-VEGF терапия пациенти са разнородна група – с напреднали форми на РАП, пациенти, при които се наблюдава тафилаксия, по-агресивни форми на МДСВ, генетични типове на МДСВ с по-тежко протичане. Терапевтичният подход към тези пациенти е превключване от един препарат на друг, най-често преминаване към Eylea, използване на комбинирани терапии с кортикостероиди и анти-VEGF, фотодинамична терапия и анти-VEGF и др. В нашето проучване нямашме възможност да сравним *различни терапевтични схеми за приложение на интравитреалните анти-VEGF медикаменти*. Основно при нашите пациенти използвахме схемата Treat and extend при различните видове препарати.

Клиничните проучвания в световен мащаб показват, че стабилни резултати се получават при фиксирано прилагане на анти-VEGF медикаментите. Такъв дозов режим е предсказуем и ясен и за пациентите, и за лекаря. Недостатък на тази терапевтична схема е прекаленото натоварване, както на пациентите, така и на лекаря и възможността за прекомерно третиране или недостатъчно лекуване на пациентите, ако фиксираният интервал е по-дълъг или по-къс от необходимото.

При PRN протокола пациентите получават интравитреални инжекции само при реактивиране на заболяването, като това е реактивен протокол (251). При него се цели да се намали честотата на манипулациите и натоварването

на пациентите и лекарите. При тази схема пациентите пак се проследяват през точно определен период от време, но не всеки път се поставя интравитреална инжекция, а само когато са изпълнени точно определени клинични критерии (З.О, ОСТ, флуоресцеинова ангиография). Успехът на лечението в голямата си степен зависи от критериите за поставяне на инжекция и от личната преценка на лекаря.

Схемата Treat and Extend е най-последната терапевтична схема, която се основава на определянето на максималното време между интравитреалните инжекции, през което не се наблюдава рецидив на заболяването (252, 261). Търси се максималният свободен от рецидиви интервал, като инжекциите се поставят през малко по-къс интервал от максимално допустимия, за да се избегнат рецидиви на заболяването. Ето защо този протокол се нарича проактивен.

Обсъждайки различните терапевтични схеми, Европейската комисия по ретинална патология (11, 23, 45, 61) се обедини върху принципите, които трябва да определят идеалната терапевтична схема при лечение с анти-VEGF медикаменти. Тези принципи са следните:

1. Да се запази или подобри максимално дълго ЗО на лекуваните пациенти.
2. Да решим след колко време да поставяме инжекциите, а не дали да поставяме инжекции на следващата визита.
3. Да прецизираме интервалите на лечение, така че те да отговарят на индивидуалните нужди на пациентите.
4. Да поставяме инжекции на всяка визита.

Нашите изследвания потвърждават ефикасността на схемата при лекуваните от нас пациенти. Ние използвахме при всички пациенти схемата ТАЕ с удължаване през 2-4 седмици. Основните критерии за времето на инжектиране бяха базирани на ОСТ критерии за активност на неоваскуларната мембрана.

В случаите, когато се наблюдаваше липса на течност в ретината, се увеличаваше интервалът с 2-4 седмици, ако течността в ретината персистираше,

се запазваше същият интервал. В случаите, когато се наблюдаваше наличието на активност по изброените критерии, се налагаше намаляване на интервала. Схемата TAE се оказа изключително удачна и при всички пациенти, независимо от препарата, с който са лекувани. Индивидуалният интервал за инжекциите обаче при различните препарати беше различен. Използвайки Avastin, можехме да разредим апликациите до 10-12 седмици, докато при Lucentis се налагаше по-често инжектиране. Най-дългият интервал, през който не се наблюдава рецидив, беше 9 седмици. При пациентите с РАП се налагаше значително по-често инжектиране през 4-6 седмици, за да се поддържа стабилно състоянието. При пациентите на терапия с Eylea се оказа, че има съществена промяна в продължителността на интервала, през който могат да се правят инжекции, без това да води до рецидив на заболяването. Около 50% от нашите пациенти толерират добре поставяне на инжекции през 12-седмичен интервал на 2-рата година от терапията. А при 40% имаме достигане на интервал от 16 седмици на втората година. Това значително намалява броя на инжекциите и подобрява качеството на живот на пациентите, без да води до допълнителен риск от рецидив на заболяването.

Тези данни се потвърждават от световните изследвания и проучванията Copernicus, Galileo, VIBRANT, VIVID и др (257, 258, 260), където подобряването на ЗО след прилагането на anti-VEGF медикаменти по схемата TAE се задържа при всички за 1 година, а при някои от пациентите до 4 години (4).

Допълнителни данни се получават и от проучването ATLAS, изследващо интравитреалното приложение на Eylea по схемата TAE при пациенти с МДСВ. В продължение на 1 година на пациентите са поставени средно 8 инжекции, като ЗО се подобрява средно с 11 букви (259). До края на втората година са направени средно 5 инжекции и подобрението на ЗО се запазва със средно 8-11 букви. Това показва, че схемата на прилагане на препарата е ефективна и води до продължителна ремисия при значително намален брой на апликациите за пациентите. Предварителната схема на лечение е важна предпоставка за повишен комплайънс при пациентите с МДСВ. При изследваните

от нас пациенти в много редки случаи се наложи прекъсване на лечението от страна на пациентите.

Най-трудното при схемата Treat & extend е определянето на оптималния времеви интервал между отделните приложения, който ще е достатъчно дълъг, но няма да позволи рестарт на заболяването.

При нашите пациенти увеличавахме интервала с 2-4 седмици в зависимост от индивидуалното протичане на заболяването и наличието или липсата на критерии за възобновяване активността на неоваскуларната мембрана. Важно е да се знае, че продължителността на супресия на VEGF-A е различна за различните пациенти и за различните анти-VEGF препарати.

Така например за ranibizumab супресията на растежните фактори при различните хора може да варира от 26 до 69 дни. Доказано е, че средно този препарат предизвиква желаня супресивен ефект за около 36 дни и продължителността на ремисията, която се постига, може да бъде до 3 години (13, 67, 79, 93). От друга страна, проучванията, включително експерименталните показват, че прилагането на Eylea води до по-дълготрайна супресия на растежните фактори средно от порядъка на 71 дни, което е почти двойно повече, отколкото за другите препарати. Нещо повече, с този препарат ремисия се постига обикновено на 2-рата година, като се изискват значително по-малко на брой инжекции през втората година от лечението. И в нашето проучване поради повишения интервал на прилагане на медикамента Eylea средно през 12-14 седмици се поставиха средно 4 инжекции за последната година. Подобни резултати се докладват и от проучването VIEW, където 48% от пациентите, лекувани с aflibercept, се нуждаят от средно 3 инжекции в интервала 52-96-а седмица. По същия начин в проучването ATLAS 82% от пациентите имат интервал на прилагане на инжекциите от 8 седмици и повече, а 41% имат интервал на прилагане от 12 седмици и повече.

Освен типа на лекарственото вещество от голямо значение е *индивидуалното протичане на заболяването при отделните пациенти*. Обичайно след първоначалната „натоварваща“ доза от 3 инжекции през 1 месец (28-30) дни, поставяхме следващата инжекция след 56 дни, почти 2 месеца. Особено важно

е индивидуалното състояние на пациента след тези 2 месеца пауза. При по-голямата част от проследяваните пациенти постигнатият резултат се запазва като ЗО и ретинна дебелина. Това са и пациентите, при които спокойно можем да планираме схема с постепенно увеличаване на интервала на поставяне на инжекциите (34, 76, 234). В някои от случаите обаче се наблюдава влошаване на състоянието след тази 2-месечна пауза, което е типично за пациенти с пониска бионаличност на лекарството в организма и по-кратка супресия на VEGF-А растежните фактори. При тях се прилага схема на лечение с по-често поставяне на препаратите, като най-големия интервал, който може да се постигне с дългодействащи препарати, е 8 седмици.

Всяка терапевтична схема е индивидуална сама по себе си и отчита особеностите на протичане на МДСВ при конкретния пациент, както и отговора на организма към конкретния терапевтичен продукт.

Основното, което трябва да ни води при лечението, е разбирането, че продължителността на VEGF супресията не е константна величина, а зависи от избрания препарат и индивидуалните особености на конкретния пациент.

Препаратите с по-продължително действие дават възможност за прилагане през по-големи интервали, като се намалява значително броят на приложения в окото. В повечето случаи тези медикаменти водят до по-продължителна ремисия – 3-4 години.

Индивидуализираният подход на лечение премахва нуждата от проследяващи визити, не позволява рестарт на заболяването и задържа за по-дълго време постигнатите добри резултати. Основавайки се на четирите принципа на идеалната терапевтична схема, искаме да осигурим едно предварително определено, проактивно и ненатоварващо излишно пациентите лечение, водещо до дълга ремисия с минимален брой приложения на лекарствени вещества. Всички проучвания до този момент са категорични, че Treat & extend е най-успешната схема за лечение на МДСВ, като колкото по-дълго действа препаратът, толкова по-малко инжекции са необходими за постигане на желаната ремисия.

Това се потвърждава и от нашите резултати, които бяха най-добри бяха при пациентите, лекувани с Eylea. При тях се получи най-продължителен резултат при най-малък брой приложения на веществото, прилагани на най-голям интервал. Последните проучвания показват малко по-добри резултати единствено при прилагането на brolocizumab (Beovu), който се смята, че има по-продължително действие от Eylea и постига добър терапевтичен резултат само с 4 приложения за година.

Дискусия на терапевтичните резултати при атипичните форми на МДСВ

Ретиналните ангиоматозни пролиферации представляват едва 12-15% от всички случаи на МДСВ. Поради по-агресивния характер на протичане и особеностите на заболяването, то често е изключвано от клиничните проучвания и до днес няма точни клинични протоколи за неговото лечение (7, 12). През последните години (37, 52) се доказва по-добрата ефикасност на препарата ranimizumab при лечението на РАП. Нашите изследвания също показаха повлияване на пациентите с РАП след прилагането на Lucentis по схемата Treat and extend. Прилагането на Lucentis в този случай дава по-добри резултати от прилагането на Avastin и сходни с прилагането на Eylea (222). Средната зрителна острота на РАП пациентите беше 0.1, като средно се наблюдава подобрене с 1-2 реда до 0.2 максимално. Средният брой инжекции, които приложихме, беше 10. Налице беше необходимост от по-често поставяне на инжекциите. Най-големият интервал между приложенията при тези пациенти беше до 8 седмици, средно 6. Средната редукция на ретинната дебелина беше 100 микрона (SD 0.4). Правеше впечатление, че подобно на случаите на влажна МДСВ, то и при РАП пациентите добрите промени в ретината се появяваха сравнително бързо – до 1 месец от прилагането на препарата, понякога дори в рамките на 1 седмица след апликацията. При 1 пациент наблюдавахме прогресия на състоянието, както и влошаване на зрителната острота. Касаше се за случай на напреднала форма на РАП III с вече оформени ретинно- хориоидални анастомози и отлепване на РПЕ.

Подобни резултати се наблюдават и от други автори като Marques MF et al. В своето проучване те изследват дългосрочната ефективност на монотерапия с ranimizumab при пациенти с РАП. Всички пациенти са лекувани по схемата pro renata. Авторите съобщават за стабилизиране или подобряване на зрителната острота при 56% от пациентите за период от 36 месеца, а при 20% се наблюдава запазване на зрителната острота такава, каквато е била преди лечението (257). При половината от пациентите те наблюдават и намаляване на централната ретинна дебелина. Резултатите от комбинираната терапия на ranimizumab и фотодинамична терапия показват същия ефект, както при монотерапия с препарата.

Особено важен утежняващ прогнозата фактор при пациентите с РАП е отлепването на РПЕ. Gharbiya et al. показват отрицателна зависимост между ЗО и наличието на РПЕ отлепване преди началото на терапията. Тези пациенти се нуждаят от по-голям брой интравитреални инжекции и в същото време не постигат по-добра зрителна острота (255). При РАП пациентите без отлепване на РПЕ и в сравнително по-ранна фаза на заболяването са налице задоволителни зрителни резултати, при по-малък брой инжекции. При нашите изследвания, поради ограничения брой на пациенти с РАП, наблюдавахме само 1 пациент с отлепване на РПЕ, при когото заболяването протече затегнато, с влошаване и се налагаха по-голям брой интравитреални приложения в сравнение с другите пациенти.

Друга особеност на протичането на заболяването при пациентите с РАП е по-голямата честота на разкъсванията на РПЕ. Много автори описват това усложнение като част от нормалното развитие на МДСВ и наличие на отлепване на РПЕ, особено при РАП – 2 и 3.

Introini et al. съобщават за сравнително висок процент (37%) на новопоявили се разкъсвания на РПЕ след anti-VEGF терапия на пациенти с РАП и васкуларизирано отлепване на РПЕ (25). Това сериозно усложнение в ранните фази се диагностицира най-добре, чрез ФАФ и ФА. При всички случаи можем да заключим, че лечението на РАП е сериозно терапевтично предизвикателство, което налага избор на конкретни препарати (ranibizumab, aflibercept), по-

често инжектиране и винаги е свързано с повишен риск от сериозни усложнения като разкъсване на РПЕ.

Дискусия на резултатите от терапия при пациенти с полипоидна хориоидална васкулопатия

ПХВ е описана за първи път от Yannuzzi et al. като полипоидални, субретинни, васкуларни лезии, свързани със серозно или хеморагично отлепване на РПЕ (258). Като по-особена форма на МДСВ тук се наблюдават някои типични, характерни особености, по-различни от нормално наблюдаваните. Терапията също е по-различна.

Редица автори докладват добри краткосрочни резултати при използването на фотодинамичната терапия (ФДТ) при пациенти с ПХВ.

Akaza et al. докладват за регресия на полипите в 80-95% от случаите, което води до намаляване на отока и ексудацията и до подобряване на зрението след фотодинамичната терапия (231). Те обаче съобщават и за 77% рецидиви на заболяването и обратна поява на полипите на края на 3-ата година от проследяването. Някои от пациентите имат рецидив на заболяването повече от 1 път. Повторното лечение с ФДТ не води до добри резултати, защото често причинява обширна хориоидална неперфузия и VEGF дисрегулация при големи размери на петното на лазера, което е причина за развитието на атрофични зони и рецидивираща неоваскуларизация (12, 34). Съвремените схващания са, че по-малките лезии, липсата на субретинни хеморагии, добрата начална зрителна острота са предпоставки за добър резултат от фотодинамичната терапия.

Друга възможност за лечение на ПХВ е използването на анти-VEGF медикаменти. При проучването EVEREST, което сравнява 6-месечните резултати при пациенти с ПХВ, лекувани с монотерапия с ranimizumab, с резултатите от ПДТ монотерапия се оказва, че само при 30% от случаите на монотерапия с ranimizumab се наблюдава пълен регрес на полипите (36). Въпреки това авторите отчитат подобрене на зрителната острота, независимо от персистирането на полипите, което най-вероятно се дължи на силно изразения противоеде-

мен ефект на ranibizumab. Именно тези проучвания показват, че анти-VEGF препаратите могат успешно да контролират ексудативните промени, свързани с развитието на полипите. В 30% от случаите анти-VEGF терапията е ефективна и води до пълно изчезване на полипите.

Независимо от разочароващите дългосрочни резултати от приложението на ФДТ, все пак преобладава мнението, че тя трябва да присъства в терапията на тази атипична форма на МДСВ. При ФДТ по-голямата част от пациентите запазват добрият ефект в рамките на една година.

Съвременното схващане (5, 7, 19, 62) за лечението на ПХВ е в комбинацията между ФДТ с типичния за нея, ангиооклузивен ефект и анти-VEGF медикаменти, с техния антипролиферативен и антиедематен ефект. Най-последните изследвания показват, че комбинираните терапии са за препоръчване пред монотерапия при ПХВ. По този начин се намалява броят на ФДТ, налице е по-изразено намаляване на едема на ретината и много по-малко хеморагии. Добавянето на анти-VEGF медикаменти намалява количеството растежни фактори, индуцирани от тъканната хипоксия след ФДТ. Именно затова комбинацията между двете си остава най-препоръчителната терапия за момента. Интервалите на терапия са строго индивидуални и свързани с клиничната преценка на офталмолога. В нашето проучване бяхме включили съвсем малък брой пациенти с ПХВ, които лекувахме само с анти-VEGF препарати. Само в 1 от случаите се наблюдава регрес на полипа и възстановяване на зрителната острота. Във всички останали случаи резултатите от терапията бяха незадоволителни.

Дискусия на усложненията от анти-VEGF терапията

Най-общо усложненията след анти-VEGF терапията могат да се разделят на две големи групи – усложнения, свързани с прилагането на интравитреалната инжекция, и усложнения вследствие на основното ретинно заболяване – МДСВ.

Усложненията, свързани с манипулацията – интравитреална инжекция, които не зависят толкова от заболяването и агента, който се прилага са:

- Енд офталмит, иридоциклит
- Отлепване на ретината
- Повишаване на ВОН
- Хеморагии – субконюнктивни, ретинни
- Системни странични ефекти от медикаментите.

Усложнения, свързани с основното ретинно заболяване – МДСВ, са:

- Не повлияване от терапията или изчерпване на ефекта от даден медикамент.
- Разкъсване на РПЕ
- Атрофия на ретината
- Фиброза.

Енд офталмитът се запазва като най-тежкото усложнение след приложението на интравитреалните инжекции в окото, водещо до загуба на зрение. Мултицентрови клинични проучвания показват, че честотата на енд офталмитите след анти-VEGF инжекциите е между 0.019 и 1.6% (77, 81, 85). Още по-нови изследвания (92, 99) показват дори още по-нисък процент на очни възпаления. Процентът на енд офталмитите си остава един и същ за различните анти-VEGF препарати, различните места на извършване на инжекцията и в различните страни.

Последните проучвания показват, че енд офталмитите, получени в резултат на бактерии от рода *Streptococcus*, са много по-чести след интравитреални инжекции, отколкото след катарактална хирургия. В същото време бактериите от рода *Streptococcus* представляват 41% от бактериите, намиращи се в слюнката на човек. Следователно енд офталмитите при интравитреалните инжекции се получават в най-голяма степен от замърсяване на оперативното поле от капчици слюнка при дишане и говорене. Доказано е, че носенето на маска и неговоренето по време на интервенцията намаляват в пъти риска от развитие на енд офталмит. Статистиката посочва по-голям процент на енд офталмити при лечение с bevacizumab поради контаминиране при разделянето на лекарството на отделни дози. Много важно е пациенти с предхождаща инфекция на

конюнктивата, блефарити и конюнктивити да бъдат отлагани от интравитреални инжекции.

Мащабни клинични проучвания за честотата на енд офталмит дават за ranibizumab и bevacizumab почти еднакъв процент на очното възпаление – 1.4-2.9%. Най-често симптомите се появяват 2.55 ден (1-6 дни) след поставянето на инжекцията. 7 от 9 пациенти се оплакват от болка и фотофобия в окото (259). При изследване се наблюдава активност в предната камера с преципитати, хипопион, фибрин и предни синехии.

Вътреочното възпаление при използването на aflibercept е отчетено в писмо на US Food and Drug Administration от 13 February 2012, Regeneron Pharmaceuticals (Tarrytown, NY, USA). Според него от 30 000 инжекции само 14 случая са с енд офталмит или средно 0.05% на инжекция. Ако при катаракталната хирургия честотата на енд офталмита е средно между 0.09 и 0.33, то при интравитреалните инжекции е от порядъка на 0.03. От нашите пациенти – общо 126 пациенти с влажна форма на МДСВ и атипичните форми – 14 души, само при 1 се наблюдава наличието на енд офталмит (240). В този случай се касаеше за пациент, лекуван с Avastin.

По-голямата честота на енд офталмита след лечението с Avastin се обяснява с възможността за контаминиране на лекарството по време на приготвянето на инжекционния разтвор. Препоръчително е внимателното изтегляне на лекарството с филтърна игла за еднократна употреба, както и прилагането на лекарствения разтвор на няколко пациенти веднага след разделянето, за да не се налага престояването му в хладилник и увеличаването на риска от възможна контаминация.

Клиничните прояви на очното възпаление са свързани с намаляване на зрението, зачервяване и болка. Тези оплаквания се появяват средно на 3-4-ия ден след поставянето на интравитреалната инжекция. Впоследствие се наблюдава изразено помътняване на стъкловидното тяло поради развиващия се витрит. На по-късен етап към 5-6-ия ден се развиват клиничните белези на преден увеит с развитие на хипопион и синехиране на зеницата. Вследствие на проведеното своевременно антибиотично лечение се наблюдава възстановяване

на зрението, макар че зрителната острота остава ниска. Много важна е профилактиката на ендофталмитите, която включва:

- отлагане на пациенти с активни конюнктивити и блефарити.
- използване на 5% повидон йод във форниксите неколккратно преди апликацията.
- локалното приложение на антибактериални капки предоперативно. Данните показват, че приложението им редуцира значително количеството на повърхностните бактерии и съответно риска от ендофталмит.
- използване на стерилни чаршафи и блефаростати при манипулацията
- задължителна маска на оператора и пациента.
- инструктиране на пациентите при най-леките признаци на зачервяване, болка в окото да се обръщат към лекуващия лекар.
- използването на антибиотични капки следоперативно е дискутабилно.

Много автори от САЩ активно го препоръчват (4, 56, 78), други клинични проучвания показват силна резистентност и по-затегнато протичане на възпаления вследствие постоперативната антибиотична апликация. В нашето проучване използвахме постоперативно антибиотични капки, но сменяхме препаратите след всяка инжекция за намаляване на резистентността.

Макар и унищожително за окото, това сериозно усложнение, свързано с интравитреалната инжекция, е напълно предотвратимо при спазване на всички изброени техники и профилактични мерки.

Регматогенно отлепване на ретината

Случаите на регматогенно отлепване на ретината след прилагането на анти-VEGF инжекции са много малко в световната литература (5, 16, 45), от порядъка на 0-0.67%. Много автори показват еднакъв процент на отлепване на ретината между пациенти, на които се прилагат анти-VEGF медикаменти, и такива от контролната група, без интравитреални апликации.

Приема се, че регматогенното отлепване след интравитреална инжекция се дължи на предизвикано по време на манипулацията отлепване на стъкловидното тяло или е резултат от грешна техника на инжектиране. Стриктното

спазване на оперативния протокол, правилното подбиране на мястото на поставяне на инжекцията на 3.5-4 mm от лимба, използването на възможно най-малък размер игли, тунелното въвеждане на иглата за избягване на рефлукс и заклещване на стъкловидното тяло са едни от най-важните неща за профилактиране на отлепването на ретината (245). При нашите пациенти не се наблюдава случай на регматогенно отлепване на ретината.

Повишаване на ВОН

Проучванията показват, че внезапното повишаване на ВОН в окото след интравитреалните инжекции е нещо нормално за тази процедура и обичайно е бързопреходно, продължаващо до няколко часа. Други по-нови изследвания (76) обаче показват, че големият брой интравитреални инжекции в крайна сметка може да доведе до трайно повишаване на ВОН.

Глаукомно болните пациенти имат по-високи нива на повишаване на ВОН в сравнение с останалите пациенти. Има различни теории, обясняващи трайното повишаване на ВОН при пациенти, лекувани с анти-VEGF. Те включват следните основни неща – ефекта на блокадата на растежните фактори, лекостепенно възпаление на трабекуларния апарат след инжекцията, нарушение в нормалния трабекуларен дренаж вследствие на повтаряща се хронична травма на окото,

внасяне на допълнителен обем, който провокира пикове на ВОН и др. При всички пациенти и особено при тези с глаукома и медикаменти за нея се препоръчва проследяване на ВОН до 2 часа след инжекцията (32, 46, 78). В случаи на повишено налягане се предписват медикаменти за понижаване на налягането. Само в 0,5% от случаите се наблюдава повишаване на налягането над 30 mm Hg и се налага оперативно му снижаване. Най-често тези случаи са на пациенти с декомпенсирана и недобре компенсирана глаукома.

В нашето проучване 25% от всички пациенти показваха повишено ВОН, което се колебаеше в границите 23-25 mm Hg и това бяха главно пациенти с диагностицирана глаукома (23). При всички тях покачването беше краткотрайно – до 3-4 часа след поставянето на медикамента, като впоследствие то се

върщаше към обичайните си стойности. При някои от пациентите се наложи назначаване на постоянна антиглаукомна терапия, а при други се добавиха допълнителни медикаменти, към досега съществуващата (36). При никой от лекуваните от нас пациенти не наблюдавахме повишения на налягането над 30 mm Hg и не се наложи оперетивно понижение на ВОН.

Хеморагии на окото

В световната литература (260) има описани доста случаи на хеморагии след интравитреални инжекции на анти-VEGF.

Субконюнктивни хеморагии се описват при 10% от поставените инжекции, като те са доста по-чести при пациенти, приемащи аспирин и други лекарства за разреждане на кръвта. Много проучвания показват, че в по-голямата част от случаите антикоагулантната терапия не води до повишено кървене след интравитреалната инжекция и субконюнктивните хеморагии в повечето случаи са свързани с техниката на инжектиране и засягане на съдовете на конюнктивата и склерата (23). Поради големия риск от тромбемболия при пациенти с антитромботична терапия спирането ѝ при прилагане на интравитреални инжекции като цяло не се препоръчва. При нашите пациенти наблюдавахме субконюнктивни хеморагии в 8-10% от случаите, най-често при тези с повишен риск от кървене и прием на антикоагулантна терапия. Това състояние се самоограничаваше и отшумяваше напълно за 5-6 дни.

От особено значение за зрението са хеморагиите вътре в окото, в стъкловидното тяло и хематомите в макулата (89).

В повечето случаи те се описват след прилагане на неселективни анти-VEGF препарати като Avastin около 0.1% от случаите и много по-рядко при селективните анти-VEGF препарати: 0,05% при ranimizumab и 0,01% за aflibercept. Обикновено рискът от хеморагии зависи не само от препарата, но също така от състоянието на пациента (4). Най-често с риск са пациенти с повишена хеморагична активност преди инжекцията, окултните типове на неоваскуларна мембрана, с по-голяма площ, ПХВ и пациентите с големи и гигантски отлепвания на РПЕ. В тези случаи използването на по-агресивна, несе-

лективна терапия с анти-VEGF води до контракции на неоваскуларната тъкан с разкъсвания на съдовете, както и с възможност за разкъсване на РПЕ и силно намаляване на зрението. При изследваните от нас пациенти, не сме наблюдавали случаи на ретинални хеморагии и хемофтальм.

Системни странични ефекти

Повечето анти-VEGF лекарствени средства са широко разпространени за лечението на различни видове карциноми. Обобщено могат да се изтъкнат следните странични ефекти при тяхното приложение – тромбемболии, миокарден инфаркт, хипертония, перфорации на язви, бъбречни заболявания и др.

Приема се, че макар и в малка концентрация, въведени интравитреално медикаментите достигат до общото кръвообращение. Ето защо има описани случаи на повишен риск от кръвоизливи след прилагането на ranimzumab при по-възрастни пациенти (9, 13, 56). Наблюдавани са екхимози, кръвоизливи от гастроинтестиналния тракт, хематоми и дори субдурални хематоми (97). При прилагането на bevacizumab са докладвани сериозни системни странични ефекти, като повишаване на кръвното налягане (0.59%), инсулти (0.5%), инфаркти (0.4%), аневризми на илиачната артерия (0.17%) и 0.01% смъртни случаи. Повечето автори показват, че системните странични ефекти са многократно повече при използването на bevacizumab, по-малко при ranibizumab и най-малко при приложението на aflibercept (259).

Според Ghasemi Falavarjani и Nguyen се отчита с 11% по-висок риск от внезапна смърт и с 57% по-висок риск от хеморагичен инсулт при използването на bevacizumab.

Нови метаанализи показват повишен дял на пациенти със системни инфекции и гастроинтестинални заболявания при използването на bevacizumab, сравнено с ranibizumab (RR $\frac{1}{4}$ 1.3; 95% CI 1.0-1.7); докато честотата на тромбемболиите е еднаква за двата препарата. Van der Reis et al., изследвайки последователно, в продължение на години страничните ефекти на ranibizumab и bevacizumab стигат до извода, че няма статистически значима разлика по отношение на системните странични ефекти на двата препарата (2, 34, 67, 71).

The Royal College of Ophthalmologists, United Kingdom, също достигат до заключението, че препаратите имат идентичен профил на безопасност.

Много редки странични ефекти на препаратите са: предна исхемична оптикопатия, венозни оклузии след инжекции на bevacizumab, хеморагични инфаркти на макулата след инжекции. Изключително рядко се споменава за остра бъбречна недостатъчност след такива лекарствени интервенции.

Усложнения свързани с основното ретинално заболяване – МДСВ

– Неповлияване от терапията или изчерпване на ефекта от даден медикамент.

- Разкъсване на РПЕ.
- Атрофия на ретината
- Фиброза.

Неповлияване от терапията – рефрактерни на терапия случаи или изчерпване на ефекта от нея

В нашето проучване 37 души с МДСВ от общо 274, или около 7.5% от всички изследвани, бяха резистентни на терапията с анти-VEGF препаратите. Най-често това бяха пациенти на лечение с bevacizumab – 12 човека, ranibizumab – 6 и най-малко с aflibercept – 2 случая.

Подобни резултати се описват и от повечето международни проучвания като MARINA (Minimally Classic/Occult Trial of the Anti-VEGF Antibody Ranibizumab in the Treatment of Neovascular AMD) и ANCHOR (Anti-VEGF Antibody for the Treatment of Predominantly Classic Choroidal Neovascularization in AMD).

При тях съответно рефрактерни случаи се наблюдават при 25% от лекуваните с ranibizumab и при 40% от пациентите, лекувани с bevacizumab. В същото време Lux et al. (13, 45) показват данни за 45% рефрактерност на лечението при пациенти, лекувани с bevacizumab.

Най-често рефрактерни на лечението са пациенти с ПХВ.

Много важни са ОСТ показателите, като 2 от тях са много често срещани при рефрактерните на терапия пациенти.

Най-често в нашето проучване това бяха пациенти с *голямо количество интравитреална течност – ИРТ на ОСТ* изследванията. Това се потвърждава и от изследванията на други автори, които също съобщават за рефрактерни на терапия случаи с налично голямо количество на ИРТ. Тази група от пациенти е рефрактерна на терапия главно с bevacizumab, а се повлиява добре от ranibizumab и още по-добре от aflibercept (23). Интересно е, че авторите съобщават за по-добър анатомичен резултат при смяна на лекарството, но не и за подобряване на зрителната острота.

Най-вероятната причина за неповлияването при лечение с bevacizumab и наличието на ефект при лечение с другите два препарата се свързва с различната големина на молекулите на различните препарати (56).

Поради по-малките си размери ranibizumab се разпространява дифузно в ретината и чрез дифузия преминава в субретинното пространство след интравитреалната инжекция.

Bevacizumab също достига ефективно до субретинното пространство, но поради по-големия си размер молекулата не може да премине чрез дифузия и преминава активно с помощта на мюлеровите клетки (234). Оказва се, че големината на молекулите на bevacizumab е около 5.5 nm, която е много по-голяма от диаметъра на порите на membrana limitans interna, поради което преминаването на препарата чрез обикновена дифузия остава невъзможно (5). Много експериментални модели показват активната роля и активен транспорт на мюлеровите клетки при преминаването на лекарството. В пълна противоположност на това експерименталните модели на ranibizumab и Eyelea показват пълна свобода на пенетрация в цялата ретина и хориоидея.

Именно тази разлика в транспорта на лекарствените вещества би могла да обясни липсата на ефект при терапия с bevacizumab на пациенти с наличие на голямо количество интравитреална течност и кистовиден макулен едем.

В тези случаи се унищожават мюлеровите клетки в зоната на едем и практически силно се влошава проникването на bevacizumab в ретината. В

същото време другите анти-VEGF препарати преминават свободно чрез дифузия в ретината и това обяснява наличието на ефект при терапията с тях при пациенти с изразен кистовиден едем на макулата(112).

По-различни са резултатите при лечението на пациенти с изразена субретинна течност. Наличието на субретинна течност на OCT е също белег за рефрактерност на терапията. В тези случаи неповлияването е еднакво както за ranibizumab, така и bevacizumab и пациентите се повлияват най-добре с фотодинамичната терапия.

Много резонно изниква въпросът кое е по-утежняващо като прогноза и рефрактерност на лечение, наличието на интравитреална или на субретинна течност (113, 234).

По определение за рефрактерна на терапия ИРТ или СРТ се приема тази, която се задържа в ретината, независимо от терапията с анти-VEGF препарати през последните 6 месеца или повече. Нашите проучвания, които са в синхрон със световните данни, показват, че при 60% от случаите на рефрактерна течност, тя е субретинна и едва в 30% се наблюдават ИРТ с кисти, рефрактерни на терапия (35). Такива рефрактерни на терапия пациенти при нас бяха 37 човека, от които само 9 с интравитреална течност. В 14 от случаите със субретинна течност тя се резорбира частично след по-продължителен период на лечение – 2 години. В същото време пациентите с резистентна на терапия ИРТ и кисти показаха много по-висок риск от развитие на фиброза (3.3 пъти по-често) както и на атрофия (4.2 пъти по-често), отколкото в останалите случаи на МДСВ (14, 45). Така също пациентите с рефрактерни на лечение интравитреални кисти са и с по-висок риск от загуба на зрение с около 10 букви и повече ($P = 0.018$). Такъв риск не се наблюдаваше при пациентите с по-дълго задържаща се въпреки терапията субретинна течност. Дори и в случаите на субфовеоларна субретинна течност по-късната резорбция е възможна. Не така стои въпросът с интравитреалните кисти, рефрактерни на терапия – те винаги са свързани с лош анатомичен и функционален резултат и трябва да се приемат като признак за лош изход на заболяването (18).

Важно е да се знае, че продължителността на супресия на VEGF-A е различна за различните пациенти и за различните анти-VEGF препарати, което също е свързано с рефректерността или не на терапията.

Така например за ranibizumab супресията на растежните фактори при различните хора може да варира от 26 до 69 дни.

Доказано е, че средно този препарат предизвиква желаня супресивен ефект за около 36 дни и продължителността на ремисията, която се постига, може да бъде до 1 година (227, 250). От друга страна, проучванията, включително експерименталните, показват, че прилагането на Eylea води до по-дълготрайна супресия на растежните фактори, средно от порядъка на 71 дни, което е почти двойно повече, отколкото за другите препарати. Нещо повече, с този препарат ремисия се постига обикновено на 2-рата година, като се изискват значително по-малко на брой инжекции през втората година от лечението. Всичко това показва, че различните препарати имат различна продължителност на действие в организма и различно време на елиминиране от него, което обяснява по-дългия или по-кратък терапевтичен ефект и нужда от нови и нови приложения.

Съвременната тенденция е да се използват препарати с по-продължителен ефект в организма, които се елиминират по-бавно и има нужда от по-малък брой приложения на медикамента.

Често пъти в началото на анти-VEGF терапията се наблюдава добър ефект от нея, но впоследствие ефективността на лечението значително намалява – пациентите стават резистентни на лечението или на определения лекарствен агент, който се прилага.

В този случай от значение са няколко важни неща – *лекарствена толерантност и развитие или не на тахифилактичен ефект.*

Лекарствената толерантност е фармакологично понятие, свързано с реакцията на организма към определено лекарство вещество с определена концентрация, която постепенно се намалява при повтарящи се дози. Често се налага увеличаване на дозата или съкращаване на времето за прилагане на веществото, за да се постигне желанят терапевтичен ефект. Лекарствената

толерантност от своя страна може да се раздели на няколко вида – фармакологична толерантност, фармакокинетична – метаболитна, и поведенческа толерантност, само при определени лекарствени вещества.

Фармакокинетичната толерантност към анти-VEGF терапиите (259) е свързана с развиващата поради продължителното лечение повишена експресия на растежни фактори от макрофагите на хориоидеята, както и повишена експресия на фактори, предизвикващи рефлекторно увеличаване на неоваскуларизацията. Също така в организма се развива имуногенна реакция с отделяне на антитела срещу въвежданния препарат. Така според фармакологичните данни първоначално имунореактивността към ranimizumab е 0%-3%, която се увеличава на 6% след 12 месеца и достига до 10% на втората година от използването (ANCHOR, MARINA). Повишената имунореактивност най-вероятно е и причината за намаляване на вече наблюдавания ефект на лекарството. Това се потвърждава и от факта, че ако се увеличи дозата на поставяния препарат, това не води до подобряване на ефективността (253). Напротив, това води до повишена имунореактивност към медикамента и рефрактерност на терапията.

От анти-VEGF препаратите с най-голяма имуногенност е bevacizumab, следван от aflibercept и ranimizumab. В нашите морфологични проучвания на субретинни мембрани на пациенти, лекувани с Eylea, показват увеличен брой на макрофагите в изследваната тъкан. Това обясняваме с повишената имуногенност към препарата. Проучванията показват, че само увеличаването на честотата на апликациите на 2 пъти месечно може да доведе до преодоляване на развилата се толерантност и достигане на предишната ефективност от прилагането на даден медикамент.

Stewart et al. доказват, че прилаганото на анти-VEGF медикаментите (ranibizumab, bevacizumab, aflibercept) на всеки 2 седмици довежда до отлични резултати при пациенти, които по време на лечението са станали резистентни на терапията (256). Именно на това откритие почиват и повечето принципи на терапията при МДСВ, прилагани в схемата treat and extend.

Тахифилаксия

Тахифилаксията е медицински термин за остро, внезапно намаляване на ефекта на лекарство след неговото прилагане. Може да се получи веднага след първата доза или след няколко последователни малки дози. Kane et al. за първи път съобщават за възможна проява на тахифилаксия след прилагането на ranimizuab, като се смята, че трябва да са направени поне 2 инжекции, за да се развие. Тахифилаксията не може да бъде преодоляна с по-висока доза (20).

Затова пък тя може да бъде преодоляна, като се спре прилагането на препаратите за известно време или ако се промени интервалът на дозите. Смята се, че всички анти-VEGF препарати проявяват тахифилаксия, като причината за възникването не е ясна (8). В случаите на проява на тахифилаксия се препоръчва да се спре с терапевтичния агент и той да се замени с друг от същата група. Така например препоръчва се преминаване от bevacizumab на ranibizumab или на aflibercept. Разбира се, и обратните комбинации също са възможни. Смята се, че по-добрият терапевтичен ефект при една такава смяна се дължи, от една страна, на преодоляване на тахифилаксията, а от друга, на различния транспорт на препаратите към ретината, свързан с големината на молекулата им и специфичните им характеристики.

Ranimizuab поради малката си молекула се намира дифузно около ретината и прониква в нея чрез дифузия. За разлика от него bevacizumab поради голямата си молекула се транспортира активно чрез мюлеровите клетки. Aflibercept е с по-голям афинитет на свързване към VEGF факторите и с по-голяма прониквателна способност от другите два препарата (257). С това може да се обясни по-добрият ефект на препарата при резистентни на другите 2 препарата случаи.

Conbercept има подобна молекулна структура като aflibercept и подобен начин на действие. Препаратът е одобрен от Китай за приложение още през 2013 г. и се описва използването му при пациенти с резистентност и тахифилаксия към другите препарати, с добър резултат.

Също много важно е да се отбележи, че с времето, особено след първоначалния инициращ период на терапия, активността на заболяването започва да намалява и това води до намаляване на нуждата от инжекции. При нормал-

но протичане и когато не включваме резистентните на терапия случаи броят на инжекциите постепенно намалява. Така при ranimizumab през първата година пациентите получават средно 12 инжекции, през втората 9 инжекции, докато през третата година средно 6 инжекции. Това не важи за рефрактерните и резистентните случаи, при които често се налага смяна на препарата и поставяне на по-голям брой инжекции.

Разкъсване на РПЕ

При пациентите с МДСВ често може да се получи разкъсване на РПЕ. То би могло да бъде спонтанно или да е резултат на прилаганите интравитреални инжекции. Много съвременни проучвания показват, че разкъсванията на РПЕ са по-чести след прилагането на анти-VEGF препарати (72-74). Докладваната честота на разкъсване на РПЕ след интравитреалната терапия при МДСВ варира между 0.06 и 27% и е в пъти повече от спонтанните разкъсвания, развиващи се при естествения ход на заболяването. Това само идва да покаже, че анти-VEGF терапията увеличава честотата на това тежко усложнение.

Основните рискови фактори за развитието на разкъсване на РПЕ са вече съществуващо отлепване на РПЕ, най-често фиброваскуларно.

Особено рискови са отлепванията с голяма площ или голяма височина, отчетени на ОСТ, които дори се смята, че са предразполагащи за разкъсване на РПЕ.

Разкъсването на РПЕ е било описано за първи път през 1981 г. от Hoskin et al. като усложнение на МДСВ. Разкъсванията могат да бъдат резултат от естественото развитие на заболяването при окултна форма на МДСВ, РАП или да са провокирани от провежданата терапия (234). Спонтанното разкъсване на васкуларните отлепвания на РПЕ се среща в 10% от случаите. По-големият процент е свързан с продължително поставяне на анти-VEGF медикаменти. Още през 2006 г. има описани случаи за разкъсване на РПЕ след поставяне на Avastin. Доказано е, че анти-VEGF препаратите предизвикват съкращаване на неоваскуларните мембрани и това е основната причина да акселерират процеса на разкъсване на РПЕ. Смята се, че основният механизъм на разкъсването е

свързан с контракция на намиращи се по вътрешната повърхност на отлепването на РПЕ фиброваскуларни мембрани (6, 67). Така на границата отлепване/нормална ретина действат две взаимно противодействащи си сили – контракция на мембрана и адхезивните сили между РПЕ, което води до разкъсване на РПЕ.

Разкъсването на РПЕ е свързано с рязък спад на зрителната острота. В наблюдаваната от нас извадка имахме 5 случая на разкъсване на РПЕ.

Основните рискови фактори за развитието на разкъсване на РПЕ според нашите изследвания са височината и диаметърът на отлепването, неговата давност, хиперрефлексивност, субретинални напуквания.

Отлепвания с височина 400 μm са с повишен риск за разкъсване. Също така отлепвания с по-голяма площ са с увеличен риск от разкъсване. Това се потвърждава и от други автори в световната литература. Така например Chan et al. съобщават за разкъсване на РПЕ при високи отлепвания на РПЕ над 400 μm .

Doguizi и Ozdek (19) доказват статистически, че височина от 580 μm задължително води до разкъсване на РПЕ. Подобно на тях Sarraf et al. (39) описват височина от 550 μm за високорисков фактор за развитие на разкъсвания на РПЕ.

В тази връзка Chiang et al. (20) изказват хипотезата, че по-голямата повърхност на отлепването и по-големият му линеарен диаметър, както и субфовеоларната локализация са предразполагащи рискови фактори за развитието на разкъсване на РПЕ. Chan et al. (37) допълват това, доказвайки по-висок риск от разкъсване при отлепвания, показващи по-малко съотношение между големината на неоваскуларната мембрана и големината на отлепването.

Наличие на хиперрефлексивност на отлепването на РПЕ, видимо на ОСТ, говори за активна неоваскуларизация на отлепването и като цяло повишава риска от разкъсвания. Тези хиперрефлексивни линии, които типично започват от краищата на отлепването на РПЕ, са описани от много автори и се смята, че отговарят на неоваскуларна мембрана. Според други автори хиперрефлексивните линии показват и нагъвания на ниво РПЕ – брехова мембрана,

т.е. налична е както контрактилна сила, така и слабост на РПЕ клетки и бруховата мембрана.

Напукванията на РПЕ се визуализират на ФА с преминаване на багрило в субретинното пространство и леко размазване на границите на лезията, което също е рисков фактор за разкъсване.

Sarraf et al. (24) въвежда класификация на разкъсванията на РПЕ, като за степен 1 отбелязва, че се отчита изтичане на багрило на границата на отлепването на ФА и микроскопични фисури на линията РПЕ на ОСТ диаграмите. Clemens et al. (41) постулират, че наличието на микрофисури на ОСТ изображенията е свързано с повишен риск от разкъсване на РПЕ след анти-VEGF терапия. Най-вероятно микрофисурите намаляват резистентността и интегритета на свързване на РПЕ, а увеличените контрактилни сили след инжекция довеждат до допълнително напрежение върху тях и водят до разкъсване.

Друг рисков фактор за *разкъсване е времето*. По наши наблюдения отлепвания с по-малка давност, сравнително пресни, са с по-голям риск от развитие на това усложнение, най-вероятно поради наличието на млада неоваскуларна мембрана, която по-лесно се контрахира. Обратно, по-старите отлепвания, обичайно са фиброваскуларни, с по-малко активни неосъдове и по-малко възможности за контрактилни сили. Doguizi and Ozdek (19) потвърждават нашите резултати и докладват за обратна зависимост между давността на отлепването на РПЕ и неговото разкъсване. В тяхното проучване също отлепванията с по-малка давност водят по-често до разкъсвания. Според тях прякното отлепване на РПЕ означава, че се касае за млада неоваскуларна мембрана, с незрели неосъдове. Именно незрелите неосъдове са по-чувствителни на въздействието на анти-VEGF препаратите и реагират на терапията много по-драматично.

Рисков фактор за развитието на разкъсване на РПЕ е *дозата на препарата*. Повишената доза води по-често до това усложнение. Оказва се, че различните препарати имат различна честота на разкъсване на РПЕ. Едно ретроспективно проучване на пациенти с bevacizumab на 125 очи с васкуларно отлепване на РПЕ показва честота на разкъсванията от 16.8% (13). Clemens et al.

(15) съобщават за честота от 25% на РПЕ разкъсвания след прилагането на ranibizumab.

В съвременни изследвания на Sarraf et al. (16) са представили резултати от прилагането на две различни дози на ranibizumab в концентрации от 0.5 до 2.0 mg при пациенти с васкуларизирано отлепване на РПЕ. Те показват, че в 14% от случаите по-голямата доза води до по-често разкъсване на РПЕ. Наистина повишената доза на прилагания медикамент води до риск от по-сериозни усложнения. Те доказват също, че 4 от 5 такива разкъсвания се наблюдават в групата с по-висока доза на лекарството. Все още няма категорични данни за разкъсването на РПЕ при приложение на aflibercept (11), макар че се предполага, че честотата на това усложнение при него е сходна с тази при прилагането на ranibizumab и рискът се увеличава с нарастването на дозата.

Това, което препоръчваме, е активното търсене на рискови фактори за развитието на разкъсване на РПЕ. При наличие на такива да се прави задължително OCT оценка след всяка апликация на анти-VEGF медикаменти. В случай на акумулиране на рискови фактори или поява на нови да се спре за известно време поставянето на медикамента или ако това е невъзможно, да се намали дозата наполовина. След изчакване за период от един месец обикновено се наблюдава възвръщане към нормалното състояние и става възможно да се продължи с терапевтичната схема.

Атрофия на ретината

Атрофията на макулата е понятие, свързано с развитието на географска атрофия в централната зона, което най-често се развива при регрес на неоваскуларизацията в тази зона. В момента няма категорични данни до каква степен атрофичните промени са резултат от естествения ход на дегенерация на неоваскуларната мембрана или са по-скоро резултат от прилаганите интравитреални инжекции (12,78).

Много автори докладват за по-висока честота на атрофията след използването на ranibizumab сравнено с bevacizumab, както и връзка между началната зрителна острота и честотата на атрофията.

Доста противоречиви са проучванията относно значението на честотата на инжекциите за развитието на атрофичните лезии. Изненадващо се оказва, че недостатъчното лечение води по-често до атрофия, отколкото свръхлечението с по-чести приложения.

В нашите проучвания около 23 очи развиха атрофия в макулата на втората година от терапията, което е сравнително нисък процент – 7% от всички случаи. Това бяха пациенти с начална ниска зрителна острота под 0.05, налично изтъняване на хориоидеята, а в някои от случаите и наличие на атрофия в другото око. В едно свое изследване върху 206 пациенти Chang et al. описват 63 случая на макулна атрофия или 42%, която се развива *de novo* в края на втората година (112, 234, 257). Средната големина на атрофичните лезии е около 1.9 mm², като при 44% от случаите атрофията е под 1 mm², а само в 11% от случаите тя е над 5 mm². При почти всички докладвани от тях случаи атрофията се развива в мястото на предшестваща неоваскуларна мембрана.

Това наблюдавахме и при нашите 23 пациенти, при които атрофията беше колокализирана в мястото на развиващата се мембрана. Статистическият анализ на нашите данни показва висока достоверност на зависимост ($P < 0.05$) между развитието на макулна атрофия и следните рискови фактори:

– По-малък брой инжекции. Противно на очакванията, при по-малък брой инжекции, по-често се развива атрофия – средно след 12.8 ± 0.7 инжекции, докато при средно 15.5 ± 0.6 инжекции не се наблюдава МА; рискът от развитието ѝ е 0.77 ± 0.29 , $P = 0.009$ на всеки 10 инжекции.

– Ниска първоначална зрителна острота (средно 54.8 ± 2.4 букви на ETDRS таблицата или като зрителна острота 20/80 и по-ниска е с повишен риск от развитие на атрофия при лечението. На всеки 10 букви намаляване на началната зрителна острота, коефициентът на риск нараства с 0.31 ± 0.10 , $P = 0.003$;

– Наличие на ретинални ангиоматозни пролиферации (RAP). Нашите проучвания, както и данните в световната литература доказват, че в 82% от развита атрофична лезия, тя е резултат на РАП и едва в 35% на друг тип неоваскуларизация. $P < 0.0001$.

Освен тези рискови фактори в световната литература са описани като рискови още:

– Наличието на ретикуларни псевдодрузи – откриват се в 57% от случаите на атрофия.

– Наличие на депигментации на РПЕ – 58% от случаите.

– Наличие на интратретинни кисти в началото на терапията – наблюдавана е при 60% от новоразвилата се атрофия.

– Липса на субретинална течност в началото на терапията – в 70% от ново появилите се атрофии.

– По-тънка субфовеоларно хориоидна дебелина (средна дебелина $171 \pm 12 \mu\text{m}$ за де ново появилата се атрофия);

Други автори съобщават за поява на макулна атрофия (МА) в 37,2% при пациенти с РАП на втората година от провежданото лечение (98). Единодушно е мнението, че този вид МДСВ е по-рисков за развитието на атрофия на макулата. Основни предиспозиращи фактори това да се случи са псевдодрузите, изтъняване на хориоидеята субфовеоларно и наличието на географска атрофия в другото око. Нашите изследвания включваха една доста малка бройка пациенти с РАП и за това статистически не може да се посочат достоверни изводи (45). Въпреки това можем да кажем, че при тях наблюдаваме по-често развитие на географска атрофия, отколкото при другите видове МДСВ.

Това, което показват както нашите, така и резултатите на много автори е, че *разположението на неоваскуларната мембрана* е много важно за развитието на атрофия след анти-VEGF терапията. Неоваскуларните мембрани, разположени субфовеоларно, имат по-висока честота за развитие на атрофия в сравнение с МА, развиваща се екстрафовеоларно. *Приема се, че именно субфовеоларната локация, по-късната възраст и по-големият размер на неоваскуларната мембрана са основните рискови фактори за развитие на МА.* Все още остава неизяснен въпросът, защо субфовеоларната неоваскуларна мембрана е по-рискова от юкстафовеоларната и всяка друга, разположена на друго място в ретината (8). Приема се, че когато една неоваскуларна мембрана регресира, се упражняват тракционни сили върху РПЕ клетки и бруховата мемб-

рана. Тези сили често водят до пукнатини в бруховата мембрана и разкъсване на нормалните свързвания на РПЕ клетки (12). Смята се, че поради специфичните анатомични особености тези процеси са по-чести субфовеоларно, отколкото на други места в макулата и водят до развитие на атрофични зони.

При всички случаи, започвайки анти-VEGF терапия при пациенти с МДСВ, е необходимо да се преценява рискът от развитие на атрофия и да се проследява състоянието след всяка интервенция. Понякога временното спиране на терапията или преминаването към друг препарат може да намали развитието на атрофична лезия или нейната прогресия.

Развитие на фиброза след прилагането на анти-VEGF медикаменти

Фиброзата на макулата е последният стадий на МДСВ. Състоянието е описано от Pagenstecher – 1875. Макулната фиброза води до унищожаване на РПЕ, фоторецепторите и до сериозно увреждане на зрителната острота. Спонтанно като естествен ход на заболяването фиброзата се развива в 39% от случаите, но след въвеждането на интравитреалните инжекции този процент нараства на 55%. Клинично фиброза наблюдавахме при 12% от изследваните от нас пациенти. На офталмоскопия фиброзните участъци се наблюдаваха като добре отграничени жълто-белезникави лезии на нивото на ретината. Фиброзните цикатрикси на ФА показват начална хипофлуоресценция в ранните фази и последваща хиперфлуоресценция по граничната повърхност. ОСТ диагностиката показваше субфовеоларна хиперрефлексивност, с ясно очертани граници. Субфовеоларната фиброза преминава през 3 стадия – като 3-ти стадий е свързан с пълна атрофия на надлежащите слоеве на невросензораната ретина. В този случай активната и обратима неоваскуларизация се превръща в невъзвратима фиброза.

Патологията на субретинната фиброза е процес, свързан с няколко основни фактора:

– *активиране на клетките на екстрацелуларния матрикс – миофибробласти, фибробласти и перицити.*

- свръхекспресия на елементите на екстрацелуларния матрикс – глюкозоаминогликани, колаген, ламинин, протеогликанови комплекси, фибронектин.
- включване на много растежни фактори и клетки на възпалението.

Фиброзата е свързана с разрастване на съединителна тъкан и като цяло представлява повишено отлагане на елементи на междуклетъчния матрикс в процеса на възстановяване на тъканите (89). Възстановяването е процес, който включва активирането на клетките на възпалението и на фибробластите. В околото активираните фибробласти са миофибробластите и те синтезират протеини като фибронектин, ламинин и гликозоаминогликани. Когато увреждането се повтаря или става въпрос за хронично възпаление, процесът на възстановяване е неконтролируем и се развива патологична ексцесивна фиброза. Фиброзата на макулата при МДСВ е различна от обичайната, защото се развива от предшестваща неоваскуларна мембрана.

Макулната фиброза е краен стадий на нормалното развитие на МДСВ. Най-напред е описана като „дисциформен цикатрикс“. Макулната фиброза е свързана с невъзвратимо увреждане на РПЕ и фоторецепторите, с последващо сериозно намаляване на зрителната острота, независимо от прилаганата анти-VEGF терапия. Оказва се, че около 1/3 от пациентите, лекувани с анти-VEGF медикаменти, не се повлияват от терапията поради развитието на фиброза.

Чисто клинично макулната фиброза се вижда офталмоскопски като добре очертана, леко надигната бледо-жълтеникава лезия, засягаща ретината или субретинното пространство. На SD-OCT фиброзата се изобразява като хиперрефлексивна зона с унищожен РПЕ и силно деформирана елипсоидна зона. OCT диагностиката даде възможност да се определят различните стадии на макулна фиброза:

I – минимална субретинна фиброза – хиперрефлексивна ивица на границата невросензорна ретина, брукхова мембрана, със или без субретинна течност.

II – изразена субретинна фиброза – дебела хиперрефлексивна зона със задебеляване на невросензорната ретина и нейното ангажиране.

III – хиперрефлективна субретинна фиброза с атрофия на невросензорната ретина. На OCT-A се наблюдават както промените в ретинната архитектура, така и преминаването на лезията към васкуларен фибротичен цикатрикс.

Рисковите фактори за развитие на макулна фиброза са множество

Много автори в редица генетични изследвания показват (8, 12, 65, 98), че има генетични фенотипи, които са причина за лошия отговор на провежданата терапия при някои пациенти, като те и предопределят развитието на фиброза. Singh et al. докладват, че ниските нива на 25-hydroxyvitamin D при пациенти с МДСВ са причина за по-честата фиброза при тези пациенти. Генотип CFH Y402H CC се смята свързан с лоша прогноза и резистентност към анти-VEGF терапията. Авторите доказват, че пациентите с този генотип много по-често развиват фиброза.

Другите рискови фактори за развитие на фиброза са:

- По-ниска зрителна острота първоначално
- Макулна хеморагия
- РАП
- Класически тип неоваскуларна мембрана, субфовеоларно разположена и голяма като площ.
- Рефрактерни на терапия интратретинни кисти.
- Голям интервал между поставянето на диагнозата и началото на терапията.
- Наличието на субретинен хиперрефлективен материал, видим на OCT, е важен OCT белег за лошата прогноза и развитие на субретинна фиброза (266).

Смята се, че това е така, защото наличието на такива отлагания говори за увреждане на невросензорната ретина и РПЕ, което представлява риск от развитие на фиброза в макулата.

В нашите проучвания най-често фибротични промени наблюдавахме при пациентите, лекувани с bevacizumab и aflibercept. Като цяло по-силно дейст-

ващите анти-VEGF препарати след продължително прилагане – 2 години водят до развитие на фиброза, в порядъка от 12-14%. Резултатите от нашите няколкогодишни изследвания показват, че с най-голям риск от развитие на фиброза са пациентите с *отлепване на РПЕ, съчетано с интравитреални кисти, както и тези с макулна хеморагия*. Те бяха и основната част от пациентите с развитие на фиброза. При тези пациенти наблюдавахме бързо повлияване след терапията с Aflibercept и бързо изглаждане на отлепването или редуциране на хеморагията. В повечето случаи обаче унищожаването на неоваскуларната мембрана е непълно, което води до рецидиви и в крайна сметка до фиброза и загуба на зрение.

Патофизиологичните механизми на макулната фиброза са все още обект на дискусии.

Както вече отбелязахме, фиброзата е свързана с ексцесивно отлагане на елементи на екстрацелуларния матрикс като опит на организма да възстанови увреденият тъкан. Всъщност заздравяването на раните е свързано най-напред с активиране на клетките на възпалението и включването на фибробласти в този процес. Много често активираният фибробласт преминават в миофибробласт, които пролиферират и синтезират елементи на междуклетъчния матрикс като колагенни влакна, матриксни протеини – фибронектин, ламинин и глюкозаминогликани. Екстрацелуларният матрикс се опитва да покрие и регенерира увреденият тъкан. В случаите, когато имаме хронично, повтаряща се увреда на съответния тъкан или при персистиращо хронично възпаление, процесът на регенерация става неконтролируем и води до ексцесивна фиброза и груби цикатрикси (18, 23, 34).

Макулната фиброза като цяло е различна от фиброзните цикатрикси в други области на тялото поради уникалните ѝ патологични особености. Най-напред тя произхожда от съществуваща преди това неоваскуларна мембрана и съответно е свързана с превръщането на неосъдове във фиброзна тъкан. Много често самата фиброзна тъкан има своя васкуларна мрежа и при всички случаи представлява фиброваскуларна мембрана (14).

Много от въпросите, свързани с патофизиологията на фиброзната тъкан, остават недоизяснени. Така например много се спекулира с произхода на миофибробластите. Някои автори смятат, че макулната фиброза произхожда от глиалните клетки в ретината (14). Такова е и нашето виждане, защото наблюдавахме голямо количество мюлерови клетки и астроглия в субретинните мембрани на пациентите с МДСВ. Най-вероятно някои от тези клетки се явяват прекурсори на миофибробластите, участващи в процеса на фиброза. В нашите хистологични проучвания на оперативно отстранени субретинни мембрани налице бяха няколко вида клетки, а именно РПЕ, фибробласти и голямо количество елементи на възпалението и макрофаги – клетки, активно участващи във фиброзната процес. Нашите изследвания показаха малко по-голямо количество на макрофаги и клетки на възпалението при пациентите, лекувани с Eylea. Това е свързано с по-голямата имуногенност на препарата. Считаме, че препаратите с по-силно действие имат и по-голяма склоност за развитие на фиброза. Статистическите данни показват развитие на фиброза при 12% от лекуваните с Avastin и 16% при тези, лекувани с Eylea (18).

Субретинната фиброза е сериозно усложнение на интравитреалната терапия при МДСВ, което води до значително намаляване на зрителната острота. *Основните рискови фактори за появата на това усложнение са: ниска зрителна острота по-малко от < 60; възраст над 50 години; увеличена ретинна дебелина MI >20; голяма площ на неоваскуларизацията и значително изтичане на флуоресцеин от лезията.* Развитието на субретинна фиброза е и много по-често при пациенти с миопия, при които са много по-чести рецидивите на заболяването. Предотвратяването на развитието на фиброза е доста трудно постижимо.

Виждаме, че терапията с блокиращите растежните фактори вещества не е перфектна. Необходимо е подобряване на тази терапия, което е свързано с две основни направления:

– комплексна терапия с блокиране на повече и различни растежни фактори и протеини освен анти-VEGF.

– удължаване на ефекта на действие на медикаментите и намаляване на честотата на инжектиране чрез използване на нови системи за въвеждане на лекарствени вещества в окото като long lasting delivery systems, port delivering systems, refilling systems.

В същото време е необходимо и своевременното разпознаване на рисковите фактори за усложнения с цел тяхното предотвратяване.

Бъдещето на лечението на МДСВ

Възможностите и ползите от използването на биомаркери и познаването на рисковите фактори за развитието на МДСВ са огромни и най-вероятно в недалечно бъдеще ще бъдат включени в активни скрининг програми за откриване и превенция на заболяването. В последно време се смята, че именно рисковите фактори (генетични и от външната среда) водят до развитие на хронично възпаление, анатомични промени и дисфункция, което впоследствие води до развитието на неоваскуларна мембрана. Важно е познаването на рисковите фактори и клиничните биомаркери, които биха ни помогнали да прогнозираме хода на заболяването и да предприем едно или друго лечение (89).

Въпреки предложената терапия на МДСВ получените резултати са субоптимални. Интравитреалните инжекции подобряват състоянието, но се инвазивни, повтарящи се процедури, свързани с продължително мониториране на пациентите и риск от множество компликации. Ето защо в разработка са множество нови препарати и продукти. Част от решението на проблемите на МДСВ са свързани с нов ефективен скрининг на риска от заболяването, но и с нови терапии на бъдещето.

Проучват се нови видове анти-VEGF препарати като *brolicizumab* (RTH258) – човешко фрагментирано антителио с голям афинитет срещу всички изоформи на VEGF-A. Молекулата е по-малка 26 kDa (доста по-малко от ranimizumab – 48 kDa, и още повече от Aflibercept – 115 kDa), което води до по-добра пенетрация в тъканите и по-продължително действие на препарата (234).

Друг многообещаващ препарат е разработваният от Roche *Faricimab*. Това е първият от 15 години препарат за МДСВ, който има нов механизъм на действие, различен от този на досега използваните анти-VEGF препарати. Фарисимаб е първото биспецифично антитяло, специално разработено за човешкото око (245). То въздейства на два отделни механизма в патогенезата на МДСВ – на ангиопоетин-2-каскадата и на VEGF-A. Особени успехи се показват и от последните фаза III клинични проучвания на фирмата Roche за *Faricimab*. Комбинацията на VEGF A и ANG2 е отговорна за дестабилизирането на съдовете, пропускливостта на съдовите стени и силна възпалителна реакция. При едновременното блокиране и на двата механизма от *Faricimab* се получава стабилизиране на съдовите стени, намалява се пропускливостта им и възможността за образуване на неосъдове. Последните клинични данни показват същата ефективност на препарата както тази на *Aflibercept*, но при прилагане на по-голям интервал от време – 16 седмици, вместо 8. Този добър резултат се запазва за почти 50% от пациентите в продължение на 1 година и те не се нуждаят от по-чести интервали на инжектиране на препарата (9, 23, 26). Именно заради подобрения си механизъм на действие лекарството показва по-добри резултати от тези на *Eylea*, както и по-продължително действие при по-малко интравитреални апликации. Все повече се убеждаваме, че растежните фактори не са единствените фактори включени в патогенезата на МДСВ (214). Именно затова използването на комбинирани терапии е бъдещето на терапията на МДСВ.

Сред препаратите на бъдещето спада и продуктът *abicipar (Pegol)*, който представлява анти-VEGF-A специфичен протеин. Той е генетично модифициран така, че да има повишена специфичност и повишен афинитет на свързване с останалите анти-VEGF медикаменти. Препаратът е разработка на Allergan и се смята, че ще има по-продължителен ефект на действие в сравнение с досегашните препарати (234).

С цел редуцирането на броя на интравитреалните инжекции се препоръчват и разработват различни устройства, позволяващи да внасяме през по-малко на брой апликации лекарствените вещества.

Такива са системите, позволяващи повторно напълване – refill systems. Пример за такава система са rabimizumab port delivery system (RPDS). При нея имаме повторно зареждаща се система с резервоар, която чрез дифузия контролирано и за по-продължително време осигурява освобождаване на Rabimizumab. Тя се поставя субконюнктивно, фиксирано към парс плана, като периодично се пълни повторно и се отстранява остатъчен продукт (Genentech) (246).

Подобно по действие има хидрогелното депо за aflibercept. Механизмът му на действие е почти същият – в окото се вкарва хидрогелно депо, което постепенно се резорбира, отделяйки лекарственото вещество в определени количества за 6 месеца. Така се налага внасянето на препарата само 2 пъти годишно и се намалява значително честотата на инжекциите.

През последните години се появиха нови лекарствени средства сред които *инхибиторите на тромбоцитния растежен фактор*.

Доказано е, че анти-VEGF терапията сериозно намалява пропускливостта на съдовете на неоваскуларните мембрани, но не води до дългосрочен регрес на самите съдове. Предполага се, че перицитите имат важно значение, за да протектират ендотелните клетки и да пречат на процесите на неоангиогенеза. Тромбоцитният растежен фактор (PDGF) е протеин, който се свързва с тирозин киназния рецептор на перицитите (78, 98, 99). Смята се, че неговото блокиране води до спиране на процесите на неоангиогенеза и подобряване на дългосрочните резултати при МДСВ.

Такъв препарат е **Pegpleranib (Fovista®)**. Той е DNA аптамер, който се свързва с PDGF-BB и PDGF-AB и така спира неоваскуларните процеси.

Инхибитори на ангиопоетиновата каскада

През последните години се обръща особено внимание на ангиопоетиновата каскада като възможен начин за въздействие върху патогенезата на неоваскуларизацията.

Angiopoietin-2 (ANG2) е от особено важно значение за развитието на ретиналните съдове и предизвиква нарушаване на кръвно-ретинната бариера и

повишена съдова пропускливост. Подобно на растежните VEGF фактори и ANG2 се открива в ретината и хориоидеята при процесите на неоваскуларизация и исхемичните зони увеличават неговата продукция.

ANG2 се открива увеличен в стъкловидното тяло на пациенти с ретинална васкуларна патология, при пациенти с МДСВ или диабетна ретинопатия и ретинални венозни оклузии.

Изследванията показват, че повишените нива на VEGF по вътрешната повърхност на ретината не водят до развитие на неосъдове, ако няма и повишена експресия на ANG2. Ефектът на ANG2 се дължи на инхибирането на рецептора Tie2 на тирозин киназата, рецептор за всички протеини на семейството на ангиопоетина. Противоположно на действието на ANG2, ANG1 се свързва с Tie2 рецепторите и ги активира, като по този начин стабилизира кръвоносните съдове.

ANG2 се състезава с ANG1 за Tie2 свързване с рецепторите и това определя чувствителността на ретината към VEGF факторите и пропускливостта на ретиналните съдове и процесите на неоваскуларизация. Последните изследвания показват, че активирането на ANG1 силно намалява чувствителността на съдовете към VEGF и силно намалява пропускливостта, както и процесите на неоангиогенезата. Новите стратегии при терапия на МДСВ са свързани с инхибирането на ANG2 или активацията на Tie2 за спиране на патологичните промени на неоангиогенезата (99).

Новите изследвания показват, че инхибиторите на ANG2 намаляват пропускливостта на съдовете и образуването на неоваскуларна мембрана при пациенти с МДСВ. Те подпомагат поддържането на ендотелните клетки и нормалните tight junctional контакти, като намаляват пропускливостта на съдовете. Силно се редуцира и стимулирането на клетките на възпалението да се прикрепват към ендотелните клетки и да променят тяхната пропускливост (102).

Такъв препарат от ново поколение е **Nesvacumab (REGN-910-3)**.

Той представлява човешко IgG1 моноклонално антитяло срещу ANG2, което блокира взаимодействието с Tie2 рецептора. Производители на това лекарство са Regeneron[®] и фирмата Bayer[®] (266).

Смята се, че препаратите на бъдещето са именно тези, свързани с блокирането на двата пътя на неоангиогенезата, както и прилагането на генната терапия.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

МДСВ е комплексно заболяване с множество фактори, определящи неговото развитие и прогресия. Все още се откриват нови и нови патогенетични механизми за развитието на това състояние, появяват се нови до момента „скрити играчи“, подпомагащи механизмите на неоангиогенеза. При лечуването на пациентите с МДСВ е много важно да имаме предвид рисковите фактори както на средата, така и демографски, както и да разпознаем типичните клинични биомаркери, допринасящи за прогресията или стационарирането на състоянието. Познаването на рисковите фактори, някои от които са и прогностични за хода на болестта, ни помага по-успешно да лекуваме тези пациенти и да включваме в определени моменти едни или други лекарствени средства. Именно рисковите фактори – на околната среда или генетични, са и причината за развитие на възпаление, анатомични промени и дисфункция на фоторецепторните клетки, с последваща загуба на зрителната острота.

Не на последно място работата с пациентите и информирането им за различните рискови фактори и евентуалната им превенция е най-силният механизъм за профилактика на ретиналните заболявания и МДСВ.

ГЛАВА VI. ИЗВОДИ

1. Рисковите фактори за развитие и прогресия на МДСВ могат да се разделят на общи и клиничко-специфични. От общите рискови фактори с най-голямо значение са възрастта, наличието на хипертония с давност повече от 10 години, по-високото диастолно налягане, лош липиден статус и затлъстяване (BMI > 20), наличие на заболяването в едното око.

2. Клиничко-специфичните рискови фактори, отговорни за прогресията на МДСВ са:

- Големина на друзите (над 350 μ)
- Наличие на хиперпигментни фокуси на ниво РПЕ
- Изразена хиперавтофлуоресценция около атрофичните лезии
- Типът и големината на неоваскуларната мембрана (мембрана – окултен тип CNV 2 с големина над 3 mm).
- Отлепване на РПЕ (друзевидно, серозно)
- OCT-A биомаркери (субклинична неоваскуларна мембрана, груби по калибър неосъдове тип ветрило, съдови анастомози).

3. Морфологичните изследвания показваха, че съществува морфологична разлика между твърдите и меките друзи. Именно различният морфологичен строеж определя по-високата реактивност и имуногенност на меките друзи, обуславяща прогресията на МДСВ и активирането на имунни реакции в организма. Морфологичните изследвания показват близостта на процесите при влажна форма на МДСВ с репаративните процеси при зарастващи рани и доказват значението както на елементите на фиброзообразуване, така и на възпалителните клетки.

4. Рисковите фактори, свързани с прогресия на атипичните форми на МДСВ-РАП и ПХВ, са по-различни от тези за стандартните форми. Те включват:

- Наличие на основен хранещ съд
- Наличие на ретинно-хориоидални анастомози

- Отлепване на РПЕ
- Намалена дебелина на хориоидеята – изтънявания на хориоидеята.
- При ПХВ от особено значение е прекаран централен серозен хориоретинит и повишени нива на С-реактивен протеин в кръвта.

5. Резултатите от терапията на пациентите с МДСВ показват, че Avastin и Lucentis имат сходен ефект по отношение на ЗО и ретинна дебелина. Avastin е по-ефективен при пациенти с изразена хеморагична активност.

Eylea, от друга страна, дава по-добри резултати по отношение на ЗО и е препарат на избор при отлепвания на РПЕ. Използването на схемата ТАЕ дава добър резултат, намалява се броят на апликациите, без да се допуска рестарт на заболяването.

6. Основното, което трябва да ни води при лечението на МДСВ, е разбирането, че продължителността на VEGF супресията не е константна величина, а зависи от избрания препарат и индивидуалните особености на конкретния пациент.

Индивидуализираният подход на лечение на МДСВ премахва нуждата от проследяващи визити, не позволява рестарт на заболяването и задържа за по-дълго време постигнатите добри резултати.

7. Атипичните форми на МДСВ представляват сериозно терапевтично предизвикателство. Лечението на РАП е трудно и налага избор на конкретни препарати (ranibizumab, aflibercept), по-често инжектиране и винаги е свързано с повишен риск от сериозни усложнения като разкъсване на РПЕ. При ПХВ за момента комбинираното лечение ФДТ и анти-VEGF дава положителен резултат.

ГЛАВА VII. ПРИНОСИ НА ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

1. За първи път в България се прави изследване на общите и клиничните рискови и прогностични фактори за развитие на МДСВ.

Представени са в обобщен вид клиничните рискови фактори и тяхното значение за прогресията на МДСВ като големина на друзите (над 350 μ), изразена хиперавтофлуоресценция около атрофичните лезии, типа и големината на неоваскуларната мембрана, отлепване на РПЕ.

2. За първи път в България е показано значението на автофлуоресценцията при оценка на състоянието и вероятността от прогресия на сухата форма на МДСВ. Предложена е система за оценка на риска от прогресия в зависимост от вида на автофлуоресценцията в граничната зона.

3. Задълбочено е изследвано значението на различните диагностични методи при диагностика на пациенти със суха и влажна форма на МДСВ и са предложени работни протоколи, улесняващи прегледа и оценката на риска от прогресия при тези пациенти.

4. Направено е подробно ултраструктурно и морфологично изследване на друзите и субретинните неоваскуларни мембрани, като детайлно са описани особеностите на тези структури и промените в тях под въздействие на анти-VEGF медикаментите, което е с приносен характер за изясняване на патогенезата на заболяването.

5. За първи път в България се изследва детайлно ефектът на различните анти-VEGF препарати върху пациенти с МДСВ. Прави се обобщение за ефективността на всеки един от тях, както и сравнителен анализ на резултатите. Дадени са препоръки за промяна в терапията при различните клинични случаи.

6. За първи път се проучват основно атипичните клинични форми на МДСВ и се обсъждат клиничните особености и се предлагат комбинирани схеми за лечение на тези състояния.

7. Широко се дискутират евентуалните усложнения на anti-VEGF терапията и методите за тяхната профилактика.

ГЛАВА VIII. КНИГОПИС

1. Баналиева С, Христова Р, Буков А. Последствия и късни усложнения след травма на очната ябълка. Очен травматизъм. Под ред. на Буков А. Мед и физк, София, 1986.
2. Василев И. Диагностика и терапия на очните болести. Мед. и физк, София, 1974.
3. Видинова Х. Особени форми на МДСВ-ретинални ангиоматозни пролиферации, полипоидна хориоидална васкулопатия. Български офталмологичен преглед, 2015, брой 4, 37-42.
4. Видинова Х. Макулна дегенерация, свързана с възрастта, диагностика и терапия. Български офталмологичен преглед, 2013, брой 1, 62-70.
5. Видинова Х. Особени форми на МДСВ – ретинални ангиоматозни пролиферации, полипоидна хориоидална васкулопатия. Български офталмологичен преглед, 2015, брой 4, 37-42.
6. Видинова Х, Войнов Л. Проследяване прогресията на МДСВ чрез ОСТ и оценка на автофлуоресценцията. XV годишна среща на Съюза на очните лекари в България. 17-20 май, 2012, Пловдив, България.
7. Видинова Х, Гугучкова-Янчулева П. ОСТ-Rtvue при диагностиката и терапията на различни форми на макулната дегенерация, свързана с възрастта (МДСВ). Български офталмологичен преглед, 2008, брой 3, 26-31.
8. Видинова Х, Гугучкова-Янчулева П. Макулна дегенерация, свързана с възрастта – атипични форми. Ангиофлуорографски и ОСТ характеристики. Български офталмологичен преглед, 2009, брой 4, 16-18.
9. Видинова Х, Гугучкова-Янчулева П, Войнов Л. Нови възможности на ОСТ-Rtvue при диагностиката и терапията на различните форми на макулна терапия свързана с възрастта. Български офталмологичен преглед, 2010, брой 2, 14-21.
10. Видинова Х, Войнов Л. Методи за диагностика на пациенти с макулна дегенерация, свързана с възрастта и диабетен макулен едем. Военна медицина, 2010, брой 4, 19-21.
11. Видинова Х, Войнов Л. Клиничен случай на полипоидна хориоидална васкулопатия – атипичен вариант на макулната дегенерация, свързана с възрастта. Военна медицина, 2010, брой 3, 44-48.
12. Войнов Л. Диагностични възможности на характеристиките на субретинната течност при идиопатично отлепване на ретината. Дисерт., 2002.
13. Гугучкова П, Видинова Х. Клинична характеристика на диабетната ретинопатия. Български офталмологичен преглед, 2015, брой 2, 37-40.
14. Гугучкова П, Видинова Хр, Павлова С. Диагностични възможности на оптичната кохерентна томография (ОСТ). Български офталмологичен преглед, брой 2, 2004, 15-22.

15. Гугучкова-Янчулева П, Самсонова Б, Видинова Х. Резултати от първи проучвания от провеждането на анти-VEGF терапия. Български офталмологичен преглед, 2007, брой 3,20-27.
16. Гугучкова П, Видинова Х. Настояще и бъдеще на макулната дегенерация, свързана с възрастта. Български офталмологичен преглед, 2010, брой 1, 5-11.
17. Гугучкова П, Видинова Х. Клинична характеристика на диабетната ретинопатия. Български офталмологичен преглед, 2015, брой 2, 37-40.
18. Георгиев Р, Петкова И, Видинова Х. Електроретинографски промени в слоевете на ретината при Макулна дегенерация свързана с възрастта (МДСВ). Лечение с анти-VEGF. Български офталмологичен преглед, 2012, брой 4, 17-23.
19. Видинова Х. Макулна дегенерация, свързана с възрастта, диагностика и терапия. Български офталмологичен преглед, 2013, брой 1, 62-70.
20. Видинова Х. Оптична кохерентна томография при заболявания на ретината. Български офталмологичен преглед, 2013, брой 3, 30-37.
21. Колева-Георгиева Д, Сивкова Н. Първи резултати от скрининг за макулни увреждания при млади диабетици с тип I захарен диабет. Български офталмологичен преглед 50, брой1, 2006, 25-29.
22. Петкова И. Хирургия на макулата. Сеп-инфома, 2012.
23. Димитров Ц, Видинова Хр, Андреев К. Учебник по „Очни болести“ за студенти от ФЗО и медицинските колежи на медицинските университети. Централна медицинска библиотека, МУ – София, 2018.
24. Видинова Х, Димитров Ц. Професионална офталмология. Учебник по очни болести. И. Петкова, А. Оскар. APCO, 2021.
25. Петкова И, Видинова Х, Дъбов Б, Велева Н, Младенова О. Ретина. Учебник по очни болести, И. Петкова, А. Оскар. APCO, 2021.
26. Vidinova C, Voinov L, Vidinov N. Ultrastrukturelle Veränderungen in der Struktur epiretinaler Membranen bei PVR – Anspruch und Wirklichkeit. Klinische Monatsblätter für Augenheilkunde, 2005; Band 222, 568-571.
27. Vidinova Ch, Vidinov N. Der Einfluss von Avastin auf die Ultrastruktur choroidaler Neovaskularisationsmembranen bei Patienten mit alterbedingter Makuladegeneration. Klinische Monatsblätter für Augenheilkunde. 2009; Band 226, 491-495.
28. Vidinova Ch, Vidinov K. Makrophagen in der Ultrastruktur der PDR und AMD Membranen-Potenzieller Einfluss auf Neoangiogenese? Klinische Monatsblätter für Augenheilkunde. 2012; Band 229, 1204-1208.
29. Vidinova C, Guguchkova P, Vidinov K. Fundusautofluoreszenz bei der trockenen Form der altersbedingten Makuladegeneration – Bedeutung für die Prognose. Klin Monatsbl Augenheilkunde. 2013; 230:1135-1141.

30. Vidinova C, Guguchkova P, Vidinov K. OCT and Fundusautofluorescence in diagnosis of patients with central serous chorioretinopathy. *Der Ophthalmologe*. 2014; Band 111, supp.1, 72-74.
31. Vidinova C, Guguchkova P, Vidinov K. Ganglion-Zellenkomplex-Karte in der Hochdruck und der normale Drucksglaukom-Beziehung zu Alzheimer Krankheit. *Klin Monatsbl Augenheilkunde*. 2015; 230:1135-1141.
32. Klein R, Klein BEK, Linton KLP. Prevalence of age-related maculopathy. The Beaver Dam Eye Study. *Ophthalmology*. 1992; 99:933-43.
33. . Bressler NM, Bressler SB. Preventative ophthalmology. Age-related macular degeneration [review] *Ophthalmology*. 1995; 102:1206-11.
34. Current Population Reports. Population Projections of the United States by Age, Sex, Race, and Hispanic Origin: 1995-2050. United States Bureau of the Census; Washington, DC: 1996. Series P25-1130.
35. Plgrim M, Lengyel I, Lanziiretti. Subretinal pigment epithelial deposition of drusen components including hydroxyapatite in primary cell culture model. *Investigative ophthalmology and visual science*. 2017; 58(2):708-719.
36. The Age-Related Eye Disease Study (AREDS): design implications. AREDS report no. The Age-Related Eye Disease Study Research Group *Control Clin Trials*. 1999; 20:573-600.
37. Paetkau ME, Boyd TAS, Grace M, et al. Senile disciform macular degeneration and smoking. *Can J Ophthalmol*. 1978; 13:67-71.
38. Risk factors for neovascular age-related macular degeneration. The Eye Disease Case-Control Study Group *Arch Ophthalmol*. 1992; 110:1701-8.
39. Hyman LG, Lilienfeld AM, Ferris FLIII, Fine SL. Senile macular degeneration: a case-control study. *Am J Epidemiol*. 1983; 118:213-27.
40. Klein R, Klein BEK, Linton KLP, DeMets DL. The Beaver Dam Eye Study: the relation of age-related maculopathy to smoking. *Am J Epidemiol*. 1993; 137:190-200.
41. Smith W, Mitchell P, Leeder SR. Smoking and age-related maculopathy. The Blue Mountains Eye Study. *Arch Ophthalmol*. 1996; 114:1518-23.
42. Seddon JM, Willett WC, Speizer FE, Hankinson SE. A prospective study of cigarette smoking and age-related macular degeneration in women. *JAMA*. 1996; 276:1141-6.
43. Delcourt C, Diaz JL, Ponton-Sanchez A, Papoz L. Smoking and age-related macular degeneration. The POLA Study. *Pathologies Oculaires Liees a l'Age*. *Arch Ophthalmol*. 1998; 116:1031-5.
44. Vingerling JR, Dielemans I, Bots ML, et al. Age-related macular degeneration is associated with atherosclerosis. The Rotterdam Study. *Am J Epidemiol*. 1995; 142:404-9.
45. Kahn HS, Leibowitz HM, Ganley JP, et al. The Framingham Eye Study: II. Association of ophthalmic pathology with single variables previously measured in the Framingham Heart Study. *Am J Epidemiol*. 1977; 106:33-41.

46. Sperduto RD, Hiller R. Systemic hypertension and age-related maculopathy in the Framingham Study. *Arch Ophthalmol*. 1986; 104:216-9.
47. Cruickshanks KJ, Klein R, Klein BEK. Sunlight and age-related macular degeneration. The Beaver Dam Eye Study. *Arch Ophthalmol*. 1993; 111:514-8.
48. Seddon JM, Ajani UA, Sperduto RD, et al. Dietary carotenoids, vitamins A, C, and E, and advanced age-related macular degeneration. Eye Disease Case-Control Study Group [published erratum appears in JAMA 1995; 273:622] *JAMA*. 1994; 272:1413-20.
49. West S, Vitale S, Hallfrisch J, et al. Are antioxidants or supplements protective for age-related macular degeneration? *Arch Ophthalmol*. 1994; 112:222-7.
50. Goldberg J, Flowerdew G, Smith E, et al. Factors associated with age-related macular degeneration. An analysis of data from the First National Health and Nutrition Examination Survey. *Am J Epidemiol*. 1988; 128:700-10.
51. Sanders TAB, Haines AP, Wormald R, et al. Essential fatty acids, plasma cholesterol, and fat-soluble vitamins in subjects with age-related maculopathy and matched control subjects. *Am J Clin Nutr*. 1993; 57:428-33.
52. Christen WG, Glynn RJ, Hennekens CH. Antioxidants and age-related eye disease. Current and future perspectives [review] *Ann Epidemiol*. 1996; 6:60-6.
53. McCarty CA, Lee SE, Livingston PM, et al. Ocular exposure to UV-B in sunlight: the Melbourne visual impairment project model. *Bull World Health Organ*. 1996; 74:353-60.
54. Bressler NM, Bressler SB, Fine SL. Age-related macular degeneration [review]. *Surv Ophthalmol*. 1988; 32:375-413.
55. Klein R, Klein BEK, Jensen SC, Meuer SM. The five-year incidence and progression of age-related maculopathy. The Beaver Dam Eye Study. *Ophthalmology*. 1997; 104:7-21.
56. Bressler NM, Munoz B, Maguire MG, et al. Five-year incidence and disappearance of drusen and retinal pigment epithelial abnormalities. Waterman Study. *Arch Ophthalmol*. 1995; 113:301-8.
57. Stryker WS, Kaplan LA, Stein EA, et al. The relation of diet, cigarette smoking, and alcohol consumption to plasma beta-carotene and alpha-tocopherol levels. *Am J Epidemiol*. 1988; 127:283-96.
58. Hammond BR Jr, Wooten BR, Snodderly DM. Cigarette smoking and retinal carotenoids: implications for age-related macular degeneration. *Vision Res*. 1996; 18:3003-9.
59. Blumenkranz MS, Russell SR, Robey MG, et al. Risk factors in age-related maculopathy complicated by choroidal neovascularization. *Ophthalmology*. 1986; 93:552-8.
60. Hirvelä H, Luukinen H, Laääääää E, et al. Risk factors of age-related maculopathy in a population 70 years of age or older. *Ophthalmology*. 1996; 103:871-7.
61. Wang JJ, Mitchell P, Smith W. Refractive error and age-related maculopathy: the Blue Mountains Eye Study. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1998; 39:2167-71.

62. Gibson JM, Shaw DE, Rosenthal AR. Senile cataract and senile macular degeneration: an investigation into possible risk factors. *Trans Ophthalmol Soc UK*. 1986; 105:463-8.
63. Klein R, Klein BEK, Jensen SC, et al. Age-related maculopathy in a multiracial United States population. The National Health and Nutrition Examination Survey III. *Ophthalmology*. 1999; 106:1056-65.
64. Friedman DS, Katz J, Bressler NM, et al. Racial differences in the prevalence of age-related macular degeneration. The Baltimore Eye Survey. *Ophthalmology*. 1999; 106:1049-55.
65. Gregor Z, Joffe L. Senile macular changes in the black African. *Br J Ophthalmol*. 1978; 72:547-50.
66. Schachat AP, Hyman L, Leske MC, et al. Features of age-related macular degeneration in a black population. The Barbados Eye Study Group. *Arch Ophthalmol*. 1995; 113:728-35.
67. Schlanitz, F, Sacu, S. Identification of drusen characteristics in age related Macular degeneration by Polarized sensitive OCT. *Am J of Ophth*. 358(2), DOI 2015.03.001.
68. Starks SH, Arnold JJ. Early drusen formation in normal and aging eye- clinicopathological study. *British J Ophth*. 1999; 83(3):358-68.
69. Bressler NM, Bressler SB, West SK, et al. The grading and prevalence of macular degeneration in Chesapeake Bay watermen. *Arch Ophthalmol*. 1989; 107:847-52.
70. Klein R, Klein BEK, Linton KLP. Prevalence of age-related maculopathy: the Beaver Dam Eye Study. *Ophthalmology*. 1992; 99:933-43.
71. Vinderling JR, Dielemans I, Hofman A, et al. The prevalence of age-related maculopathy in the Rotterdam study. *Ophthalmology*. 1995; 102:205-10.
72. Mitchell P, Smith W, Attebo K, et al. Prevalence of age-related maculopathy in Australia. The Blue Mountains Eye Study. *Ophthalmology*. 1995; 102:1450-60.
73. Sarks SH. Ageing and degeneration in the macular region: a clinicopathological study. *Br J Ophthalmol*. 1976; 60:324-41.
74. Sarks JP, Sarks SH, Killingsworth MC. Evolution of geographic atrophy of the retinal pigment epithelium. *Eye*. 1988; 2:552-77.
75. Green WR, Enger C. Age-related macular degeneration histopathologic studies; *Ophthalmology*. 1993; 100:1519-35.
76. Sarks SH. Drusen and their relationship to senile macular degeneration. *Aust J Ophthalmol*. 1980; 8:117-30.
77. Sarks JP, Sarks SH, Killingsworth MC. Evolution of soft drusen in age-related macular degeneration. *Eye*. 1994; 8:269-283.
78. Loeffler KU, Lee WR. Basal linear deposit in the human macula. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 1986; 92:493-501.
79. International ARM Epidemiological Study Group. An international classification and grading system for age related maculopathy and age-related macular degeneration. *Surv Ophthalmol*. 1995; 39:367-74.

80. Burns RP, Feeney-Burns L. Clinico-morphologic correlations of drusen of Bruch's membrane. *Trans Am Ophthalmol Soc.* 1980; 78:206-25.
81. Gass JDM, Jallow S, Davis B. Adult vitelliform macular detachment occurring in patients with basal laminar drusen. *Am J Ophthalmol.* 1985; 99:445-59.
82. El Baba F, Green WR, Fleischmann J, et al. Clinicopathologic correlation of lipidization and detachment of the retinal pigment epithelium. *Am J Ophthalmol.* 1986; 101:576-83.
83. Curcio CA, Millican CI. Basal deposits in Bruch's membrane: distribution in aging and age-related maculopathy (ARM). *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1988; 39:S882.
84. Klein R, Klein BEK, Jensen SC, et al. The five-year incidence and progression of age-related maculopathy. *Ophthalmology.* 1997; 104:7-21.
85. Spraul CW, Grossniklaus HE. Characteristics of drusen and Bruch's membrane in postmortem eyes with age-related macular degeneration. *Arch Ophthalmol.* 1997; 115: 267-73.

86. Kuehlewein L, Sadda SR, Sarraf D. OCT angiography and sequential quantitative analysis of type 2 neovascularization after ranibizumab therapy. *Eye (Lond).* 2015; 29:932-935.
87. Kuehlewein L, Dansingani KK, de Carlo TE, et al. Optical coherence tomography angiography of type 3 neovascularization secondary to age-related macular degeneration. *Retina.* 2015; 35:2229-2235.
88. Miere A, Semoun O, Cohen SY, et al. Optical coherence tomography angiography features of subretinal fibrosis in age-related macular degeneration. *Retina.* 2015; 35:2275-2284.
89. Boltz A, Luksch A, Wimpissinger B, et al. Choroidal blood flow and progression of age-related macular degeneration in the fellow eye in patients with unilateral choroidal neovascularization. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2010; 51:4220-4225.
90. Bhutto IA, Uno K, Merges C, Zhang L, McLeod DS, Luttly GA. Reduction of endogenous angiogenesis inhibitors in Bruch's membrane of the submacular region in eyes with age-related macular degeneration. *Arch Ophthalmol.* 2018; 126:670-678.
91. Kuehlewein L, Bansal M, Lenis TL, et al. Optical coherence tomography angiography of type 1 neovascularization in age-related macular degeneration. *Am J Ophthalmol.* 2015; 160:739.e2-748.e2.
92. El Ameen A, Cohen SY, Semoun O, et al. Type 2 neovascularization secondary to age-related macular degeneration imaged by optical coherence tomography angiography. *Retina.* 2015; 35:2212-2218.
93. Miere A, Querques G, Semoun O, El Ameen A, Capuano V, Souied EH. Optical coherence tomography angiography in early type 3 neovascularization. *Retina.* 2015; 35:2236-2241.
94. Novais EA, Adhi M, Moulton EM, et al. Choroidal neovascularization analyzed on ultrahigh-speed swept-source optical coherence tomography angiography compared to spectral-domain optical coherence tomography angiography. *Am J Ophthalmol.* 2016; 164:80-88.

95. Yannuzzi LA, Sorenson J, Spaide RF, Lipson B. Idiopathic polypoidal choroidal vasculopathy (IPCV). *Retina*. 1990; 10:1-8.
96. Laude A, Cackett PD, Vithana EN, et al. Polypoidal choroidal vasculopathy and neovascular age-related macular degeneration: same or different disease? *Prog Retin Eye Res*. 2010; 29:19-29.
97. Spaide RF, Yannuzzi LA, Slakter JS, Sorenson J, Orlich DA. Indocyanine green videoangiography of idiopathic polypoidal choroidal vasculopathy. *Retina*. 1995; 15:100-110.
98. Yannuzzi LA, Freund KB, Goldbaum M, et al. Polypoidal choroidal vasculopathy masquerading as central serous chorioretinopathy. *Ophthalmology*. 2000; 107:767-777.
99. Iijima H, Imai M, Gohdo T, Tsukahara S. Optical coherence tomography of idiopathic polypoidal choroidal vasculopathy. *Am J Ophthalmol*. 1999; 127:301-305.
100. Sato T, Kishi S, Watanabe G, Matsumoto H, Mukai R. Tomographic features of branching vascular networks in polypoidal choroidal vasculopathy. *Retina*. 2007; 27:589-594.
101. De Salvo G, Vaz-Pereira S, Keane PA, Tufail A, Liew G. Sensitivity and specificity of spectral-domain optical coherence tomography in detecting idiopathic polypoidal choroidal vasculopathy. *Am J Ophthalmol*. 2014; 158:1228-1238 e1221.
102. Yamagishi T, Koizumi H, Yamazaki T, Kinoshita S. Fundus autofluorescence in polypoidal choroidal vasculopathy. *Ophthalmology*. 2012; 119:1650-1657.
103. Gomi F, Ohji M, Sayanagi K, et al. One-year outcomes of photodynamic therapy in age-related macular degeneration and polypoidal choroidal vasculopathy in Japanese patients. *Ophthalmology*. 2008; 115:141-146.
104. Hiramami Y, Tsujikawa A, Otani A, et al. Hemorrhagic complications after photodynamic therapy for polypoidal choroidal vasculopathy. *Retina*. 2007; 27:335-341.
105. Gomi F, Sawa M, Sakaguchi H, et al. Efficacy of intravitreal bevacizumab for polypoidal choroidal vasculopathy. *Br J Ophthalmol*. 2008; 92:70-73.
106. Hikichi T, Higuchi M, Matsushita T, et al. One-year results of three monthly ranibizumab injections and as-needed reinjections for polypoidal choroidal vasculopathy in Japanese patients. *Am J Ophthalmol*. 2012; 154:117-124 e111.
107. Koh A, Lee WK, Chen LJ, et al. EVEREST study: efficacy and safety of verteporfin photodynamic therapy in combination with ranibizumab or alone versus ranibizumab monotherapy in patients with symptomatic macular polypoidal choroidal vasculopathy. *Retina*. 2012; 32:1453-1464.
108. Oishi A, Kojima H, Mandai M, et al. Comparison of the effect of ranibizumab and verteporfin for polypoidal choroidal vasculopathy: 12-month LAPTOP study results. *Am J Ophthalmol*. 2013; 156:644-651.
109. Koizumi H, Yamagishi T, Yamazaki T, Kinoshita S. Predictive factors of resolved retinal fluid after intravitreal ranibizumab for polypoidal choroidal vasculopathy. *Br J Ophthalmol*. 2011; 95:1555-1559.

110. Koizumi H, Yamagishi T, Yamazaki T, Kinoshita S. Relationship between clinical characteristics of polypoidal choroidal vasculopathy and choroidal vascular hyperpermeability. *Am J Ophthalmol*. 2013; 155:305-313 e301.
111. Ijiri S, Sugiyama K. Short-term efficacy of intravitreal aflibercept for patients with treatment-naive polypoidal choroidal vasculopathy. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2015; 253:351-357.
112. Inoue M, Arakawa A, Yamane S, Kadonosono K. Short-term efficacy of intravitreal aflibercept in treatment-naive patients with polypoidal choroidal vasculopathy. *Retina*. 2014; 34:2178-2184.
113. Oishi A, Tsujikawa A, Yamashiro K, et al. One year result of aflibercept treatment on age-related macular degeneration and predictive factors for visual outcome. *Am J Ophthalmol*. 2015 Jan 26. [Epub ahead of print]
114. Kokame GT, Yeung L, Lai JC. Continuous anti-VEGF treatment with ranibizumab for polypoidal choroidal vasculopathy: 6-month results. *Br J Ophthalmol*. 2010; 94:297-301.
115. Spaide RF, Koizumi H, Pozzoni MC. Enhanced depth imaging spectral-domain optical coherence tomography. *Am J Ophthalmol*. 2008; 146:496-500.
116. Hata M, Oishi A, Tsujikawa A, et al. Efficacy of intravitreal injection of aflibercept in neovascular age-related macular degeneration with or without choroidal vascular hyperpermeability. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2014; 55:7874-7880.
117. Koizumi H, Kano M, Yamamoto A, et al. Short-term changes in choroidal thickness after aflibercept therapy for neovascular age-related macular degeneration. *Am J Ophthalmol*. 2014 Dec 30. [Epub ahead of print]
118. Yamazaki T, Koizumi H, Yamagishi T, Kinoshita S. Subfoveal choroidal thickness after ranibizumab therapy for neovascular age-related macular degeneration: 12-month results. *Ophthalmology*. 2012; 119:1621-1627.
119. Kumar N, Marsiglia M, Mrejen S, et al. Visual and anatomical outcomes of intravitreal aflibercept in eyes with persistent subfoveal fluid despite previous treatments with ranibizumab in patients with neovascular age-related macular degeneration. *Retina*. 2013; 33:1605-1612.
120. Ho VY, Yeh S, Olsen TW, et al. Short-term outcomes of aflibercept for neovascular age-related macular degeneration in eyes previously treated with other vascular endothelial growth factor inhibitors. *Am J Ophthalmol*. 2013; 156:23-28 e22.
121. Bakall B, Folk JC, Boldt HC, et al. Aflibercept therapy for exudative age-related macular degeneration resistant to bevacizumab and ranibizumab. *Am J Ophthalmol*. 2013; 156:15-22 e11.
122. Cho H, Shah CP, Weber M, Heier JS. Aflibercept for exudative AMD with persistent fluid on ranibizumab and/or bevacizumab. *Br J Ophthalmol*. 2013; 97:1032-1035.

123. Miura M, Iwasaki T, Goto H. Intravitreal aflibercept for polypoidal choroidal vasculopathy after developing ranibizumab tachyphylaxis. *Clin Ophthalmol.* 2013; 7:1591-1595.
124. Yonekawa Y. Aflibercept for the treatment of refractory polypoidal choroidal vasculopathy. *Can J Ophthalmol.* 2013; 48:e59-60.
125. Cheung CM, Mohla A, Wong TY. Resolution of persistent pigment epithelial detachment secondary to polypoidal choroidal vasculopathy in response to Aflibercept. *Eye (Lond).* 2014; 28:1148-1149.
126. Kawashima Y, Oishi A, Tsujikawa A, et al. Effects of aflibercept for ranibizumab-resistant neovascular age-related macular degeneration and polypoidal choroidal vasculopathy. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2014 Nov 13. [Epub ahead of print]
127. Saito M, Kano M, Itagaki K, Oguchi Y, Sekiryu T. Switching to intravitreal aflibercept injection for polypoidal choroidal vasculopathy refractory to ranibizumab. *Retina.* 2014; 34:2192-2201.
128. Yamashita M, Nishi T, Hasegawa T, Ogata N. Response of serous retinal pigment epithelial detachments to intravitreal aflibercept in polypoidal choroidal vasculopathy refractory to ranibizumab. *Clin Ophthalmol.* 2014; 8:343-346.
129. Yannuzzi LA, Negrao S, Iida T, et al. Retinal angiomatous proliferation in age-related macular degeneration. *Retina.* 2001; 21:416-434.
130. Freund KB, Ho IV, Barbazetto IA, et al. Type 3 neovascularization: the expanded spectrum of retinal angiomatous proliferation. *Retina.* 2008; 28:201-211.
131. Ueda-Arakawa N, Ooto S, Nakata I, et al. Prevalence and genomic association of reticular pseudodrusen in age-related macular degeneration. *Am J Ophthalmol.* 2013; 155:260-269 e262.
132. Cohen SY, Creuzot-Garcher C, Darmon J, et al. Types of choroidal neovascularisation in newly diagnosed exudative age-related macular degeneration. *Br J Ophthalmol.* 2017; 91:1173-1176.
133. Maruko I, Iida T, Saito M, Nagayama D, Saito K. Clinical characteristics of exudative age-related macular degeneration in Japanese patients. *Am J Ophthalmol.* 2007; 144:15-22.
134. Yamazaki T, Koizumi H, Yamagishi T, Kinoshita S. Subfoveal choroidal thickness in retinal angiomatous proliferation. *Retina.* 2014; 34:1316-1322.
135. Koizumi H, Iida T, Saito M, Nagayama D, Maruko I. Choroidal circulatory disturbances associated with retinal angiomatous proliferation on indocyanine green angiography. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2008; 246:515-520.
136. Engelbert M, Zweifel SA, Freund KB. "Treat and extend" dosing of intravitreal antivascular endothelial growth factor therapy for type 3 neovascularization/retinal angiomatous proliferation. *Retina.* 2009; 29:1424-1431.
137. Atmani K, Voigt M, Le Tien V, et al. Ranibizumab for retinal angiomatous proliferation in age-related macular degeneration. *Eye (Lond).* 2010; 24:1193-1198.

138. Gharbiya M, Parisi F, Cruciani F, Bozzoni-Pantaleoni F, Pranno F, Abdolrahimzadeh S. Intravitreal anti-vascular endothelial growth factor for retinal angiomatous proliferation in treatment-naïve eyes: long-term functional and anatomical results using a modified PrONTO-style regimen. *Retina*. 2014; 34:298-305.
139. Gharbiya M, Allievi F, Recupero V, Martini D, Mazzeo L, Gabrieli CB. Intravitreal bevacizumab as primary treatment for retinal angiomatous proliferation: twelve-month results. *Retina*. 2009; 29:740-749.
140. Inoue M, Arakawa A, Yamane S, Kadonosono K. Long-term results of intravitreal ranibizumab for the treatment of retinal angiomatous proliferation and utility of an advanced RPE analysis performed using spectral-domain optical coherence tomography. *Br J Ophthalmol*. 2014; 98:956-960.
141. Fung AE, Lalwani GA, Rosenfeld PJ, et al. An optical coherence tomography-guided, variable dosing regimen with intravitreal ranibizumab (Lucentis) for neovascular age-related macular degeneration. *Am J Ophthalmol*. 2007; 143:566-583.
142. Lalwani GA, Rosenfeld PJ, Fung AE, et al. A variable-dosing regimen with intravitreal ranibizumab for neovascular age-related macular degeneration: year 2 of the PrONTO Study. *Am J Ophthalmol*. 2019; 148:43-58 e41.
143. Rouvas AA, Chatziralli IP, Theodossiadis PG, Moschos MM, Kotsolis AI, Ladas ID. Long-term results of intravitreal ranibizumab, intravitreal ranibizumab with photodynamic therapy, and intravitreal triamcinolone with photodynamic therapy for the treatment of retinal angiomatous proliferation. *Retina*. 2012; 32:1181-1189.
144. Cunningham ET Jr, Feiner L, Chung C, Tuomi L, Ehrlich JS. Incidence of retinal pigment epithelial tears after intravitreal ranibizumab injection for neovascular age-related macular degeneration. *Ophthalmology*. 2011; 118:2447-2452.
145. Intorini U, Torres Gimeno A, Scotti F, Setaccioli M, Giatsidis S, Bandello F. Vascularized retinal pigment epithelial detachment in age-related macular degeneration: treatment and RPE tear incidence. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2012; 250:1283-1292.
146. Mendis R, Lois N. Fundus autofluorescence in patients with retinal pigment epithelial (RPE) tears: an in-vivo evaluation of RPE resurfacing. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2014; 252:1059-1063.
147. Gross NE, Aizman A, Brucker A, Klancnik JM Jr, Yannuzzi LA. Nature and risk of neovascularization in the fellow eye of patients with unilateral retinal angiomatous proliferation. *Retina*. 2015; 25:713-718.
148. Campa C, Harding SP, Pearce IA, Beare NA, Briggs MC, Heimann H. Incidence of neovascularization in the fellow eye of patients with unilateral retinal angiomatous proliferation. *Eye (Lond)*. 2010; 24:1585-1589.
149. Matsumoto H, Sato T, Kishi S. Tomographic features of intraretinal neovascularization in retinal angiomatous proliferation. *Retina*. 2010; 30:425-430.

150. Uhlmann RF, Larson EB, Koepsell TD, Rees TS, Duckert LG. Visual impairment and cognitive dysfunction in Alzheimer's disease. *J Gen Intern Med.* 1991; 6(2):126-32.
151. Berman K, Brodaty H. Psychosocial effects of age-related macular degeneration. *Int Psychogeriatr.* 2006:1-14.
152. Taylor H, Guymer R, Keeffe J. The Impact of Age-Related Macular Degeneration. In: Limited AEP, editor. Melbourne: University of Melbourne; 2006. p. 1-72.
153. Ferris FL, Davis MD, Clemons TE, Lee LY, Chew EY, Lindblad AS. et al. A simplified severity scale for age-related macular degeneration: AREDS Report No. 18. *Arch Ophthalmol.* 2015; 123(11):1570-4.
154. Wray S, Kuwabara T, Sanderson P. Menkes' kinky hair disease: a light and electron microscopic study of the eye. *Investigative Ophthalmology.* 1976; 15:128-38.
155. Abugreen S, Muldrew KA, Stevenson MR, VanLeeuwen R, DeJong PT, Chakravarthy U. CNV subtype in first eyes predicts severity of ARM in fellow eyes. *Br J Ophthalmol.* 2003; 87(3):307-11. [PubMed]
156. Clemons TE, Milton RC, Klein R, Seddon JM, Ferris FL. Risk factors for the incidence of Advanced Age-Related Macular Degeneration in the Age-Related Eye Disease Study (AREDS) AREDS report no. 19. *Ophthalmology.* 2005; 112(4):533-9.
157. Thornton J, Edwards R, Mitchell P, Harrison RA, Buchan I, Kelly SP. Smoking and age-related macular degeneration: a review of association. *Eye.* 2005; 19(9):935-44.
158. A randomized, placebo-controlled, clinical trial of high-dose supplementation with vitamins C and E, beta carotene, and zinc for age-related macular degeneration and vision loss: AREDS report no. 8. *Arch Ophthalmol.* 2011; 119(10):1417-36.
159. Choroidal neovascularization in the Choroidal Neovascularization Prevention Trial. The Choroidal Neovascularization Prevention Trial Research group. *Ophthalmology.* 1999; 105(8):1364-72.
160. The Complications of Age-Related Macular Degeneration Prevention Trial (CAPT): rationale, design and methodology. *Clin Trials.* 2004; 1(1):91-107.
161. Friberg TR, Musch DC, Lim JI, Morse L, Freeman W, Sinclair S. Prophylactic treatment of age-related macular degeneration report number 1: 810-nanometer laser to eyes with drusen. Unilaterally eligible patients. *Ophthalmology.* 2006 Apr; 113(4):622 e1.
162. Prenner JL, Rosenblatt BJ, Tolentino MJ, Ying GS, Javornik NB, Maguire MG. et al. Risk factors for choroidal neovascularization and vision loss in the fellow eye study of CNVPT. *Retina.* 2013; 23(3):307-14.
163. Friberg T. The Prophylactic Treatment of AMD Multi-Centered Trial (PTAMD): Results From the Bilateral Study Arm. 2006.
164. Argon laser photocoagulation for neovascular maculopathy. Three-year results from randomized clinical trials. Macular Photocoagulation Study Group. *Arch Ophthalmol.* 1986; 104(5):694-701.

165. Krypton laser photocoagulation for neovascular lesions of age-related macular degeneration. Results of a randomized clinical trial. Macular Photocoagulation Study Group. Arch Ophthalmol. 1990; 108(6):816-24.
166. Laser photocoagulation of subfoveal neovascular lesions in age-related macular degeneration. Results of a randomized clinical trial. Macular Photocoagulation Study Group. Arch Ophthalmol. 1991; 109(9):1220-31.
167. Han DP, Folk JC, Bratton AR. Visual loss after successful photocoagulation of choroidal neovascularization. Ophthalmology. 1988; 95(10):1380-4.
168. Freund KB, Yannuzzi LA, Sorenson JA. Age-related macular degeneration and choroidal neovascularization. Am J Ophthalmol. 1993; 115(6):786-91
169. Bressler NM, Bressler SB, Childs AL, Haller JA, Hawkins BS, Lewis H. et al. Surgery for hemorrhagic choroidal neovascular lesions of age-related macular degeneration: ophthalmic findings: SST report no. 13. Ophthalmology. 2004; 111(11):1993-2006.
170. Hawkins BS, Bressler NM, Miskala PH, Bressler SB, Holekamp NM, Marsh MJ. et al. Surgery for subfoveal choroidal neovascularization in age-related macular degeneration: ophthalmic findings: SST report no. 11. Ophthalmology. 2014; 111(11):1967-80.
171. Machemer R, Steinhorst UH. Retinal separation, retinotomy, and macular relocation: II. A surgical approach for age-related macular degeneration? Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. 1993; 231(11):635-41.
172. de Juan E Jr, Loewenstein A, Bressler NM, Alexander J. Translocation of the retina for management of subfoveal choroidal neovascularization II: a preliminary report in humans. Am J Ophthalmol. 1998; 125(5):635-46.
173. Photodynamic therapy of subfoveal choroidal neovascularization in age-related macular degeneration with verteporfin: one-year results of 2 randomized clinical trials-TAP report. Treatment of age-related macular degeneration with photodynamic therapy (TAP) Study Group. Arch Ophthalmol. 1999; 117(10):1329-45.
174. Schmidt-Erfurth U, Hasan T. Mechanisms of action of photodynamic therapy with verteporfin for the treatment of age-related macular degeneration. Surv Ophthalmol. 2000; 45(3):195-214.
175. Verteporfin therapy of subfoveal choroidal neovascularization in age-related macular degeneration: two-year results of a randomized clinical trial including lesions with occult with no classic choroidal neovascularization-verteporfin in photodynamic therapy report 2. Am J Ophthalmol. 2001; 131(5):541-60.
176. Bressler NM, Arnold J, Benchaboune M, Blumenkranz MS, Fish GE, Gragoudas ES. et al. Verteporfin therapy of subfoveal choroidal neovascularization in patients with age-related macular degeneration: additional information regarding baseline lesion composition's impact on vision outcomes-TAP report No. 3. Arch Ophthalmol. 2002; 120(11):1443-54.

177. Stevenson MR, Hart PM, Chakravarthy U, Mackenzie G, Bird AC, Owens SL. et al. Visual functioning and quality of life in the SubFoveal Radiotherapy Study (SFRADS): SFRADS report 2. *Br J Ophthalmol.* 2015; 89(8):1045-51.
178. Goverdhan SV, Gibbs FA, Lotery AJ. Radiotherapy for age-related macular degeneration: no more pilot studies please. *Eye.* 2005; 19(11):1137-41.
179. Marcus DM, Peskin E, Maguire M, Weissgold D, Alexander J, Fine S. et al. The age-related macular degeneration radiotherapy trial (AMDRT): one year results from a pilot study. *Am J Ophthalmol.* 2004; 138(5):818-28.
180. Gragoudas ES, Adamis AP, Cunningham ET, Feinsod M, Guyer DR. Pegaptanib for neovascular age-related macular degeneration. *N Engl J Med.*2014; 351(27):2805-16.
181. Heir J, Shapiro H, Singh A. Randomized, Controlled Phase III Study of Ranibizumab (Lucentis) for Minimally Classic or Occult Neovascular Age-Related Macular Degeneration: Two-Year Efficacy Results of the MARINA Study. 2006.
182. Rosenfeld PJ, Moshfeghi AA, Puliafito CA. Optical coherence tomography findings after an intravitreal injection of bevacizumab (avastin) for neovascular age-related macular degeneration. *Ophthalmic Surg Lasers Imaging.* 2005; 36(4):331-5.
183. Avery RL, Pieramici DJ, Rabena MD, Castellarin AA, Nasir MA, Giust MJ. Intravitreal bevacizumab (Avastin) for neovascular age-related macular degeneration. *Ophthalmology.* 2016 Mar; 113(3):363-72 e5.
184. D'Amico DJ, Goldberg MF, Hudson H, Jerdan JA, Krueger DS, Luna SP, et al. Anecortave acetate as monotherapy for treatment of subfoveal neovascularization in age-related macular degeneration: twelve-month clinical outcomes. *Ophthalmology.* 2003 Dec; 110(12):2372-83; discussin 84-5.
185. Spaide RF, Sorenson J, Maranan L. Photodynamic therapy with verteporfin combined with intravitreal injection of triamcinolone acetonide for choroidal neovascularization. *Ophthalmology.* 2005; 112(2):301-4.
186. Quiram PA, Gonzales CR, Schwartz SD. Severe steroid-induced glaucoma following intravitreal injection of triamcinolone acetonide. *Am J Ophthalmol.* 2006; 141(3):580-2.
187. Jonas JB, Kreissig I, Spandau UH, Harder B. Infectious and noninfectious endophthalmitis after intravitreal high-dosage triamcinolone acetonide. *Am J Ophthalmol.* 2006; 141(3):579-80.
188. Guymer RH, Chiu AW, Lim L, Baird PN. HMG CoA reductase inhibitors (statins): do they have a role in age-related macular degeneration? *Surv Ophthalmol.* 2005; 50(2):194-206.
189. Sarks S, Arnold J, Killingsworth M, Sarks J. Early drusen formation in the normal and aging eye and their relation to age-related maculopathy: a clinicopathological study. *British Journal of Ophthalmology.* 1999; 83:358-68.
190. McConnell V, Silvestri G. Age-related macular degeneration. *Ulster Med J.* 2005; 74(2):82-92.

191. Provis JM, Penfold PL, Cornish EE, Sandercoe TM, Madigan MC. Anatomy and development of the macula: specialisation and the vulnerability to macular degeneration. *Clin Exp Optom.* 2005; 88(5):269-81.
192. Donoso LA, Kim D, Frost A, Callahan A, Hageman G. The role of inflammation in the pathogenesis of age-related macular degeneration. *Surv Ophthalmol.* 2006; 51(2):137-52.
193. Arnold J, Sarks S. Age related macular degeneration. *Clin Evid.* 2004; (11):819-34.
194. Hageman G, Mullins R. Molecular composition of drusen as related to substructural phenotype. *Molecular Vision.* 1999; 5:28.
195. Klein R, Klein B, Jensen S, Meuer S. The five-year incidence and progression of age-related maculopathy: the Beaver Dam Eye Study. *Ophthalmology.* 1997; 104:7-21.
196. Spraul C, Grossniklaus H. Characteristics of drusen and Bruch's membrane in postmortem eyes with age-related macular degeneration. *Archives of Ophthalmology.* 1997; 115:267-73.
197. Sarks JP, Sarks SH, Killingsworth MC. Evolution of soft drusen in age-related macular degeneration. *Eye.* 1994; 8(Pt 3)(3):269-83.
198. Guymer R, Bird A. Bruch's membrane, drusen, and age-related macular degeneration. In: Marmor M, Wolfensberger T, editors. *The Retinal Pigment Epithelium.* New York: Oxford University Press; 1998. p. 693-705.
199. Zarbin MA. Current concepts in the pathogenesis of age-related macular degeneration. *Arch Ophthalmol.* 2004; 122(4):598-614.
200. Sivaprasad S, Bailey TA, Chong VN. Bruch's membrane and the vascular intima: is there a common basis for age-related changes and disease? *Clin Experiment Ophthalmol.* 2005; 33(5): 518-23.
201. Marshall J, Hussain A, Starita C, Moore D, Patmore A. *The Retinal Pigment Epithelium.* New York: Oxford University Press; 1998.
202. Guymer R, Luthert P, Bird A. Changes in Bruch's membrane and related structures with age. *Progress in Retinal & Eye Research.* 1999; 18(1):59-90.
203. Hogan M, Alvarado J. Studies on the human macula. Aging changes in Bruch's membrane. *Archives of Ophthalmology.* 1967; 77:410-20.
204. Sarks SH. Ageing and degeneration in the macular region: a clinico-pathological study. *British Journal of Ophthalmology.* 1976; 60(5):324-41.
205. Green WR, McDonnell PJ, Yeo JH. Pathologic features of senile macular degeneration. *Ophthalmology.* 1985; 92(5):615-27.
206. Feeney-Burns L, Ellersieck M. Age-related changes in the ultrastructure of Bruch's membrane. *American Journal of Ophthalmology.* 1985; 100:686-97.
207. Grindle C, Marshall J. Ageing changes in Bruch's membrane and their functional implications. *Trans Ophthalm Soc UK.* 1978; 98:172-5.
208. Pauleikhoff D, Sheridah G, Marshall J, Bird A, Wessing A. Biochemical and histochemical analysis of age related lipid deposits in Bruch's membrane. *Ophthalmology.* 1994; 91(6):730-4.

209. Handa JT, Verzijl N, Matsunaga H, Aotaki-Keen A, Luttj DA, te Koppele JM. et al. Increase in the advanced glycation end product pentosidine in Bruch's membrane with age. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*. 1999; 40(3):775-9.
210. Curcio C, Millican C, Bailey T, Kruth H. Accumulation of cholesterol with age in human Bruch's membrane. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2001; 42:265-74.
211. Kamei M, Hollyfield J. TIMP-3 in Bruch's membrane: changes during aging and in age-related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1999; 40:2367-75.
212. Newsome D, Huh W, Green W. Bruch's membrane age-related changes vary by region. *Current Eye Research*. 1987; 6:1211-21.
213. Ishibashi T, Murata T, Hangai M, Nagai R, Horiuchi S, Lopez P. et al. Advanced glycation end products in age-related macular degeneration. *Arch Ophthalmol*. 1998; 116:1629-32.
214. Hewitt A, Nakazawa K, Newsome D. Analysis of newly synthesized Bruch's membrane proteoglycans. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*. 1989; 30:478-86.
215. Karwatowski W, Jeffries T, Duance V, Albon J, Bailey A, Easty D. Preparation of Bruch's membrane and analysis of the age-related changes in the structural collagens. *Br J Ophthalmol*. 1995; 79(10):944-52.
216. Haimovici R, Gantz DL, Rumelt S, Freddo TF, Small DM. The lipid composition of drusen, Bruch's membrane, and sclera by hot stage polarizing light microscopy. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2001; 42(7):1592-9.
217. Li CM, Chung BH, Presley JB, Malek G, Zhang X, Dashti N. et al. Lipoprotein-like particles and cholesteryl esters in human Bruch's membrane: initial characterization. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2005; 46(7):2576-86.
218. Starita C, Hussain A, Pagliarini S, Marshall J. Hydrodynamics of ageing Bruch's membrane: implications for macular disease. *Experimental Eye Research*. 1996; 62:565-72.
219. Moore D, Clover G. The effect of age on the macromolecular permeability of human Bruch's membrane. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2001; 42:2970-5.
220. Hussain A, Rowe L, Marshall J. Age-related alterations in the diffusional transport of amino acids across the human Bruch's-choroid complex. *Journal of the Optical Society of America*. 2002; 19:166-72.
221. Moore D, Hussain A, Marshall J. Age-related variation in the hydraulic conductivity of Bruch's membrane. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1995; 36:1290-7.
222. Chong NH, Keonin J, Luthert PJ, Frennesson CI, Weingeist DM, Wolf RL, et al. Decreased thickness and integrity of the macular elastic layer of Bruch's membrane correspond to the distribution of lesions associated with age-related macular degeneration. *Am J Pathol*. 2005; 166(1):241-51.
223. Nackman G, Karkowski F, Halpern V, Gaetz H, Tilson M. Elastin degradation products induce adventitial angiogenesis in the Anidjar/Dobrin rat aneurysm model. *Surgery*. 1997; 122:39-44.

224. Marshall J, Hussain A, Starita C, Moore D, Patmore A. Aging and Bruch's membrane. In: Marmor M, Wolfensberger T, editors. *The Retinal Pigment Epithelium*. New York: Oxford University Press; 1998. p. 669-92.
225. Holz F, Sheraiadah G, Pauleikhoff D, Marshall J, Bird A. Analysis of lipid deposits extracted from human macular and peripheral Bruch's membrane. *Archives of Ophthalmology*. 1994; 112:402-6.
226. Pauleikhoff D, Harper C, Marshall J, Bird A. Aging changes in Bruch's membrane. *Ophthalmology*. 1990; 97:171-8.
227. Anderson D, Ozaki S, Nealon M, Neitz J, Mullins R, Hageman G. et al. Local cellular sources of apolipoprotein E in the human retina and retinal pigmented epithelium: Implications for the process of drusen formation. *American J Ophthalmol*. 2001; 131:767-81.
228. Farkas T, Sylvester V, Archer D, Altona M. The histochemistry of drusen. *American Journal of Ophthalmology*. 1971; 71:1206-15.
229. Green W, Enger C. Age-related macular degeneration histopathologic studies. *Ophthalmology*. 1993; 100:1519-35.
230. Kliffen M, van der Schaft TL, Mooy CM, de Jong PT. Morphologic changes in age-related maculopathy. *Microscopy Research & Technique*. 1997; 36(2):106-22.
231. Feher J, Valu L. Albrecht Von Graefes Arch Klin Exp Ophthalmol. 1967; 173(2):162-7.
232. Green WR, Enger C. Age-related macular degeneration histopathologic studies. The 1992 Lorenz E. Zimmerman Lecture. *Ophthalmology*. 1993; 100(10):1519-35.
233. Loffler KU, Lee WR. Basal linear deposit in the human macula. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 1986; 224(6):493-501.
234. Van der Schaft TL, de Bruijn WC, Mooy CM, Ketelaars DA, de Jong PT. Is basal laminar deposit unique for age-related macular degeneration? *Archives of Ophthalmology*. 1991; 109(3):420-5.
235. Grossniklaus HEGass JDM Clinicopathologic correlations of surgically excised type 1 and type 2 submacular choroidal neovascular membranes. *Am J Ophthalmol*. 1998; 12659-69.
236. Green WR The retina. Spencer WHed. *Ophthalmic Pathology An Atlas and Textbook Philadelphia, Pa WB Saunders Co*1996; 982- 1051
237. Grossniklaus HE, Hutchinson AK, Capone A, Woolfson J, Lambert HM. Clinicopathologic features of surgically excised choroidal neovascular membranes. *Ophthalmology*. 1994; 101 1099- 1111.
238. Grossniklaus HE, Martinez JA, Brown VB et al. Immunohistochemical properties of surgically excised subretinal neovascular membranes in age-related macular degeneration. *Am J Ophthalmol*. 1992; 114464- 472
239. Hutchinson AK, Grossniklaus HE, Capone A Giant-cell reaction in surgically excised subretinal neovascular membrane. *Arch Ophthalmol*. 1993; 111734-735.

240. Lopez P, Grossniklaus HE, Lambert M et al. Pathologic features of surgically-excised sub-retinal neovascular membranes in age-related macular degeneration. *Am J Ophthalmol.* 1991; 112:647-656.
241. Saxe SJ, Grossniklaus HE, Lopez PF et al. Ultrastructural features of surgically excised sub-retinal neovascular membranes in the ocular histoplasmosis syndrome. *Arch Ophthalmol.* 1993; 111:88-95.
242. Thomas JW, Grossniklaus HE, Lambert HM et al. Ultrastructural features of surgically-excised idiopathic subfoveal neovascular membranes. *Retina.* 1993; 13:93-98.
243. Brown DM, Kaiser PK, Michels M, et al. Ranibizumab versus verteporfin for neovascular age-related macular degeneration. *N Engl J Med.* 2006; 355:1432-1444.
244. Abraham-Marín ML, Cortes-Luna CF, Alvarez-Rivera G, et al. Intravitreal bevacizumab therapy for neovascular age-related macular degeneration: a pilot study. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2007; 245:651-655.
245. Avery RL, Pieramici DJ, Rabena MD, et al. Intravitreal bevacizumab (Avastin) for neovascular age-related macular degeneration. *Ophthalmology.* 2006; 113:363-372.
246. Costa RA, Jorge R, Calucci D, et al. Intravitreal bevacizumab for choroidal neovascularization caused by AMD (IBeNA Study): results of a phase 1 dose-escalation study. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2006; 47:4569-4578.
247. Fong DS, Custis P, Howes J, Hsu JW. Intravitreal bevacizumab and ranibizumab for age-related macular degeneration a multicenter, retrospective study. *Ophthalmology.* 2010; 117: 298-302.
248. Rich RM, Rosenfeld PJ, Puliafito CA, et al. Short-term safety and efficacy of intravitreal bevacizumab (Avastin) for neovascular age-related macular degeneration. *Retina.* 2006; 26:495-511.
249. Fung AE, Lalwani GA, Rosenfeld PJ, et al. An optical coherence tomography-guided, variable dosing regimen with intravitreal ranibizumab (Lucentis) for neovascular age-related macular degeneration. *Am J Ophthalmol.* 2007; 143:566-583.
250. Brown DM, Regillo CD. Anti-VEGF agents in the treatment of neovascular age-related macular degeneration: applying clinical trial results to the treatment of everyday patients. *Am J Ophthalmol.* 2007; 144:627-637.
251. Lopez P, Lambert HM, Grossniklaus HE, Sternberg PE. Well-defined subfoveal choroidal neovascular membranes in age-related macular degeneration. *Ophthalmology.* 1993; 100:415-422.
252. Reena Mukamal, A. Defaro, Comparison of anti-VEGF treatment for wet AMD. *American Academy of Ophthalmology*, 03.2020.
253. Cho M, Barbazetto IA, Freund KB. Refractory neovascular age-related macular degeneration secondary to polypoidal choroidal vasculopathy. *Am J Ophthalmol.* 2009; 148:70-78.e1.

254. Mojana F, Cheng L, Bartsch DU, et al. The role of abnormal vitreomacular adhesion in age-related macular degeneration: spectral optical coherence tomography and surgical results. *Am J Ophthalmol.* 2008; 146:218-227.
255. Treatment of age-related macular degeneration with photodynamic therapy (TAP) Study Group. Photodynamic therapy of subfoveal choroidal neovascularization in age-related macular degeneration with verteporfin: one-year results of 2 randomized clinical trials – TAP report. *Arch Ophthalmol.* 1999; 117:1329-1345.
256. Lux A, Llacer H, Heussen FM, Jousseaume AM. Non-responders to bevacizumab (Avastin) therapy of choroidal neovascular lesions. *Br J Ophthalmol.* 2007; 91:1318-1322.
257. CATT Research Group. Martin DF, Maguire MG, et al. Ranibizumab and bevacizumab for neovascular age-related macular degeneration. *N Engl J Med.* 2011; 364:1897-1908.
258. Stangos AN, Gandhi JS, Nair-Sahni J, et al. Polypoidal choroidal vasculopathy masquerading as neovascular age-related macular degeneration refractory to ranibizumab. *Am J Ophthalmol.* 2010; 150:666-673.
259. Gaudreault J, Fei D, Beyer JC, et al. Pharmacokinetics and retinal distribution of ranibizumab, a humanized antibody fragment directed against VEGF-A, following intravitreal administration in rabbits. *Retina.* 2007; 27:1260-1266.
260. Kofoed-Enevoldsen A, Foyle WJ, Fernandez M, Yudkin JS. Evidence of impaired glomerular charge selectivity in nondiabetic subjects with microalbuminuria: relevance to cardiovascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1996; 16:450-454.
261. Nishihara H. Studies on the ultrastructure of the inner limiting membrane of the retina: distribution of anionic sites in the inner limiting membrane of the retina. *Nihon Ganka Gakkai Zasshi.* 1991; 95:951-958.
262. Bunt-Milam AH, Saari JC, Klock IB, Garwin GG. Zonulae adherentes pore size in the external limiting membrane of the rabbit retina. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1985; 26:1377-1380.
263. Kim H, Robinson SB, Csaky KG. FcRn receptor-mediated pharmacokinetics of therapeutic IgG in the eye. *Mol Vis.* 2009; 15:2803-2812.
264. Heiduschka P, Fietz H, Hofmeister S, et al. Penetration of bevacizumab through the retina after intravitreal injection in the monkey. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2007; 48:2814-2823.
265. Shahar J, Avery RL, Heilweil G, et al. Electrophysiologic and retinal penetration studies following intravitreal injection of bevacizumab (Avastin) *Retina.* 2006; 26:262-269.
266. Brasil OF, Smith SD, Galor A, et al. Predictive factors for short-term visual outcome after intravitreal triamcinolone acetonide injection for diabetic macular oedema: an optical coherence tomography study. *Br J Ophthalmol.* 2007; 91:761-765.