

**Disertační práce**

**PEELING MEMBRANA LIMITANS INTERNA  
V CHIRURGICKÉ LÉČBĚ  
DIABETICKÉHO MAKULÁRNÍHO EDÉMU**

**MUDr. Ivan Fišer**

**2006**



**Oční klinika Lékařské fakulty v Hradci Králové  
University Karlovy v Praze**

**přednosta: Prof. MUDr. Pavel Rozsíval, CSc.**

**Poděkování:**

**Děkuji Prof. MUDr. Pavlu Rozsivalovi, CSc., přednostovi oftalmologické kliniky University Karlovy v Praze, Lékařské fakulty v Hradci Králové, za možnost absolvovat doktorské studium a za jeho odborné vedení.**

**Děkuji MUDr. Josefu Šachovi, odbornému asistentu Ústavu patologie 3. lékařské fakulty University Karlovy v Praze, za spolupráci při hodnocení histopatologických nálezů.**

**Děkuji přednostovi oftalmologické kliniky 3. lékařské fakulty University Karlovy v Praze, Prof. MUDr. Pavlu Kuchynkovi, CSc., a vedení Cornea Lexum za podporu při studiu a při realizaci této práce.**

**Děkuji Mgr. Jeleně Skibové ze statistického oddělení IKEM Praha za pomoc při statistickém hodnocení výsledků a paní Sylvě Barešové z IPVZ Praha za grafickou úpravu a editaci textu.**

**Děkuji MUDr. Renatě Handlové a MUDr. Iloně Cihelkové z oftalmologické kliniky 3. lékařské fakulty University Karlovy v Praze za provedená OCT vyšetření a všem svým spolupracovníkům za asistenci při operacích.**

**V Praze dne 10. května 2006**

**Ivan Fišer**

## Seznam použitých zkratek:

<b>CSME</b>	– klinicky signifikantní makulární edém
<b>DM</b>	– diabetes mellitus
<b>DME</b>	– diabetický makulární edém
<b>DR</b>	– diabetická retinopatie
<b>DRVS</b>	– Diabetic retinopathy vitrectomy study
<b>ETDRS</b>	– Early treatment diabetic retinopathy study
<b>EGF-R</b>	– epidermal growth factor receptor
<b>FAG</b>	– fluorescenční angiografie
<b>GFAP</b>	– glial fibrillary acidic protein
<b>HbA<sub>1c</sub></b>	– glykovaný hemoglobin
<b>IGF-1</b>	– insulin growth factor
<b>ILGF</b>	– insulin-like growth factor
<b>IRMA</b>	– intraretinální mikrovaskulární abnormality
<b>MA</b>	– mikroaneuryzmata
<b>MLI</b>	– membrana limitans interna
<b>LLI</b>	– lamina limitans interna
<b>NPDR</b>	– neproliferativní diabetická retinopatie
<b>NVD</b>	– neovaskularizace disku
<b>NVE</b>	– neovaskularizace sítnice (jinde než na disku - elsewhere)
<b>NVI</b>	– neovaskularizace duhovky
<b>NVS</b>	– dtto, neovaskularizace sítnice
<b>PDR</b>	– proliferativní diabetická retinopatie
<b>PDGF</b>	– platelet-derived growth factor
<b>PKC</b>	– proteinkináza C
<b>PRF</b>	– panretinální fotokoagulace
<b>PPV</b>	– pars plana vitrektomie
<b>PVD</b>	– posterior vitreous detachment (ablace zadní plochy sklivce)
<b>RPE</b>	– retinální pigmentový epitel
<b>VEGF</b>	– vascular endothelial growth factor
<b>VMTS</b>	– vitreomakulární trakční syndrom

## Obsah

<b>1</b>	<b>Úvod</b> .....	<b>6</b>
<b>1.1</b>	<b>Realizace cílů Saint Vincentské deklarace</b> .....	<b>6</b>
<b>1.2</b>	<b>Epidemiologie diabetické retinopatie</b> .....	<b>6</b>
<b>1.3</b>	<b>Patogeneze diabetické retinopatie</b> .....	<b>8</b>
<b>1.4</b>	<b>Klasifikace diabetické retinopatie</b> .....	<b>9</b>
<b>1.5</b>	<b>Diabetický makulární edém</b> .....	<b>9</b>
<b>1.6</b>	<b>Diagnostické postupy</b> .....	<b>11</b>
<b>1.7</b>	<b>Terapie diabetické retinopatie</b> .....	<b>12</b>
<b>1.7.1</b>	<b>Konzervativní a laserová léčba</b> .....	<b>12</b>
<b>1.7.2</b>	<b>Chirurgická léčba</b> .....	<b>14</b>
<b>1.7.2.1</b>	<b>Indikace vitrektomie</b> .....	<b>14</b>
<b>1.7.2.2</b>	<b>Technika vitrektomie</b> .....	<b>15</b>
<b>1.7.2.3</b>	<b>Chirurgická léčba diabetického makulárního edému</b> .....	<b>15</b>
<b>1.7.2.4</b>	<b>Membrana limitans interna</b> .....	<b>16</b>
<b>2</b>	<b>Cíle práce</b> .....	<b>19</b>
<b>3</b>	<b>Pacienti a metodika</b> .....	<b>19</b>
<b>3.1</b>	<b>Charakteristika hodnoceného souboru</b> .....	<b>19</b>
<b>3.2</b>	<b>Předoperační vyšetření</b> .....	<b>20</b>
<b>3.3</b>	<b>Chirurgická technika</b> .....	<b>20</b>
<b>3.4</b>	<b>Histologické vyšetření</b> .....	<b>21</b>
<b>3.5</b>	<b>Statistické hodnocení</b> .....	<b>22</b>
<b>4</b>	<b>Výsledky</b> .....	<b>22</b>
<b>4.1</b>	<b>Zlepšení nálezu a vizu</b> .....	<b>22</b>
<b>4.2</b>	<b>Peroperační komplikace</b> .....	<b>33</b>
<b>4.3</b>	<b>Postoperační komplikace</b> .....	<b>34</b>
<b>4.4</b>	<b>Katarakta</b> .....	<b>35</b>
<b>4.5</b>	<b>Histologické nálezy</b> .....	<b>36</b>
<b>4.6</b>	<b>Odpovědi na cíle práce</b> .....	<b>41</b>
<b>5</b>	<b>Diskuse</b> .....	<b>42</b>
<b>6</b>	<b>Závěr</b> .....	<b>47</b>
<b>7</b>	<b>Literatura</b> .....	<b>49</b>

# 1 Úvod

## 1.1 Realizace Saint Vincentské deklarace

Diabetická retinopatie (DR), zejména diabetický makulární edém a komplikace proliferativní diabetické retinopatie v podobě hemoftalmu a trakčního odchlípení sítnice, jsou v průmyslových zemích nejčastější příčinou praktické slepoty populace ve věku od 20 do 74 let (10). Závěry Saint Vincentské deklarace z roku 1989, přijaté zástupci všech evropských zemí, podle kterých měl být počet těchto osleplých pacientů snížen nejméně o třetinu během pěti let, se nepodařilo naplnit. Naopak, v některých sledovaných oblastech (např. v SRN) počet slepých pacientů, starších 70 let, narostl o 100 % a pouze u pacientů mladších 70 let se podařilo existující incidenci slepoty alespoň stabilizovat. V jiných oblastech bylo dosaženo pouze omezeného úspěchu v podobě 17% snížení incidence slepoty u diabetiků (48). Příčinou tohoto alarmujícího stavu je vzrůstající délka života diabetiků a z ní vyplývající vzestup incidence diabetické retinopatie. Tím více nabývá na významu oftalmologická péče, která musí být mnohem intenzivnější, než tomu bylo dosud, a musí být zaměřena na snižování výskytu těžkých komplikací diabetické retinopatie, působících slepotu. Diabetes i jeho komplikace jsou pochopitelně i problémem ekonomickým. Aby péče o diabetiky s postižením sítnice byla co nejúčinnější, je nutno využívat všech moderních léčebných postupů, zahrnujících terapii konzervativní, semichirurgickou, tj. laserovou, případně injekční, i chirurgickou.

## 1.2 Epidemiologie diabetické retinopatie

Jelikož registry diabetiků ve většině zemí neexistují, přesné celosvětové statistické údaje nelze získat, avšak podle odhadů bylo na zemi v roce 2003 194 miliónů diabetiků a v roce 2005 již 333 miliónů. 10 - 15 % nemocných trpí diabetem 1. typu a 85 - 90 % diabetem 2. typu. Prevalence diabetu 2. typu narůstá více než 1. typu, což souvisí se „šedivější“ populací.

Diabetes se však objevuje ve stále nižším věku. Postihuje 6 % populace ve věku 45 - 64 let a 11 % populace ve věku nad 65 let, avšak pouze 1,5 % obyvatel ve věku 18 - 44 let. Diabetická retinopatie úzce souvisí s délkou trvání diabetu, s hladinou glukózy v krvi, zejména s hladinou glykovaného hemoglobinu (HbA<sub>1c</sub>), jinými slovy s metabolickou kompenzací, dále s krevním tlakem a s indexem tělesné hmotnosti (BMI, body mass index).

Retinopatie u mladých pacientů s diabetem 1. typu se nerozvine dříve než po 3 - 5 letech trvání systémového diabetu. Podobné časové údobí je zřejmě zapotřebí i ke vzniku sítnicového nálezu u diabetiků 2. typu, avšak u těchto nemocných je často obtížné stanovit přesně nástup cukrovky, a tak je u nich diabetická retinopatie nejspíše prvním symptomem diabetu. Prognóza diabetické retinopatie, makulárního edému, ba dokonce i proliferativní retinopatie, je v těchto případech vážná. Prevalence retinopatie po 20 letech trvání diabetu se blíží 100 %, avšak prevalence proliferativní DR po 15 letech trvání DM u diabetiků 1. typu je pouze 25 – 50 % a u diabetiků 2. typu ještě mnohem nižší, cca 25 % po 25 letech trvání choroby. Vysvětlení lze nalézt buď v odlišnosti metabolismu sítnice u mladých diabetiků, nebo ve skutečnosti, že ke vzniku PDR je třeba dlouhého trvání vysokých hodnot glykémie, což nastává pouze u diabetiků 1. typu.

V České republice je prevalence diabetické retinopatie 11,4 %, prevalence proliferativní diabetické retinopatie 2,5 % a prevalence slepoty následkem diabetické retinopatie 0,3 %. (49). V roce 2004 u nás bylo pro diabetes mellitus léčeno 712 079 pacientů, z nichž 84 087 trpělo diabetickou retinopatií, 18 644 retinopatií proliferativní a 2 364 slepotou (49).

Tab.1. Diabetické komplikace v ČR v roce 2004. Zdroj: ÚZIS, 2005.

Celkem diabetiků v roce 2004	712 079
Diabetická retinopatie	84 077
Proliferativní diabetická retinopatie	18 644
Slepota	2 364

Prevalence diabetického makulárního edému bohužel dosud není sledována. Traduje se, že makulární edém je častější u diabetiků 2. typu, avšak některé studie naznačují, že prevalence makulárního edému je u obou typů diabetu stejná a představuje přibližně 18 – 20 % pacientů, užívajících inzulin.

### 1.3 Patogeneze diabetické retinopatie

Není sporu o tom, že dlouhotrvající hyperglykémie je hlavním etiologickým agens, podílejícím se na vzniku diabetické retinopatie. Není však jisto, jaké buněčné mechanismy dává hyperglykémie do pohybu. Za tři hlavní mechanismy jsou považovány tyto:

- A. Dlouhotrvající hyperglykémie ovlivňuje působení genů, řídících buněčné funkce.
- B. Některé cukry se neenzymaticky vážou na bílkoviny, vytvářejíce tak glykované sloučeniny s dlouhou životností. Nejznámější z nich je hemoglobin; hlavní forma celkového glykovaného hemoglobinu, hemoglobin A<sub>1c</sub>, je ukazatelem dlouhodobé kompenzace glykémie. Další biochemické změny glykovaných proteinů vedou k poruše jejich funkcí, a podílejí se tak na komplikacích diabetu.
- C. Chronická hyperglykémie působí oxidační stres, vedoucí k tvorbě koncových produktů oxidace, jako peroxidů, superoxidů a volných kyslíkových radikálů (40).

Nejvýznamnějším angiogenním faktorem, ovlivňujícím retinální (i choroidální) neovaskularizaci, je bezesporu cévní endoteliální růstový faktor VEGF (vascular endothelial growth factor). Tento peptid existuje ve čtyřech izoformách s různým počtem aminokyselin: VEGF 121, 165, 189 a 206. Jelikož VEGF zvyšuje permeabilitu cév, jeho název byl původně VPF (faktor cévní permeability, vascular permeability factor).

Jelikož VEGF je hlavním angiogenním faktorem sítnice, pozornost současného výzkumu je věnována využití jeho inhibitorů, zejména anti-VEGF, v léčbě proliferativní diabetické retinopatie, diabetického makulárního edému, věkem podmíněné makulární degenerace a dalších cévních proliferativních onemocnění. Další výzkumy se týkají inhibitorů PKC, somatotropního hormonu a dalších procesů (40).

Patogeneze diabetické retinopatie zahrnuje řadu předchozích biochemických i následujících histopatologických procesů, mezi něž patří ztlustění bazální membrány cév, otevření těsných spojů endotelií a fenestrace jejich cytoplazmatu s důsledkem poruchy hemoretinální bariéry, degradace MLI a proliferace endoteliálních buněk na povrch sítnice, ztrátu pericytů s rozvojem mikroaneuryzmat, apoptózu jader endotelií s uzávěrem kapilár, vznik intraretinálních mikrovaskulárních abnormit a neovaskularizací, zvýšenou cévní permeabilitu s následkem edému, intraretinálních hemorragií a ukládání lipidních tvrdých ložisek, flebopatii a arteriální okluze s výslednou nonperfuzí, ischemií, tvorbou VEGF stimulačního neovaskularizaci s jejími chirurgickými komplikacemi.

## 1.4 Klasifikace diabetické retinopatie

Základní klasifikace diabetické retinopatie je založena na závažnosti intraretinálních mikrovaskulárních změn a na přítomnosti retinálních neovaskularizací. Retinopatie je označována za **neproliferativní**, pokud jsou přítomny pouze intraretinální mikrovaskulární změny. U **proliferativní** diabetické retinopatie na povrchu sítnice rostou novotvořené cévy a fibrózní tkáň. **Makulární edém** může být přítomen u obou forem diabetické retinopatie (46).

## 1.5 Diabetický makulární edém

Makulární edém je následkem narušení hematoretinální bariéry. Fluorofotometrie sklivce prokazuje, že k narušení hematoretinální bariéry u diabetiků dochází dlouho před klinickým zjištěním diabetické retinopatie. Anatomické a biochemické koreláty této funkční poruchy jsou různé. Nastává otevření **těsných spojů** (zonulae occludentes, tight junctions) mezi výběžky endotelií vlivem histaminu, který působí proti bílkovině těsného spojení, proteinu ZO-1. Dále pozorujeme **fenestrace** cytoplazmatu endoteliálních buněk sítnicových cév, shodné s fyziologickými fenestracemi endotelu choriocapillaris. Fenestrace jsou samozřejmostí i u endotelu neovaskularizací (11).

S množícími se **mikroaneuryzmaty** se může pojit narůstající permeabilita sítnicových kapilár, což vede ke vzniku edému sítnice, zpravidla v oblasti makuly. Podle závažnosti této poruchy edém bývá provázen usazováním tvrdých ložisek (tvrdých exsudátů), lipidních depozit, která se objevují v místech prosakování lipoproteinů, způsobeného narušením těsných spojů mezi endoteliemi v sítnicových kapilárách nebo v mikroaneuryzmatech. Klinicky se jeví jako žlutobílá ložiska na zadním pólu, většinou na hranici edematózní sítnice. Tekutiny edému může přibývat i ubývat, avšak lipidových depozit zpravidla přibývá a jsou-li přítomna v centru fovey, nezřídka v podobě rozsáhlých plaků, mívají za následek trvalé poškození sítnice a ztrátu zraku (44).

Makulární edém je nejčastější příčinou zhoršení vizu u diabetiků s NPDR, ačkoli se vyskytuje i u PDR. Makulární edém nejlépe prokazujeme stereoskopickým vyšetřením, tedy biomikroskopicky, a velmi dobře jej ilustruje OCT, která jej dokáže i kvantifikovat. Postihne-li ztlustění sítnice foveolu, klesá zraková ostrost. Podle ETDRS je zde riziko ztráty 3 řádků (15 písmen) ETDRS optotypů během 3 let 32 %. Klinicky signifikantní makulární edém (CSME) znamená přítomnost jednoho z následujících znaků: (1) ztlustění sítnice v rozmezí 500 mikrometrů od centra fovey, (2) tvrdé exsudáty v rozmezí 500 mikrometrů od centra



fovey spolu se ztluštěním okolní sítnice, nebo (3) oblast ztluštění sítnice velikosti papily, která částečně zasahuje do oblasti 1 PD od centra fovey (10).

Makulární edém může být fokální či difuzní, někteří autoři ještě rozlišují edém cystoidní, ischemický a smíšený (46).

U **fokálního makulárního edému** jsou tvrdé exsudáty věncovitě uspořádány kolem fokusu prosakování, kterým většinou bývá mikroaneuryzma; tohoto fenoménu se využívá při fokální laserové koagulaci ohniska prosakování.

**Difuzní makulární edém** vzniká závažným poškozením kapilár a arteriol, z nichž tekutina prosakuje difuzně, bez zřetelných fokusů. Někdy k prosakování dochází i z hlubokých cév a z choriocapillaris v důsledku porušení zevní hematoretinální bariéry, tedy narušením těsných spojení mezi buňkami pigmentového epitelu. Difuzní makulární edém špatně reaguje na laserovou léčbu.

**Cystoidní makulární edém** je nezdědka součástí difuzního edému. Vzniká nahromaděním tekutiny v zevní plexiformní vrstvě sítnice a ve vnitřní vrstvě jader. Má charakteristický obraz radiálně uspořádaných cystoidních prostor v oblasti fovey, způsobených primárně změnami kapilární stěny. Tyto změny vedou k poruše hematoretinální bariéry, umožňující průnik tekutiny s následkem ztluštění této oblasti. Tato bariéra, chránící sítnici, omezuje pronikání složek plazmy do sítnice a v kombinaci s mechanismy aktivního a pasivního transportu hraje důležitou úlohu při udržování homeostázy v rámci neurosenzorické sítnice. Hematoretinální bariéru anatomicky zajišťují těsné spoje mezi endoteliálními buňkami sítnicových cév (vnitřní hematoretinální bariéra) a těsné spoje mezi buňkami pigmentového epitelu sítnice (zevní hematoretinální bariéra).

Některé studie prokazují, že rozvoji cystoidních prostor předchází ztluštění a nekróza Müllerových buněk, což společně s cévními změnami dává vznik petaloidnímu obrazu na fluorescenčním angiogramu. Jiní autoři považují hromadění tekutiny za expanzi extracelulárního prostoru a nezmiňují se o změnách buněk. Rozvoj edému v této oblasti lze vysvětlit vaskulární anatomickou charakteristikou fovey. Dojde-li k dekompenzaci, je vstřebávání tekutiny v extracelulárním prostoru silně omezeno; proto má tekutina tendenci k akumulaci. S delším trváním CME se cysty mohou zvětšovat a šířit do vnitřních vrstev sítnice a způsobit vznik lamelárního či úplného defektu makuly (12).

Petaloidní tvar parafoveolární hyperfluorescence je pravděpodobně způsoben zvláštní anatomíí perifoveolární sítnice. V oblasti kolem foveoly vnitřní vrstvy sítnice chybí a zbývající Müllerovy buňky, bipolární buňky a výběžky fotoreceptorů (tyčinek a čípků) jsou v sítnici orientovány horizontálně a radiálně kolem centra fovey. Přebytečná tekutina, hromadící se ve vnitřní vrstvě jader či v zevní plexiformní vrstvě parafoveolární sítnice – ať již jako edematózní Müllerovy buňky či extracelulární cysty – vyplňuje radiálně orientované prostory, kolmé k povrchu sítnice kolem foveoly. Toto vede k typickému květinovému obrazu na fluoroangiogramu. Prosakování fluoresceinu vždy nekoreluje s pozorovaným ztluštěním parafoveolární sítnice či se zrakovou ostroží, existuje tudíž disproporce mezi angiografickým nálezem CME a klinicky signifikantním CME. Výsledky histopatologických studií etiologie CME jsou dosud nejednoznačné. Podle Gasse (20) je primární změnou, vedoucí ke vzniku CME, hromadění extracelulární tekutiny v sítnici. Podle jiných autorů (50) tyto cystoidní prostory jsou edematózními a degenerovanými Müllerovými buňkami bez expanze extracelulárního prostoru. Tuto teorii podporuje skutečnost, že ischemie a jiné faktory, poškozující funkci Müllerových buněk, jsou spojeny s rozvojem CME. U očí s CME může docházet i ke ztrátě fotoreceptorů a k degeneraci buněk pigmentového epitelu.

## 1.6 Diagnostické postupy

Diagnostika diabetické retinopatie se kromě anamnézy opírá o podrobné oční vyšetření, zahrnující stanovení zrakové ostroží do dálky i do blízka, měření nitrooční tenze, vyšetření předního segmentu na štěrbinové lampě, nepřímou binokulární oftalmoskopii a zejména biomikroskopii na štěrbinové lampě. Dokumentace nálezů zahrnuje barevnou fotografii očního pozadí, standardizovanou fotografii, případně stereofotografii a dále následující metody:

**Fluorescenční angiografie (FAG)** slouží k hodnocení perfúze sítnicových cév, k odhalení cévních okluzí i patologického prosakování, k verifikaci neovaskularizací, CME apod. FAG u pacienta s diabetickým makulárním edémem ukazuje hyperfluorescenci v časných fázích. To znamená, že kontrastní materiál prosakuje z perifoveolárních kapilár. Prosakování narůstá v pozdních fázích, u CME naplňuje cystoidní prostory v Henleově vrstvě nervových vláken a vytváří klasický petaloidní obraz. Terč zrakového nervu může také být hyperfluorescentní vlivem prosakování z kapilár na terči (25).

Dalším, méně často užívaným testem je **fluorofotometrie**, propagovaná Cunha-Vazem a spol., která detekuje a kvantifikuje nárůst cévní permeability a pronikání barviva do sklivce, kam jej přes neporušenou hemoretinální bariéru normálně proniká velmi malé množství. Tato metoda demonstruje prosakování fluoresceinu do sklivce u diabetiků ještě před klinickou diagnózou diabetické retinopatie (7). **Optická koherenční tomografie** (optical coherence tomography, OCT) využívá projekce laserového paprsku na sítnici s analýzou odraženého světla, čímž se získá obraz průřezu sítnice s vysokým rozlišením. OCT dobře dokumentuje anatomický stav vitreoretinálního rozhraní.

Narušením vnitřní hemoretinální bariéry s prosakováním součástí plazmy do sítnice expanduje extracelulární prostor, což vede ke ztluštění sítnice, pozorovatelnému klinicky. Studie časně léčby diabetické retinopatie (Early Treatment Diabetic Retinopathy Study, ETDRS) prokázala příznivý účinek specifické fotokoagulace na prevenci zhoršení zraku u očí s klinicky signifikantním diabetickým makulárním edémem. Tato strategie zahrnuje fokální laserovou koagulaci prosakujících mikroaneuryzmat a mřížkovou fotokoagulaci oblastí nonperfuze a difuzního prosakování (10). Příznivý efekt mřížkové fotokoagulace však bývá stále častěji zpochybňován.

## 1.7 Terapie diabetické retinopatie

### 1.7.1 Konzervativní a laserová léčba

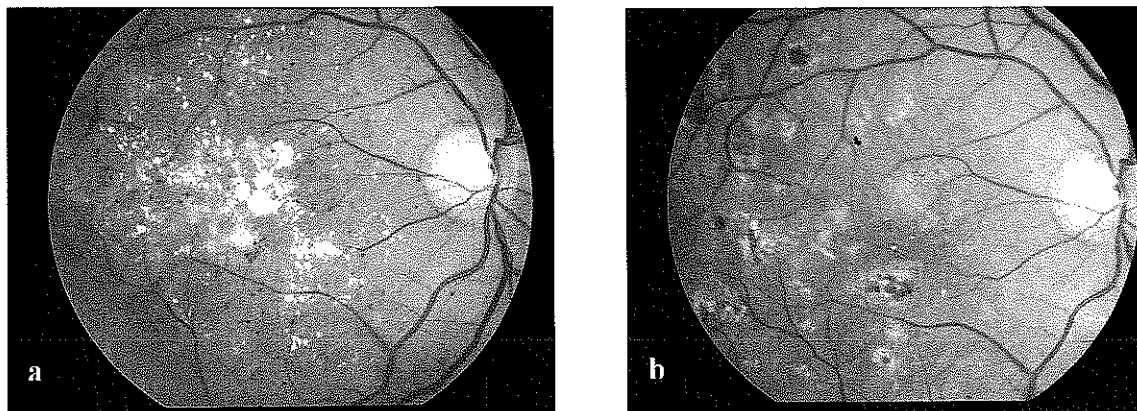
Nezbytné pro **konzervativní léčbu** diabetické retinopatie jsou komplexní preventivně-léčebné postupy, zahrnující důslednou kompenzaci glykémie, krevního tlaku i lipidémie. Spolehlivá farmakologická terapie diabetické retinopatie nebyla dosud objevena. Probíhají multicentrické randomizované studie s anti-VEGF, inhibitory PKC, steroidy, alfaliponovou kyselinou a dalšími statiny, které přinesou výsledky v nejbližších letech. Studie s Calcium dobesilatem ani se somatostatin blokátorem nepřinesly očekávané výsledky. Slibné jsou však zejména předběžné výsledky s pegaptanibem, protilátkou proti růstovému a permeabilitnímu faktoru, anti-VEGF<sub>165</sub> (22), či se steroidy, poměrně silnými inhibitory VEGF/VPF, podávanými buď intravitreálně ve formě triamcinolonové suspenze nebo depotního dexamethasonu, nebo do Tenonova prostoru ve formě depotního triamcinolonu. Steroidy totiž inhibují aktivaci plasminu, který aktivuje kolagenázy, rozhodující enzymy při rozpouštění bazální membrány kapilár (23).

**Laserová léčba**, jejíž příznivý účinek na sítnici diabetiků byl prokázán již v roce 1949, je rutinně využívaná od 70. let 20. století. Dvě hlavní randomizované klinické studie, které potvrdily význam laserové fotokoagulace, byly Studie diabetické retinopatie (**Diabetic Retinopathy Study, DRS**) a Studie časně léčby diabetické retinopatie (**Early Treatment Diabetic Retinopathy Study, ETDRS**). DRS se zabývala léčbou pacientů s těžkou nonproliferativní či proliferativní diabetickou retinopatií s visem 6/30 a lepším. DRS prokázala 50%-ní snížení rizika těžké ztráty vizu (vizus horší než 1/40) u očí ošetřených fotokoagulací (panretinální a fokální) v porovnání s očima neošetřenými laserem. DRS dále stanovila charakteristiky retinopatie, spojené se zvláště vysokým rizikem ztráty zraku. ETDRS měla za cíl určit vhodnou dobu pro panretinální fotokoagulaci a hodnotit účinek fotokoagulace na makulární edém. Pacienti ve studii měli méně pokročilou PDR, jedno oko bylo ošetřeno časnou fotokoagulací a druhé oko sloužilo jako kontrola. Zatímco u nemocných s méně pokročilými stádii NPDR převažovaly nežádoucí účinky fotokoagulace nad příznivým efektem, u závažné NPDR a u časně PDR byla panretinální fotokoagulace přínosná. Účinek časně fotokoagulace byl zřetelně lepší u nemocných s diabetem 2. typu, u pacientů s diabetem 1. typu je vhodnější pouhé sledování a zahájení fotokoagulace až se vznikem PDR. ETDRS dále přinesla vynikající vyšetřovací pomůcku, logaritmickou vyšetřovací tabuli s optotypy, seřazenými po pěti písmenech v každé řadě. Zhoršení visu o 3 řádky (15 písmen) znamená zdvojnásobení minimum separabile, např. z 6/6 na 6/12 nebo z 6/18 na 6/36. Tato tabule se dodnes využívá při všech významných randomizovaných studiích. Ve studii ETDRS nastalo zhoršení vizu o 3 řádky u 24 % očí s makulárním edémem neošetřených laserem, avšak pouze u 12 % očí ošetřených fokální či mřížkovou fotokoagulací, laserová léčba tedy snižuje riziko ztráty zraku o 3 řádky o 50 %. Fotokoagulace makuly je indikována, pokud edém či plak tvrdých exsudátů postihne centrum fovey. **Laserová fotokoagulace** spočívá v aplikaci laserového paprsku (dříve nejčastěji argonového laseru s vlnovou délkou cca 514 nm, dnes Nd:YAG laseru 532nm) na sítnici. Koherentní svazek paprsků je absorbován cílovou tkání a působí její koagulaci. Dokáže tak např. uzavřít prosakující mikroaneuryzma, případně indukuje dosud ne zcela jasné změny v pigmentovém epitelu, které příznivě působí v prevenci, profylaxi i terapii neovaskularizací.

Laserovou koagulací ovlivňujeme dva základní projevy DR: makulární edém a neovaskularizace.

K léčbě **makulárního edému** používáme povrchní **fokální fotokoagulace** (obr. 1), která je velmi účinná v případě léčby fokálního edému (přímou koagulací prosakujících

mikroaneuryzmat), nebo **sektorové** či **mřížkové fotokoagulace** u edému difuzního, která však má účinnost omezenou. Poškození sítnice hrozí nadměrnou energií, která může působit i vznik choroidální neovaskularizace, zásahem centra fovey se vznikem centrálního skotomu a růstem laserových jizev i dlouhou dobu po ošetření (10).



Obr. 1 a) Těžký CSME s plaky tvrdých ložisek. Vizus 3/60.  
b) Tentýž pacient rok po fokálním ošetření argonovým laserem. Úplný ústup CSME. Tvrdá ložiska zcela vstřebána. Vizus 6/12.

K léčbě **neovaskularizací sítnice (NVS)** používáme plošnou fotokoagulaci hlubokých vrstev sítnice, a to **lokální** (okrskovou, zaměřenou na NVS a přilehlé ischemické zóny). K léčbě **neovaskularizací disku (NVD)** používáme **panretinální fotokoagulaci (PRF)**.

## 1.7.2 Chirurgická léčba

### 1.7.2.1 Indikace vitrektomie

Při neúspěchu laserové terapie, nebo častěji v případech, kdy laserová terapie nebyla včas provedena, diabetická retinopatie progreduje do závažných stádií. V takových stádiích je indikována pars plana vitrektomie, tedy odstranění sklivce. Indikacemi vitrektomie u diabetiků jsou (36):

1. Hemoftalmus
  - a) neresorbující se krvácení (podle jeho trvání a zrakových potřeb nemocného);
  - b) k dokončení fotokoagulace sítnice pro PDR.
2. Trakční odchlípení sítnice postihující či postihující či ohrožující foveu.
3. Trakčně-rhegmatogenní odchlípení sítnice.
4. Neovaskulární glaukom či rubeóza duhovky s opacifikací médií, znemožňující PRF.

5. Zhoršení visu epimakulární membránou.
6. Progredující neovaskularizace nereagující na laserovou koagulaci.
7. Erytroklastický glaukom.
8. Makulární edém, nereagující na laser.

### 1.7.2.2 Technika vitrektomie

Vitrektomie, zavedená Machemerem v roce 1970, je mikrochirurgická operace, prováděná v celkové či lokální anestézii. Chirurg po incizi spojivky vstupuje do sklivcového prostoru třemi milimetrovými incizemi skléry v oblasti pars plana corporis ciliaris, proto je vitrektomie nazývána **pars plana vitrektomií (PPV)**. Podstata vitrektomie tkví v odstranění sklivce jako substrátu, ve kterém přetrvává krevní výron u hemoftalmu, jako mechanické opory pro růst neovaskularizací a fibrovaskulárních membrán a pro vznik trakčního odchlípení sítnice, a jako struktury, která se zřejmě smíšenými mechanismy podílí na vzniku makulárního edému (13). Mezi nové postupy při vitrektomii patří peeling membrana limitans interna s pomocí trypanové modři nebo indocyaninové zeleně, užívaný při léčbě makulárního edému.

**Zviditelnění sklivce a membrán** napomáhá suspenze steroidu (triamcinolon nebo betametazon) a membránových barviv (trypanová modř či indocyaninová zeleň) (1, 3 - 5, 37, 45).

### 1.7.2.3 Chirurgická léčba diabetického makulárního edému

Diabetický makulární edém (DME) je hlavní příčinou ztráty zrakové ostrosti u diabetiků. Přestože studie ETDRS (10) prokázala prospěšnost laserové léčby DME, nesporný efekt fotokoagulace se dostavuje pouze u edému fokálního, u kterého laserovým paprskem můžeme cíleně koagulovat prosakující mikroaneuryzmata a navodit tak resorpci edému i tvrdých lipidních ložisek. Edém difuzní však můžeme ovlivnit pouze nepřímo, tzn. pomocí mřížkové koagulace celé makuly. Tato léčba však je kontroverzní a podle některých autorů i škodlivá (8). V posledních letech někteří autoři referují o úspěšné léčbě difuzního DME pomocí vitrektomie samotné, případně doplněné peelingem membrana limitans interna, jehož podíl na patologii vitreoretinálního rozhraní není dosud zcela objasněn, avšak dosavadní zkušenosti s touto procedurou nasvědčují, že membrana limitans interna by mohla hrát při vzniku makulárního edému aktivní úlohu (18, 37, 38). Na základě výsledků studií chirurgické léčby makulárních děr, demonstrujících příznivý vliv peelingu membrana limitans interna

(MLI) na uzávěr makulární díry (33, 45), byly formulovány hypotézy o působení membrana limitans interna na diabetický makulární edém.

#### 1.7.2.4 Membrana limitans interna

Vnitřní limitující membrána sítnice (membrana limitans interna, lamina limitans interna), oddělující povrch sítnice od zadní plochy sklivce, je tvořena hlavně bazální membránou gliálních Müllerových buněk. Obsahuje laminin, fibronectin, proteoglykany a kolagen typu I a IV. Tyto součásti extracelulární matrix podporují adhezi zadní plochy sklivce k MLI sítnice (16). Sklivcový povrch MLI je hladký, zatímco její retinální povrch je nepravidelný. Zadní plocha sklivce je tvořena sklivcovými fibrilami a mukopolysacharidy; sklivce obsahuje zejména kolagen typu II. Sublaminární prostor je přemostěn jemnými fibrilami, které v místech přilehlých Müllerových buněk mohou být zahuštěny v adhezní plaky, zejména při ekvátoru a v oblasti sklivcové báze. Pomocí elektronové mikroskopie lze rozlišit dvě vrstvy MLI, lamina densa a lamina rara (lamina lucida). MLI je proměnlivě tloušťky a s věkem dochází k jejímu ztlušťování. V oblasti sklivcové báze je MLI velmi tenká (51 nm) a posteriorním směrem se ztlušťuje. Na ekvátoru měří 306nm a na zadním pólu oka 1887 nm, ve foveole je však ztenčená na 10-20 nm, rovněž tak je ztenčená nad většími retinálními cévami. Na zadním pólu nejsou přítomny adhezní plaky. MLI může v oblasti sklivcové báze, ekvátoru či peripapilárně podléhat degenerativní remodelaci, tj. odchlípení, diskontinuitám či tvorbě krypt. V oblasti defektu MLI mohou gliální buňky vycestovat na povrch sítnice, množit se a metamorfovat a možná dokonce vytvářet novou MLI. Usazováním produktů neenzymové glykace (u diabetiků) dochází ke ztlušťování MLI, podobně jako bazální membrány sítnicových kapilár (41).

Ukazuje se, že chirurgické odstranění MLI z povrchu makuly u očí s diabetickým makulárním edémem – peeling MLI může přispět k regresi edému a ke zlepšení zrakové ostrosti.

Podle Gasse (19, 20) MLI představuje bariéru, bránící vstupu gliálních elementů na vnitřní povrch sítnice, avšak podle něho rovněž existuje primární degenerace rozhraní mezi výběžky Müllerových buněk a zadní plochou sklivce, která indukuje migraci glie, její proliferaci a kontrakci. Tento názor se podobá staršímu názoru některých autorů (18), podle něhož je u diabetiků MLI ztluštělá fibrocelulární a fibrovaskulární proliferací a obsahuje kontraktilní elementy – myofibroblasty, které tangenciální trakcí mohou vyvolávat nebo potencovat diabetický makulární edém. Odstranění MLI je podle této teorie odstraněním

patologické struktury, díky kterému se mohou uplatnit reparační mechanismy, vedoucí k resorpci edému. Návrat k této teorii představuje práce Matsunagova (32), prezentující MLI u diabetiků jako významně ztluštělou a celulizovanou na sklivcové straně.

Zcela jiným vysvětlením příznivého účinku peelingu membrana limitans interna je stimulace gliózy Müllerových buněk, následně podporujících reparativní pochody v sítnici a obnovení hemoretinální bariéry. (9, 45). Chirurgická iritace či stimulace Müllerových buněk podle Smiddyho a Ducourneaua vede ke gliální intraretinální proliferaci, která možná působí příznivě nejen mechanicky, ale i biochemicky prostřednictvím uvolnění cytokinů (6).

Ducourneauova teorie vychází z vlastního pozorování a z histopatologických vyšetření očí s epiretinální membránou, s cystoidním makulárním edémem, s odchlípením sítnice či s ischemií sítnice. U těchto stavů byla pozorována glióza dvou druhů:

1. astrocytární glióza horizontální konfigurace, probíhající v úrovni MLI, ve vnitřních vrstvách sítnice a kolem cév, se nacházela u ischemických stavů. Astrocyty jsou zde plně gliálních filament se zvýšeným obsahem GFAP (glial fibrillary acidic protein). Jak bylo prokázáno v pokusech na laboratorních krysách s navozenou ischemií, astrocyty mají významnou funkci směřující k obnovení porušené hemoretinální bariéry a k obnovení přerušovaných synaptických spojů, jelikož GFAP má synaptogenní vlastnosti.

2. glióza Müllerových buněk se nacházela u odchlípení sítnice či u CME. Tato glióza má vertikální konfiguraci a probíhá od MLI k MLE (membrana limitans externa). Úkolem Müllerových buněk je zde jednak chránit sítnici před CME obnovením hemoretinální bariéry, jednak obnovit synaptické spoje. Podobný mechanismus je známý z neuropatologie: u poranění míchy laboratorních krys nastává radiální glióza, směřující ke strukturální reparaci a k obnově synapsí (43).

U sítnice je podobným stimulujícím traumatem například odchlípení sítnice, u kterého výběžky Müllerových buněk na jejich zevním konci ztrácejí kontakt s buňkami RPE. Peelingem MLI odstraňujeme nejen tuto laminu samotnou, nýbrž i pedikuly Müllerových buněk, čímž nastává jejich stimulace na opačném (vnitřním) konci. Peeling MLI v toto pojetí není odstraněním patologické tkáně, nýbrž indukcí buněčné odpovědi na úrovni Müllerových buněk (9).

Gliální buňky dále produkují EGF-R (epidermal growth factor receptor), jenž má významné regulační působení na proliferaci kmenových buněk, homeostázu tkáně, gliózu, angiogenesi a apoptózu. Tento EGF-R je dalším faktorem, který se může podílet na



reparačních dějích v sítnici, jelikož Müllerovy buňky jsou histomorfologicky velmi podobné neurálním kmenovým buňkám (30). Podle Ducourneaua nastává pokles visu u CME přerušáním synaptických spojů či narušením axoplasmatického transportu. Zlepšení visu po úspěšném zákroku nastane díky působení GFAP či EGF-R, které umožní obnovení synapsí.

Ke zviditelnění MLI používají různí autoři indocyaninovou zeleň nebo trypanovou modř. Podle některých autorů (2, 17, 24) indocyaninová zeleň působí toxicky na morfologii i funkci sítnice a zrakového nervu. U trypanové modři retinotoxicita ani neurotoxicita nebyly prokázány (29, 31).

## 2 Cíle práce

1. U skupiny 40 pacientů prokázat příznivý anatomický i funkční efekt vitrektomie s peelingem membrana limitans interna (MLI) na diabetický makulární edém (DME), nereagující na laserovou léčbu. Hodnotit riziko peroperačních a pooperačních komplikací.
2. Analyzovat struktury membrán, odstraněných z povrchu sítnice, zejména rozlišit mezi epiretinální membránou – epimakulární proliferací – a patologicky změněnou MLI. Pomocí optické mikroskopie studovat buňky odpovědné za patologickou celulizaci těchto membrán.
3. Odpovědět na otázku, zda membrana limitans interna je sama o sobě schopna kontrakce a tangenciální trakce, či zda se na vzniku edému podílí jiným mechanismem.

## 3 Pacienti a metodika

### 3.1 Charakteristika hodnoceného souboru

Sledovali jsme 40 očí 35 pacientů, operovaných v letech 2002 - 2005 jedním chirurgem (I.F.) na oftalmologické klinice 3. LFUK a FNKV Praha. V souboru bylo 17 žen a 18 mužů ve věku 22 - 81 let (průměrný věk  $60,2 \pm 14,8$ ). Pacienti byli do souboru zařazeni pro zhoršení vizu pro progresi diabetického makulárního edému (DME), který nebylo možno ošetřit laserovou koagulací, nebo u kterých byla tato fotokoagulace neúspěšná. Soubor tudíž zahrnoval nemocné

- a) s difuzním ztluštěním makuly na podkladě difuzního prosakování,
- b) nemocné, u nichž byl sice fokální DME léčen fokální fotokoagulací, ale edém fovey přetrvával z důvodů prosakování z mikroaneuryzmat ve foveální avaskulární zóně, která nebylo možno koagulovat bez rizika destrukce fovey,
- c) nemocné s CME.

Po předoperačním vyšetření jsme u všech pacientů provedli pars plana vitrektomii s odstraněním epiretinálních membrán a s peelingem membrana limitans interna. Po operaci jsme sledovali změnu anatomického nálezu, změnu tloušťky makuly pomocí OCT, změnu zrakové ostrosti a komplikace. Epiretinální membrány a MLI jsme vyšetřovali histologicky. Statisticky jsme hodnotili anatomické i funkční výsledky.

### 3.2 Předoperační vyšetření

U všech pacientů byla zaznamenána anamnéza, přesné trvání makulárního edému se však u většiny nemocných nepodařilo určit. Vizus, stanovený pomocí tabule optotypů ETDRS, byl v rozmezí od 0,017 do 0,5 (průměr  $0,123 \pm 0,11$ ). Dále bylo provedeno měření nitroočního tlaku bezkontaktním tonometrem a byl vyšetřen přední segment oka se zaměřením na přítomnost neovaskularizací duhovky (NVI, které však u žádného oka nebyly zjištěny) a na stav čočky. 14 očí (35 %) bylo pseudofakických, katarakta byla přítomna u 8 očí (20 %), z nichž ve 4 případech (10 %) byla operována současně s vitrektomií. Indirektním oftalmoskopem bylo provedeno vyšetření sklivce a sítnice až do periferie. Oči s krvácením do sklivce či s trakčním odchlípením sítnice nebyly do souboru zařazeny. Bylo provedeno biomikroskopické vyšetření sítnice s použitím bezkontaktní čočky VOLK Superfield nebo kontaktní čočky typu Goldmann a bylo hodnoceno ztlustění makuly. Barevnou fotografií fundu jsme dokumentovali zejména přítomnost tvrdých lipidních ložisek. Fluorescenční angiografie (FAG) nebyla rutinně prováděna u všech pacientů, jelikož difuzní edém byl ve většině případů biomikroskopicky evidentní. Předoperační OCT nález jsme měli k dispozici u 20 očí (50 %), avšak bez kvantitativního hodnocení makulárního ztlustění.

### 3.3 Chirurgická technika

Všichni pacienti byli operováni v místním znecitlivění parabolární injekcí ropivacainu (Naropin, AstraZeneca, USA) nebo bupivacainu (Marcain, AstraZeneca, USA). Po incizi spojivky jsme provedli 3 sklerotomie 3,5 - 4mm od limbu, fixovali infuzní kanylu pro Ringerův roztok a po přiložení plankonkávni kontaktní čočky na rohovku jsme zavedli endoiluminátor a vitrektom. S pomocí zvýšeného infúzního tlaku (cca 35mmHg) a zvýšené aspirace (400mmHg) jsme vitrektomem chirurgicky odloučili zadní sklivcovou membránu, která u naprosté většiny pacientů adherovala k sítnici. Odloučení zadní sklivcové membrány bylo potvrzeno přítomností Weissova prstence. Poté byla zadní sklivcová membrána resekována do střední periferie. Makula byla vyšetřena na přítomnost epimakulární membrány; pokud tato byla přítomna, sloupili jsme ji s použitím membránové pinzety a odeslali k histologickému vyšetření. Povrch sítnice byl poté na několik sekund vystaven působení několika kapek membránové modři (Membrane Blue®, Dorc International, Nizozemsko) za účelem obarvení MLI. Po odsátí barviva jsme s použitím silikonového scraperu s diamantovým prachem (Tano diamond-dusted scraper, Synergetics, USA) provedli

jemnou rhexi MLI, aniž bychom traumatizovali vrstvu nervových vláken. Speciální pinzetou na MLI (Tano Forceps, Synergetics, USA) byl dokončen peeling MLI z oblasti makuly co nejbližší cévním arkádám. Při tomto peelingu jsme používali techniku cirkulární rhexe, avšak MLI se u diabetiků často trhá na fragmenty. Během chirurgické manipulace na zadním pólu jsme důsledně používali tlumenější endoiluminaci a světelnou sondu jsme drželi ve větší vzdálenosti od sítnice, abychom eliminovali případné fototoxické poškození sítnice. Odstraněnou část MLI jsme odeslali k histologickému vyšetření. Poté jsme resekovali periferii sklivce včetně sklivcové baze až k ora serrata s použitím techniky indentace. Případné díry či trhliny sítnice jsme ošetřili endolaserovou retinopexí v rámci profylaxe odchlípení sítnice a v těchto případech jsme použili vnitřní tamponádu sterilním vzduchem, ojediněle expanzivním plynem. U nekomplikovaných operací jsme vnitřní tamponádu nikdy nepoužili. Po revizi ora serrata při všech sklerotomiích jsme provedli suturu skléry i spojivky vstřebatelným polyglactinovým stehem 7/0, resp. 8/0 (Vicryl, Ethicon Inc., USA) a pod spojivku aplikovali 0,5ml dexamethasonu (Dexona®, Cadila Healthcare, Indie). Pooperační polohování tváří dolů zahrnovalo pouze pacienty s vnitřní tamponádou, ostatní pacienti dodržovali polohu libovolnou. U žádného pacienta jsme neprováděli dodatečnou laserovou koagulaci makuly ani peroperačně, ani později při kontrolách v ambulanci. Pokud jsme při operaci použili endolaser, bylo to výhradně v periferii sítnice k ošetření ischemických zón v sousedství neovaskularizací nebo k ošetření trhlín sítnice.

### **3.4 Histologické vyšetření**

Vzorky membrán byly zasílány do histologické laboratoře buďto ve formolovém fixativu v Eppendorfově zkumavce (případy, u kterých bylo zamýšleno zpracování klasickou histologickou technikou parafinových řezů, většinou epiretinální membrány) anebo přímo na podložním sklíčku bez fixáže (u případů, kde nebyla předpokládána zpracovatelnost materiálu klasickou technikou parafinových řezů, zpravidla membrana limitans interna). Klasická histologická technika parafinových řezů je sice náročnější na objem a mechanickou odolnost zpracovávané tkáně (takže např. jemný materiál MLI by většinou tuto proceduru nevydržel a rozpadl by se), její výhodou však je zase možnost zhotovit z materiálu více řezů, které je pak možno kromě základního barvení hemaxylinem-eosinem obarvit i speciálními barveními, včetně imunohistochemických. To pak umožňuje podrobnější a jistější strukturální analýzu vyšetřovaného materiálu.

Hodnocení materiálu zpracovávaného klasickou parafinovou histologií i popsaným postupem obdobným cytologii (materiál uložený přímo na podložní sklíčko) prováděl jeden patolog (J.Š.) s použitím histologického mikroskopu poskytujícího možná zvětšení 12,5x, 50x, 125x, 500x a 1250x. MLI se v preparátech v případě histologických řezů jevila jako páskovitý, během zpracování zprohýbaný eosinofilní útvar, na který v různé míře adherovala eventuelní buněčná komponenta proliferace. Případná cévní lumina bylo v proliferaci možno rozpoznávat většinou již bez speciálních barvení (pokud v ní byly cévy přítomny). K rozlišení typů a původu buněk v proliferaci jinak kromě jejich samotné morfologie v případě klasického histologického zpracování někdy pomohla významně i speciální barvení imunohistochemická (např. na GFAP, aktin, CD34, CD68, atd.).

### **3.5 Statistické hodnocení**

Výsledky jsou uváděny jako průměr  $\pm$  směrodatná odchylka (sd), případně jako medián a rozmezí hodnot (minimum - maximum). Kvalitativní údaje (věk, stav čočky, komplikace apod.) jsou uváděny v procentech. Pro statistické hodnocení jsme použili párový t-test, výpočet korelačního koeficientu, lineární regresní analýzu a Fischerův test ve čtyřpolní tabulce.

## **4 Výsledky**

### **4.1 Zlepšení nálezu a vizu**

Po operaci jsme hodnotili pooperační stav 40 očí 35 pacientů s difuzním či cystoidním diabetickým makulárním edémem, u kterých byla pro zhoršení vizu provedena vitrektomie s peelingem MLI. Sledovali jsme průběh hojení oka, vizus, nitrooční tlak, stav čočky, stav sítnice a zejména nález v makule, tedy ztlustění sítnice, přítomnost cystoidního edému a množství lipidních tvrdých ložisek. Používali jsme stejných vyšetřovacích metod jako před operací. Pacienty jsme sledovali od 1 do 32 měsíců (průměrná sledovací doba byla 8,5 měsíců  $\pm$  6,7); 27 očí (67,5 %) mělo delší sledovací dobu než 5 měsíců. Demografické údaje shrnuje tab.2.

Tab. 2. Soubor 40 očí 35 pacientů.

Pac. číslo	Pohlaví	Věk	Vizus před	Vizus po	Zlepšení vizu	Počet řádků	Anatom. zlepšení	OCT	Sledovací doba	Čočka	Komplikace
1	M	54	0,056	0,100	Ano	2	Idem	Není	4	Cat Oper	Cat/progrese
2	Ž	57	0,067	0,125	Ano	2	Ano	Zlepšení	13	IOL	NOT
3	M	45	0,100	0,250	Ano	4	Ano	Není	1	IOL	NOT
4	M	47	0,167	0,167	Idem	0	Ano	Není	8	0 Cat	0
5	Ž	80	0,056	0,083	Ano	1	Ano	Není	6	IOL	0
6	M	26	0,050	0,025	Zhoršen	-2	Ano	Není	3	Cat	Cat + Trhlina Síť
7	M	26	0,100	0,500	Ano	7	Ano	Není	8	0 Cat	Trhlina Síť
8	Ž	74	0,067	0,100	Ano	2	Ano	Zlepšení	14	Cat Oper	Cat + Trhlina Síť
9	M	68	0,250	0,333	Ano	1	Ano	Není	5	IOL před	0
10	Ž	72	0,033	0,100	Ano	2	Ano	Není	10	PPL+ IOL	0
11	M	61	0,040	0,033	Ano	1	Zhoršení	Zhoršení	13	Fako+PPV	0
12	M	22	0,250	0,667	Ano	4	Ano	Není	11	0 Cat	0
13	Ž	56	0,333	0,667	Ano	3	Idem	Zlepšení	3	0 Cat	NOT
14	Ž	81	0,033	0,400	Ano	11	Ano	Zlepšení	5	0 Cat	0
15	M	56	0,025	0,200	Ano	7	Ano	Není	5	0 Cat	Trhlina Síť
16	Ž	61	0,056	0,050	Idem	0	Ano	Není	9	Cat	Cat i Krvácení
17	M	70	0,100	0,667	Ano	8	Ano	Zlepšení	26	IOL	0
18	Ž	71	0,050	0,050	Idem	0	Ano	Není	7	IOL	Trhlina Síť + BRVO
19	Ž	60	0,067	0,050	Zhoršen	-1	Ano	Není	4	IOL	0
20	M	59	0,025	0,250	Ano	7	Ano	Zlepšení	12	0 Cat	Trhlina Síť
21	M	35	0,167	0,250	Ano	3	Idem	Není	3	0 Cat	0
22	M	52	0,250	0,200	Zhoršen	-1	Ano	Není	32	Cat idem	Trhlina Síť
23	Ž	69	0,017	0,100	Ano	3	Idem	Není	5	0 Cat	0
24	Ž	70	0,500	1,000	Ano	2	Ano	Zlepšení	17	IOL	0
25	M	44	0,100	0,167	Ano	2	Ano	Idem	12	0 Cat	0
26	M	44	0,250	0,667	Ano	4	Ano	Není	2	0 Cat	0
27	Ž	60	0,250	0,250	Idem	0	Zhoršení	Idem	3	Cat Idem	0
28	M	57	0,200	0,003	Zhoršen	-8	Zhoršení	Idem	8	PPL+ IOL	OS recid.
29	M	71	0,100	0,160	Ano	2	Zhoršení	Idem	1	IOL	0
30	M	58	0,100	0,250	Ano	4	Ano	Idem	17	Cat Oper	Cat/progrese
31	M	60	0,100	0,250	Ano	4	Ano	Zlepšení	7	0 Cat	Krvácení
32	Ž	71	0,167	0,400	Ano	4	Ano	Zlepšení	3	IOL	0
33	Ž	71	0,100	0,200	Ano	3	Zhoršení	Idem	2	IOL	0
34	M	79	0,100	0,050	Zhoršen	-2	Ano	Idem	14	IOL	0
35	Ž	70	0,040	0,250	Ano	7	Ano	Zlepšení	7	IOL	0
36	Ž	67	0,333	0,400	Ano	1	Ano	Není	12	Fako+PPV	0
37	Ž	67	0,025	0,200	Ano	6	Ano	Není	3	0 Cat	0
38	M	73	0,083	0,125	Ano	2	Ano	Zlepšení	16	0 Cat	0
39	M	73	0,083	0,167	Ano	3	Ano	Zlepšení	5	0 Cat	0
40	Ž	72	0,025	0,031	Ano	1	Idem	Není	2	IOL	0

*Legenda k tab.2:*

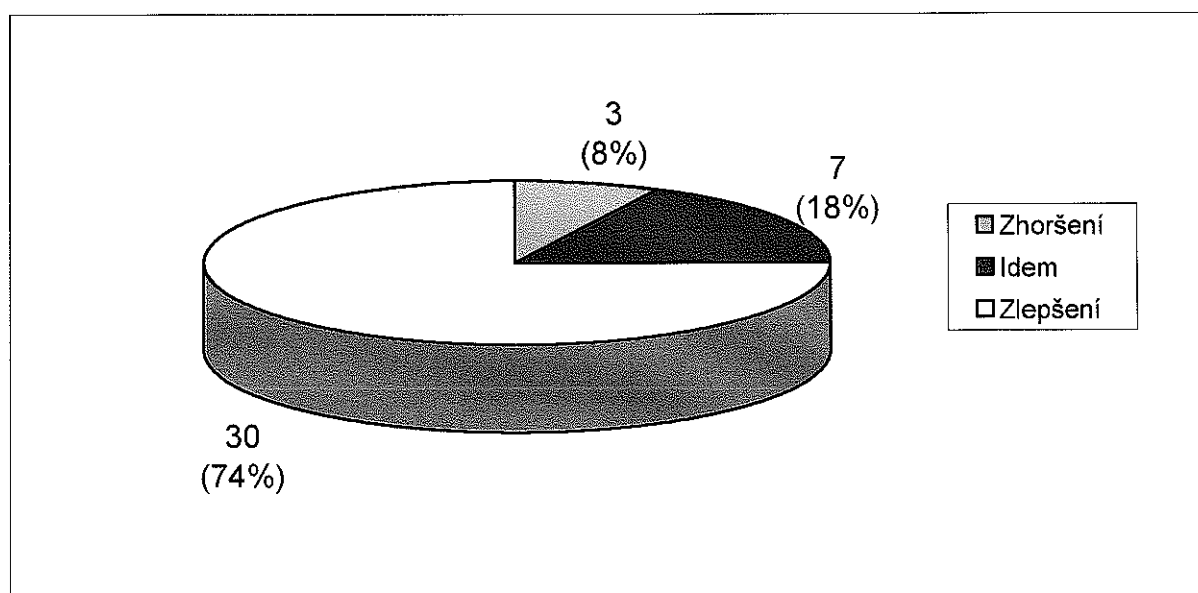
Ž: žena; M: muž; Vizus před: vizus před operací; Vizus po: vizus po operaci; Anatom. zlepšení: anatomické zlepšení; Cat oper: katarakta, operovaná po PPV; IOL: pseudofakie před PPV; 0 Cat: katarakta nevznikla; PPL+IOL: lensektomie s implantací v rámci vitrektomie; Fako+PPV: fakoemulzifikace s implantací v rámci vitrektomie; Cat idem: katarakta bez progrese; NOT: zvýšený nitrooční tlak; Cat/progrese: vznik nebo progrese katarakty; Trhlina Síť: trhlina sítnice; Krvácení: krvácení do sklivce; BRVO: okluze větve v. centralis retinae.

Anatomické zlepšení (tab. 3, graf 1) v podobě ústupu ztlustění makuly, regrese CME, pozorované biomikroskopicky, či ústupu lipidních exsudátů nastalo u 30 očí (75 %). U dalších 7 očí (17,5 %) bylo zlepšení nejisté, případně byl nález beze změn. U 3 očí (7,5 %) se anatomický nález zhoršil: 1. v podobě recidivy CME na tupozrakém oku (pacient č. 34); 2. v podobě progresu makulárního ztlustění (pacient č. 12, u něhož však chybí kvantifikace pomocí OCT) a 3. v podobě odchlípení sítnice u pacienta č. 29 (viz komplikace).

Tab. 3. Změna anatomického nálezu po operaci (n = 40).

Změna anatomického nálezu		Počet očí	%
Zlepšení tloušťky/edému/exsudátů		30	75
Nález beze změn/zlepšení nejisté		7	17,5
Nález zhoršen	Recidiva CME	3	7,5
	Progrese ztlustění		
	Odchlípení sítnice		
Celkem		40	100

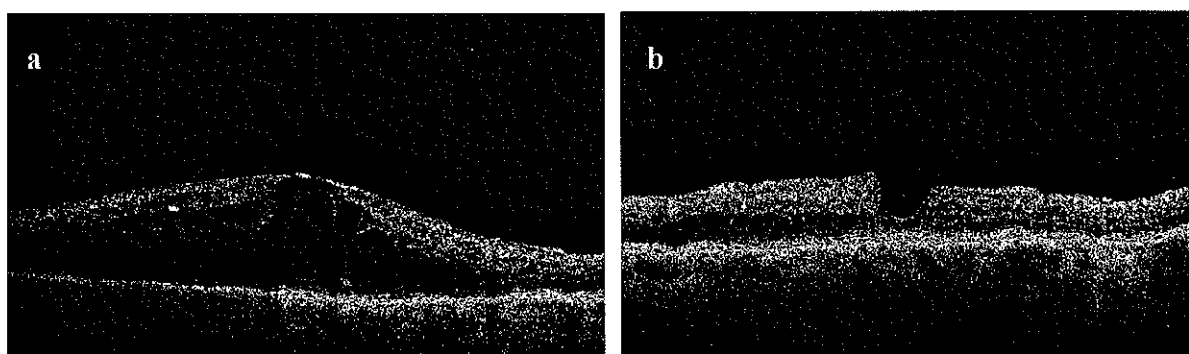
Graf 1. Změna anatomického nálezu po operaci (n = 40).



Vyšetření OCT před operací i po operaci (tab. 4, graf 2) jsme měli k dispozici u 20 pacientů (50 %). Zlepšení OCT nálezu ve smyslu úbytku makulárního ztlustění nastalo u 12 očí (60 %), u 7 očí (35 %) se OCT nálezh nezměnil, nálezh na OCT se zhoršil u 1 pacienta (5 %).

Tab. 4. Změna nálezu OCT po operaci (n = 20).

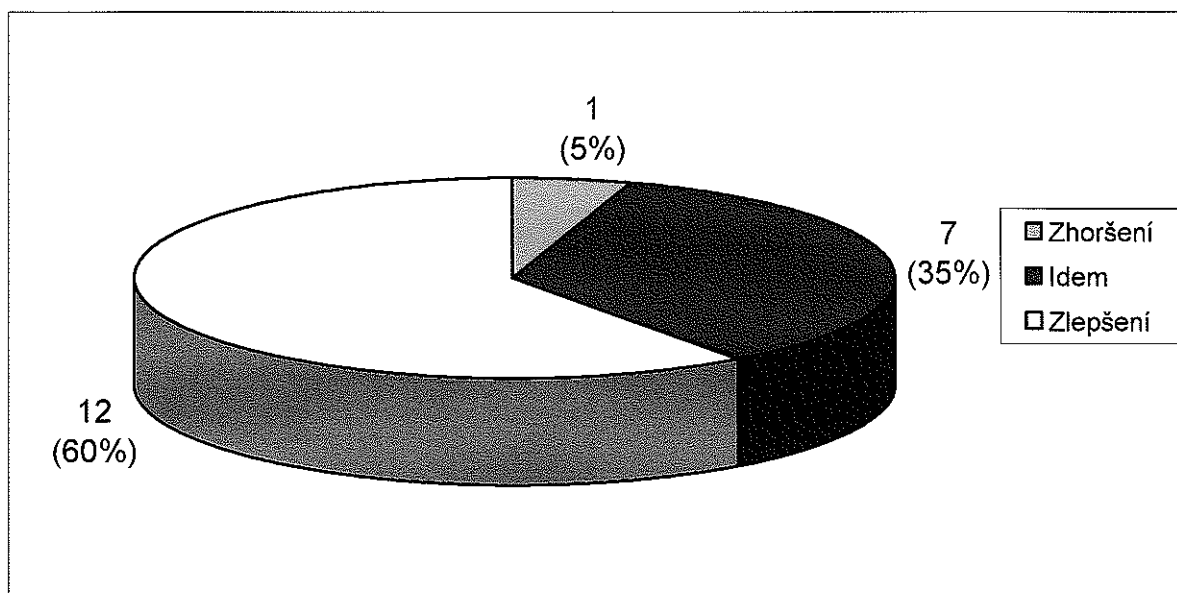
Změna OCT nálezu	Počet očí	%
Úbytek ztlustění makuly na OCT	12 očí	(60%)
Nález nezměněn	7 očí	(35%)
Progrese ztlustění makuly	1 oko	( 5%)
Celkem	20	100



Obr. 2 a) (pacient č. 14). OCT před operací. Těžký CME v celé tloušťce sítnice. Vizus 2/60.  
b) (pacient č. 14). OCT po operaci. Ústup edému. Vizus 4/10.

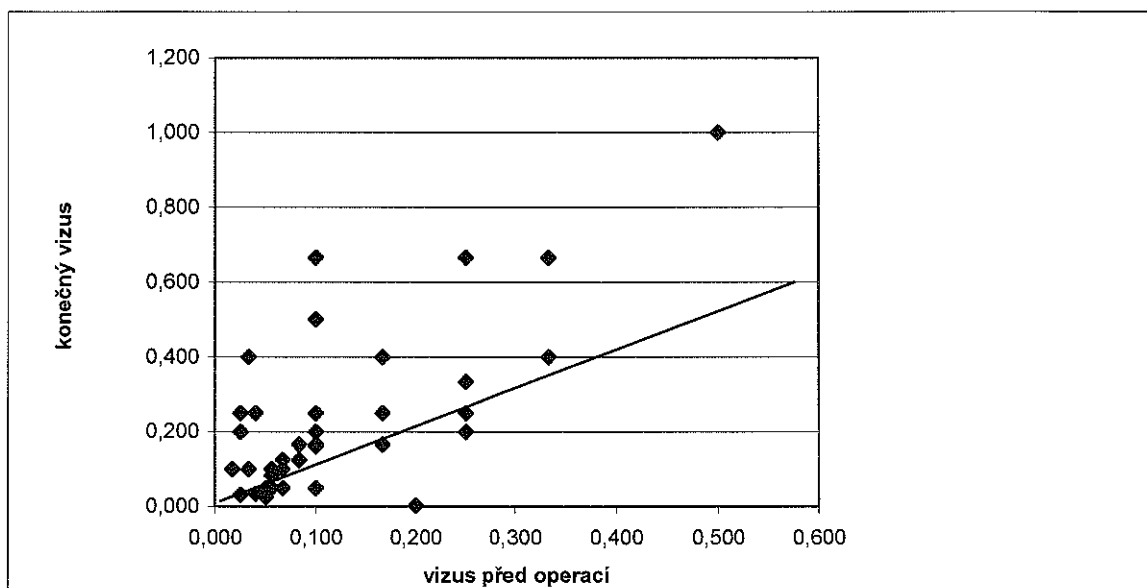


Graf 2. Změna nálezu OCT po operaci (n = 20).



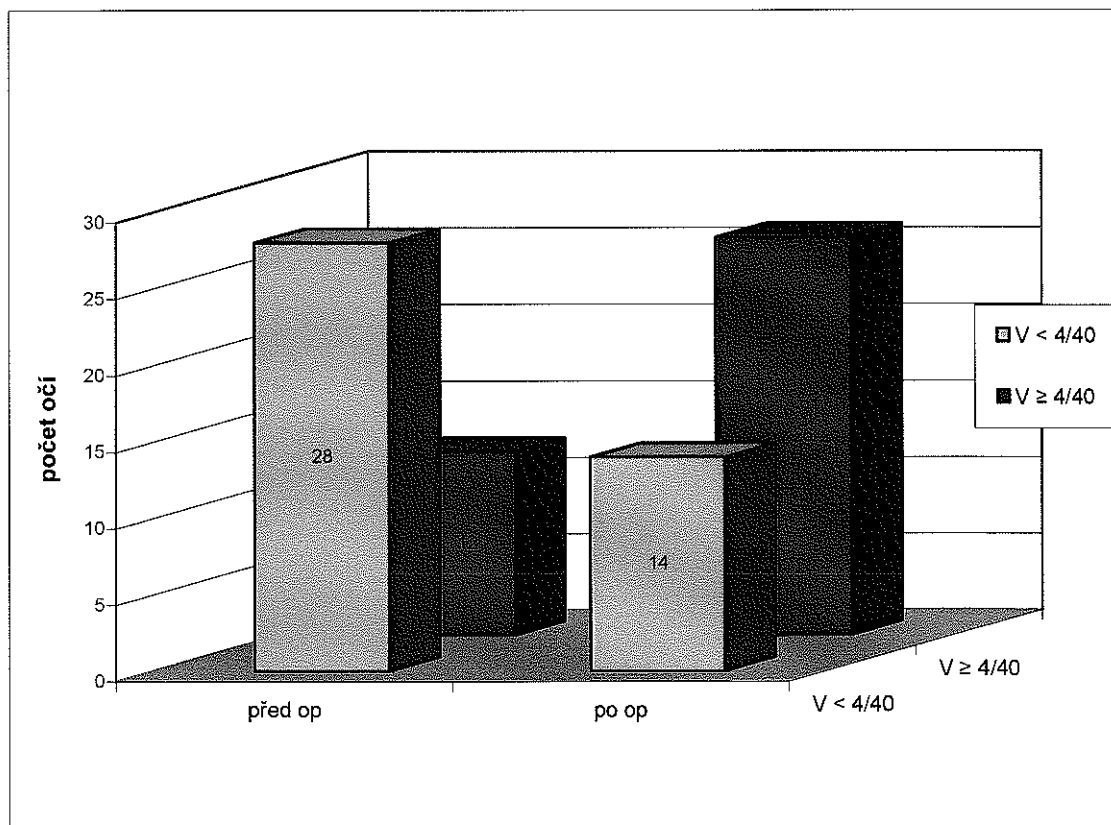
Významného zlepšení zrakové ostrosti bylo dosaženo u většiny nemocných (graf 3).

Graf 3. Změna zrakové ostrosti po operaci – úhlopříčkový graf (n = 40).



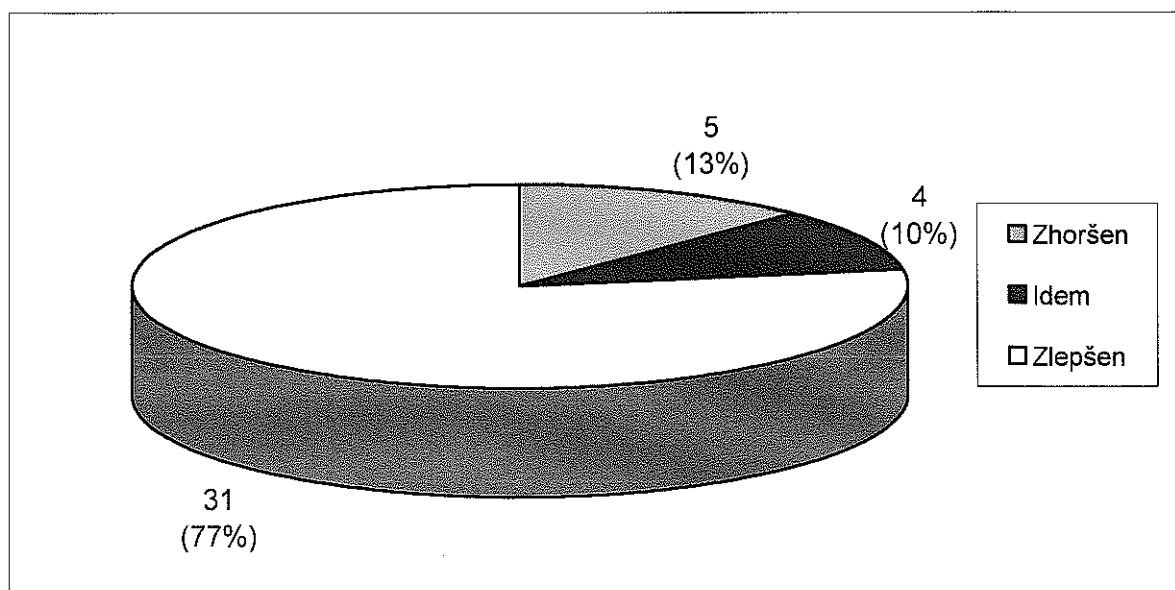
Před operací mělo 28 očí (70 %) vizus 4/40 a horší; pouze 12 očí (30 %) mělo vizus lepší než 4/40. Po operaci se tento poměr obrátil: 14 očí (35 %) mělo vizus 4/40 a horší a 26 očí (65 %) mělo vizus lepší než 6/60. Tento posun vizu ilustruje graf 4.

Graf 4. Změna poměru kategorií vizu po operaci (n = 40).



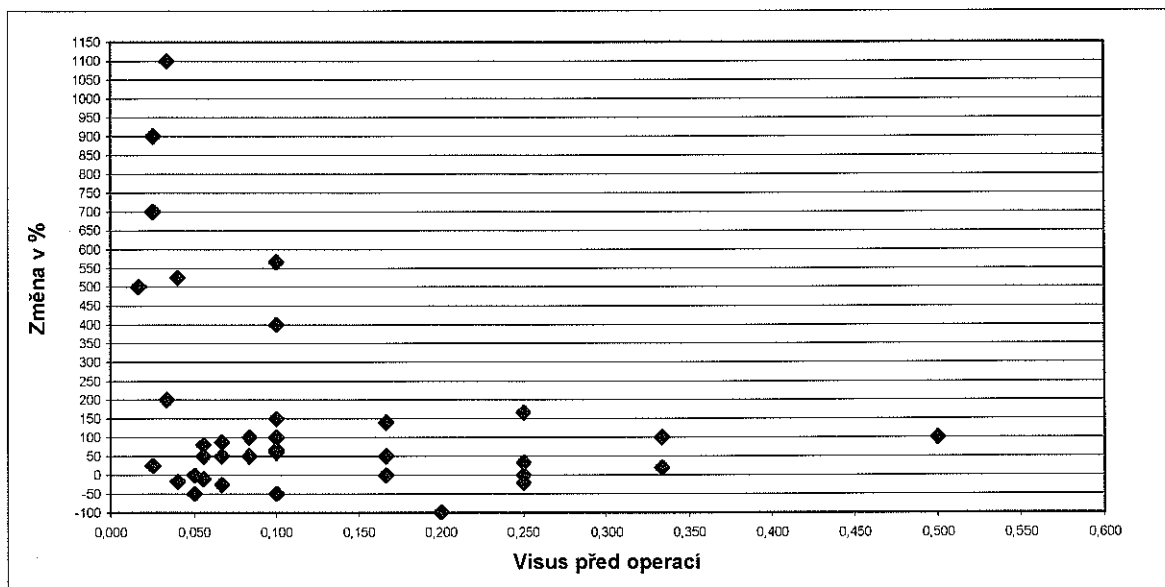
Průměrná zraková ostrost se statisticky významně zlepšila (graf 5) z předoperační hodnoty  $0,123 \pm 0,11$  na  $0,248 \pm 0,22$  ( $p < 0,001$ ).

Graf 5. Změna vizu po operaci (n = 40).



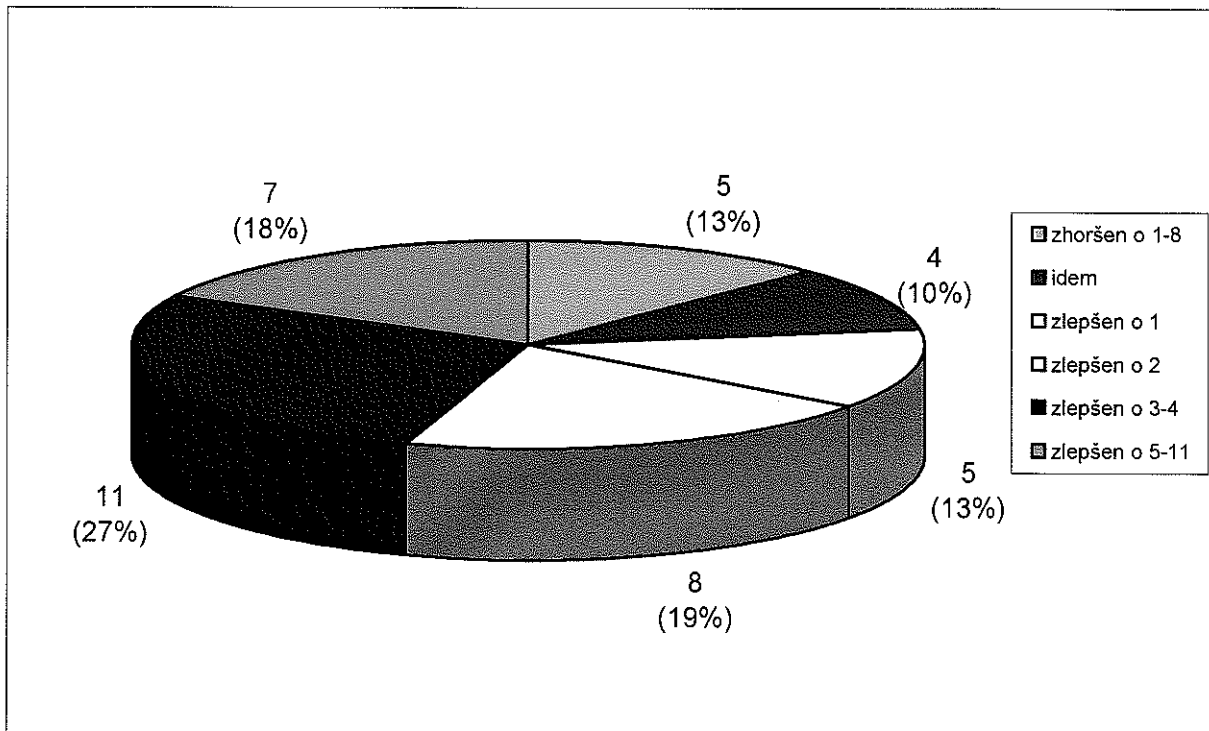
Pokud vyjádříme zlepšení v procentech výchozí hodnoty (graf 6), je střední zlepšení (medián) 84 % (rozmezí -99 % až +1100 %).

Graf 6. Změna vizu po operaci v procentech (n = 40).

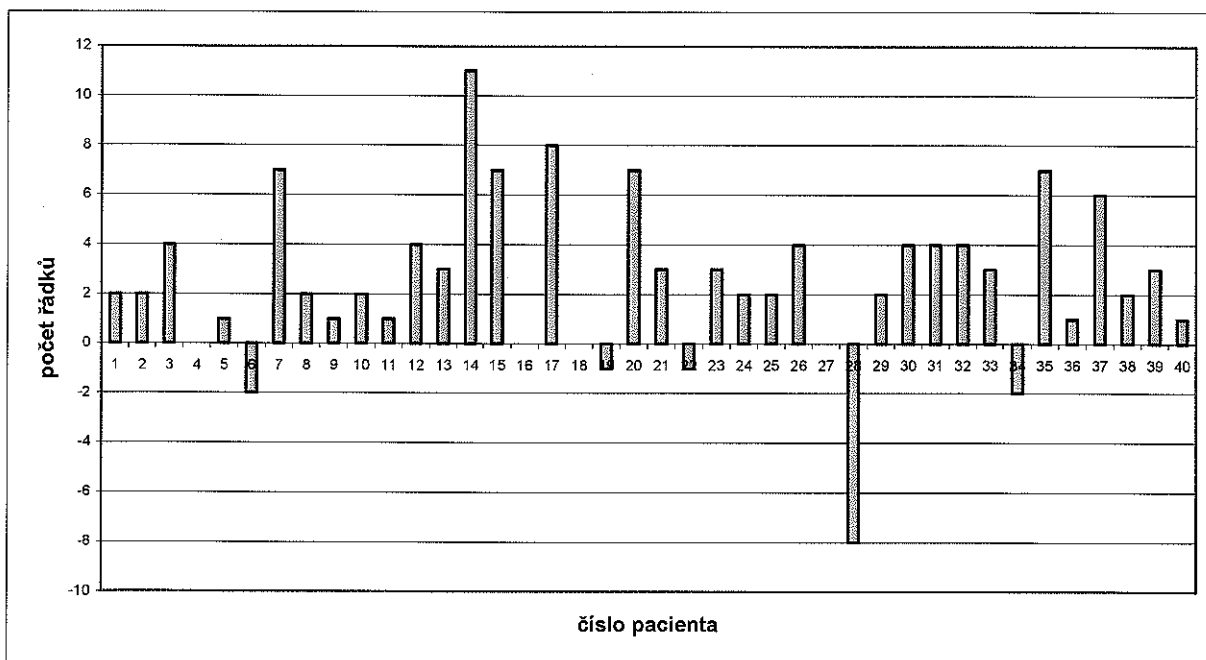


Funkční zlepšení vizu, měřeno počtem získaných řádků ETDRS optotypů (graf 7 a 8) je v průměru  $+2,5 \pm 3,3$  řádku (rozmezí -8 až +11).

Graf 7. Změna vizu po operaci vyjádřená počtem řádků ETDRS (n = 40).



Graf 8. Změna vizu po operaci vyjádřená počtem řádků u jednotlivých pacientů (n = 40).



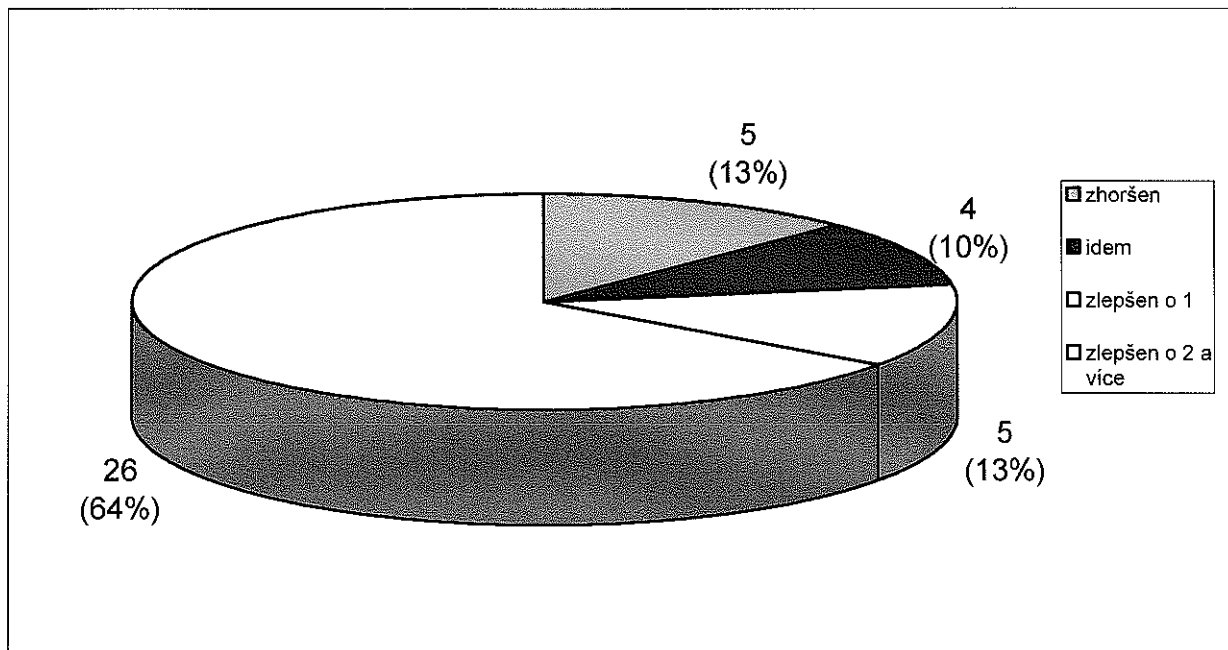
Zlepšení nastalo u 31 očí (77,5 %), vizus zůstal beze změn u 4 očí (10 %) a zhoršil se u 5 očí (12,5 %). Pět očí (12,5 %) mělo vizus zlepšen o 1 řádek, 8 očí (20 %) o 2 řádky, 11 očí (27,5 %) o 3 - 4 řádky a 7 očí (17,5 %) o 5 - 11 řádků (Tab.5).

Tab.5. Změna vizu po operaci (n = 40).

Změna vizu	Počet očí	%	Z toho: počet očí	Počet řádků zlepšení	%
Zlepšení vizu	31	77,5	5	1	12,5
			8	2	20
			11	3 – 4	27,5
			7	5 - 11	17,5
Vizus beze změn	4	10			
Zhoršení vizu	5	12,5			
Celkem	40	100			

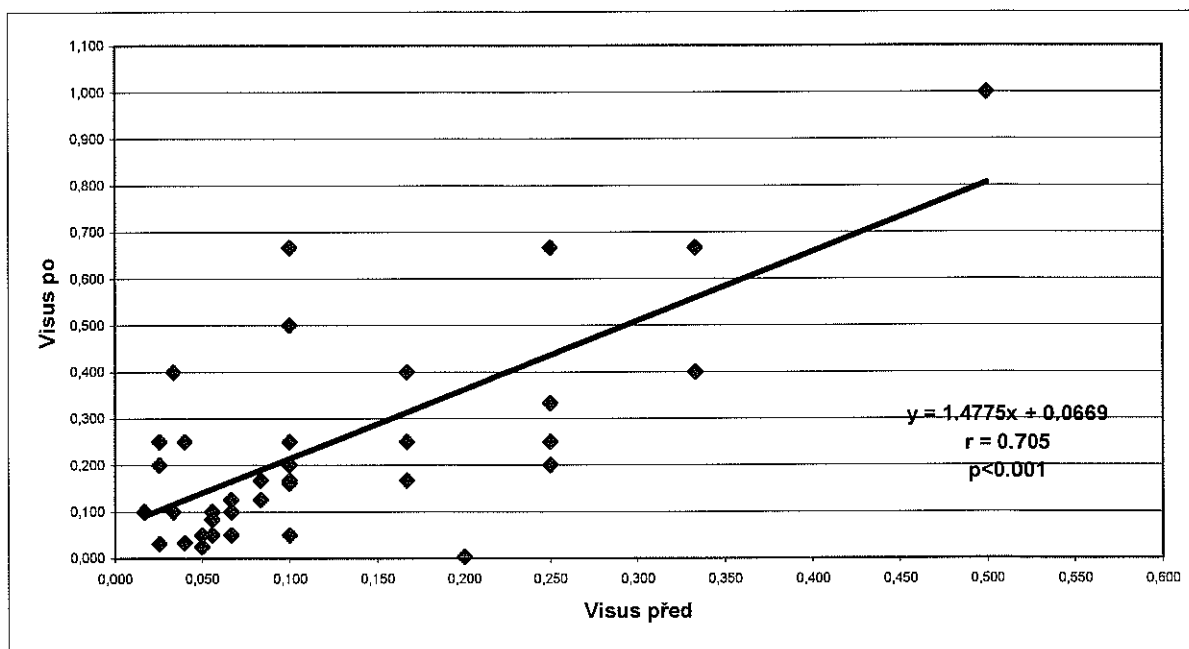
Zlepšení vizu o 2 řádky a více jsme pozorovali u 26 očí (65 %), jak ukazuje graf 9.

Graf 9. Zlepšení vizu po operaci o 2 řádky a více (n = 40).

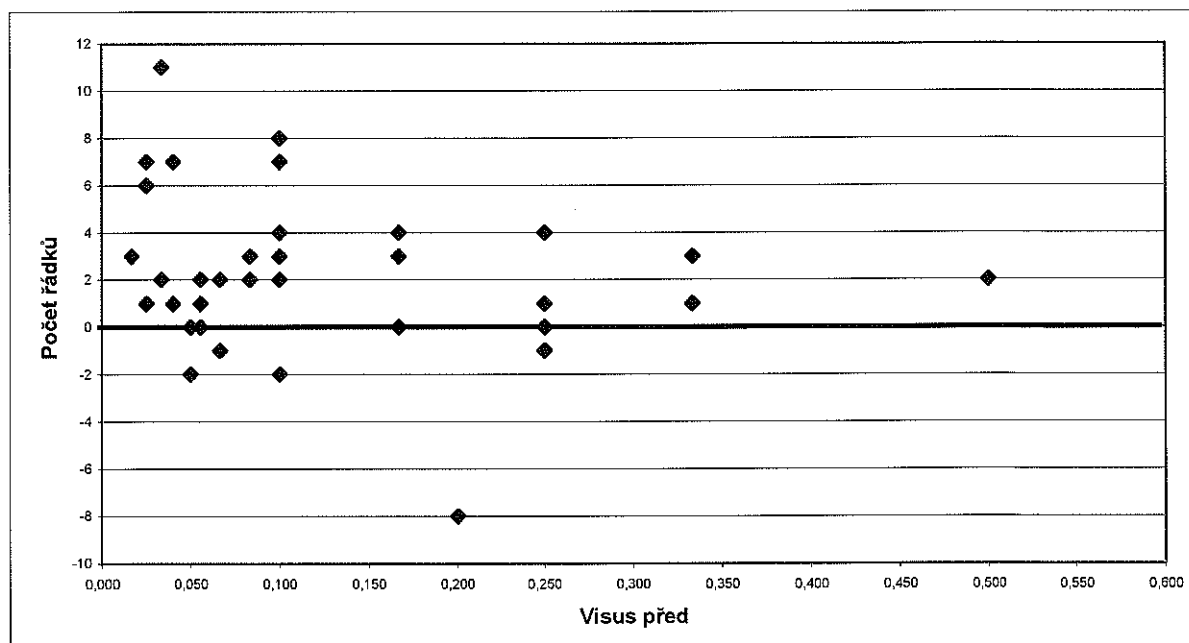


Regresní analýza (graf 10) prokázala statisticky významnou závislost výsledného vizu na předoperačním vizu ( $r = 0,705$ ,  $p < 0,001$ ). Největšího nárůstu zrakové ostrosti dosáhli pacienti s vizem horším než 0,10 (graf 11).

Graf 10. Regresní analýza – závislost výsledného vizu na předoperačním vizu (n = 40).

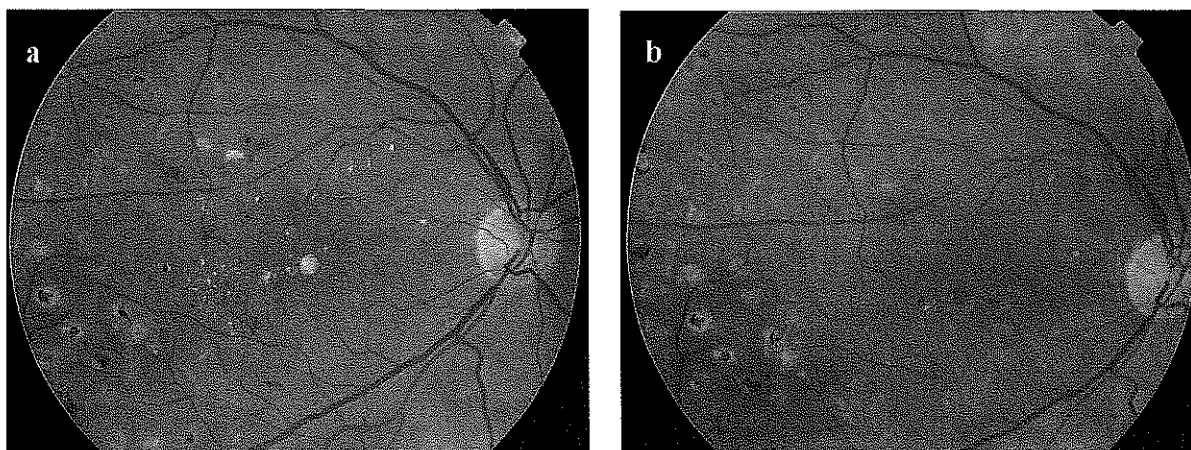


Graf 11. Počet řádků zlepšení vizu po operaci u jednotlivých kategorií vizu (n = 40).



U očí s přítomností tvrdých ložisek se podařilo dosáhnout zřetelného ústupu těchto ložisek až jejich úplného vymizení, a to i v případě rozsáhlých lipoidních plaků, jak ilustrují obr. 3 a obr. 4.

U žádného z pacientů jsme nedoplňovali laserovou léčbu makuly, tento efekt je rovněž nutno přičíst vlivu operace samé.



Obr. 3 a) (pacient č. 20) Plak tvrdých ložisek v centru makuly. Vizus počítání prstů.  
 b) (pacient č. 20) Po operaci ústup tvrdých ložisek. Po 12 měsících vizus 4/16.



Obr. 4 a) (pacient č. 16) Těžký chronický plakoidní edém celého zadního pólu. Vizus 2/40.  
 b) (pacient č. 16) Ústup edému i plaků. Vizus po 9 měsících zůstává 2/40.

## 4.2 Peroperační komplikace

U 33 očí (82,5 %) se nevyskytly žádné peroperační komplikace. U 7 očí (17,5 %) byla během operace nalezena trhlina sítnice, častěji v periférii, kde buď byla přítomna před operací, nebo byla způsobena iatrogeně odlučováním pevně adhezujícího sklivce, ojediněle byla trhlina skryta pod epiretinální fibrovaskulární membránou při cévní arkádě. Tyto dehiscence jsme ošetřili ošetřeny endolaserem a na závěr operace jsme použili tamponádu sterilním vzduchem či expanzivním plynem. V žádném z těchto případů nevzniklo odchlípení sítnice. Peroperační i pooperační komplikace ukazuje tab. 6a, 6b a graf 12.

Tab. 6a. Peroperační a pooperační komplikace (n = 40).

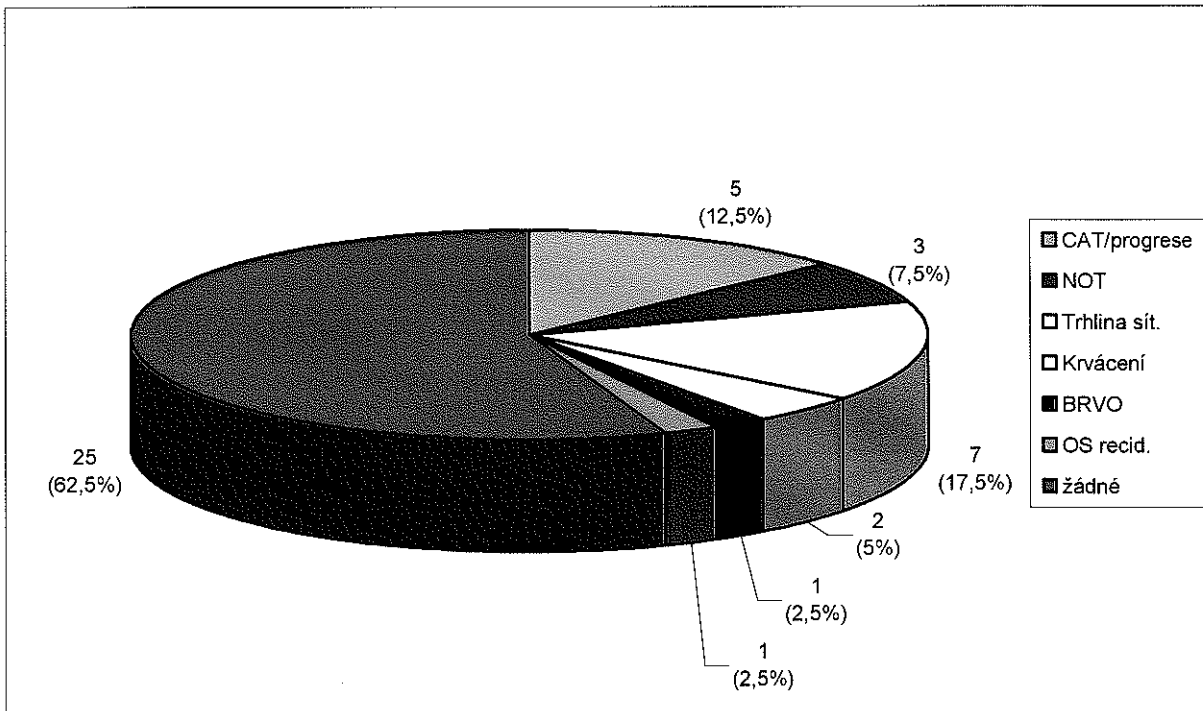
Počet komplikací	Počet očí	%
Žádné komplikace	25	62,5
Pouze 1 komplikace	11	27,5
Současně 2 komplikace	4	10
Celkem		100

Tab. 6b. Druhy peroperačních a pooperačních komplikací (n = 40).

Druh komplikace	Počet očí	%
Trhlina sítnice	7	17,5
Katarakta (vznik či progrese)	5	12,5
Vzestup nitroočního tlaku	3	7,5
Krvácení do sklivcového prostoru	2	5
Okluze větve v. centralis retinae	1	2,5
Rhegmatogenní odchlípení sítnice	1	2,5



Graf 12. Počet peroperačních a pooperačních komplikací (n = 40).



*Legenda:*

CAT/progrese: vznik či progrese katarakty po operaci; NOT: elevace NOT; Trhlina síť.: trhlina sítnice, zjištěná peroperačně; BRVO: okluze větve centrální vény; OS recid.: recidivující odchlípení sítnice.

### 4.3 Pooperační komplikace

U 25 očí (62,5 %) jsme nezaznamenali žádné pooperační komplikace. U 15 očí (37,5 %) se vyskytla 1 - 2 pooperační komplikace. U 5 očí se s odstupem několika měsíců po operaci objevila katarakta, případně progredovala katarakta již přítomná před operací. Hodnocením katarakty se zabývá další odstavec. U 3 očí byl zjištěn v pooperačním období vzestup nitroočního tlaku v rozmezí 24 – 30 mmHg. Ve všech případech byl tento vzestup přechodný a vyžádal si pouze několikadenní topickou terapii betablokátorů. U 2 očí vzniklo s odstupem 6, resp. 11 měsíců krvácení do sklivcového prostoru, které se spontánně resorbovalo během několika dnů a nevyžádalo si laváž. U 1 oka se obraz zhoršil pro okluzi větve centrální sítnicové žíly. Jednalo se však spíše o chronický nálezn, pozorovaný i před operací, způsobený dekompenzovanou hypertenzí a velmi špatnou kompenzací diabetu při jeho pozdní diagnóze. U 1 pacienta, u kterého zprvu nastalo anatomické i funkční zlepšení, se stav změnil 7 měsíců po operaci pro rhegmatogenní odchlípení sítnice s rozvojem PVR C3, pro něž jsme museli

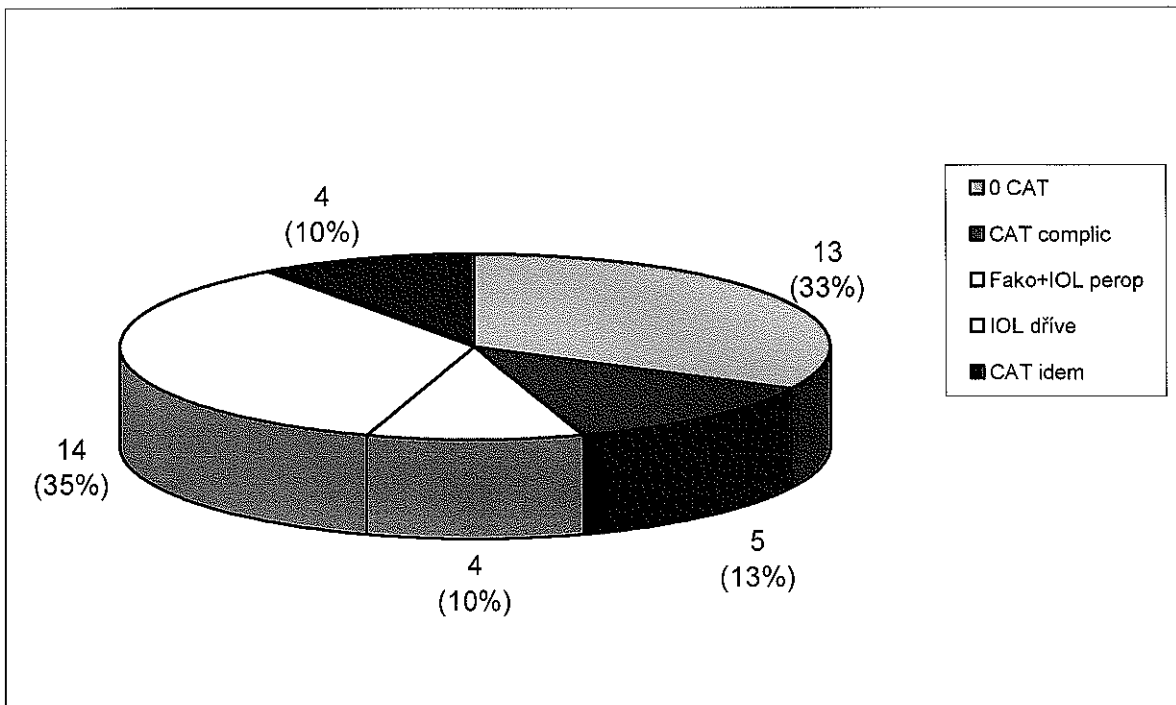
oko dvakrát reoperovat s použitím tamponády expanzivním plynem a později silikonovým olejem. Přes úspěšné přiložení sítnice byl konečný vizus snížený na 1/400.

Nepozorovali jsme žádné komplikace vzniklé peelingem vnitřní limitující membrány per se, jako makulární díru, perimakulární díry, cévní okluze, defekty perimetru apod.

#### 4.4 Katarakta

Hodnocení katarakty ukazuje tab. 7 a graf 13.

Graf 13. Hodnocení stavu čočky po operaci (n = 40).



*Legenda:*

0 CAT: katarakta nevznikla; CAT complic: katarakta vznikla či progredovala; Fako+IOL perop: během PPV provedena fakoemulzifikace s implantací IOL; IOL dříve: oko již před operací pseudofakické; CAT idem: katarakta bez progresu po operaci.

14 očí (35 %) bylo již před operací pseudofakických. U 13 očí (33 %) katarakta nevznikla. U 4 očí (10 %) katarakta, přítomná již před operací, nevykazovala po operaci známky progresu. U 4 očí (10 %) byla na začátku vitrektomie provedena fakoemulzifikace katarakty s implantací umělé čočky, z toho 2x technikou pars plana lensektomie. U 5 očí (13 %) po operaci progredovala katarakta, z toho u 3 očí byla později operována.

Tab. 7. Hodnocení stavu čočky po operaci (n = 40).

Stav čočky	Počet očí	%	Komentář
Pseudofakie před PPV	14	35	
Katarakta nevznikla	13	33	
Katarakta bez progresse	4	10	
Fakoemulzifikace + IOL během PPV	4	10	2x Fako + IOL
			2x PPL + IOL
Progrese katarakty	5	13	3x Fako + IOL 2x operace netřeba
Celkem	40	100	

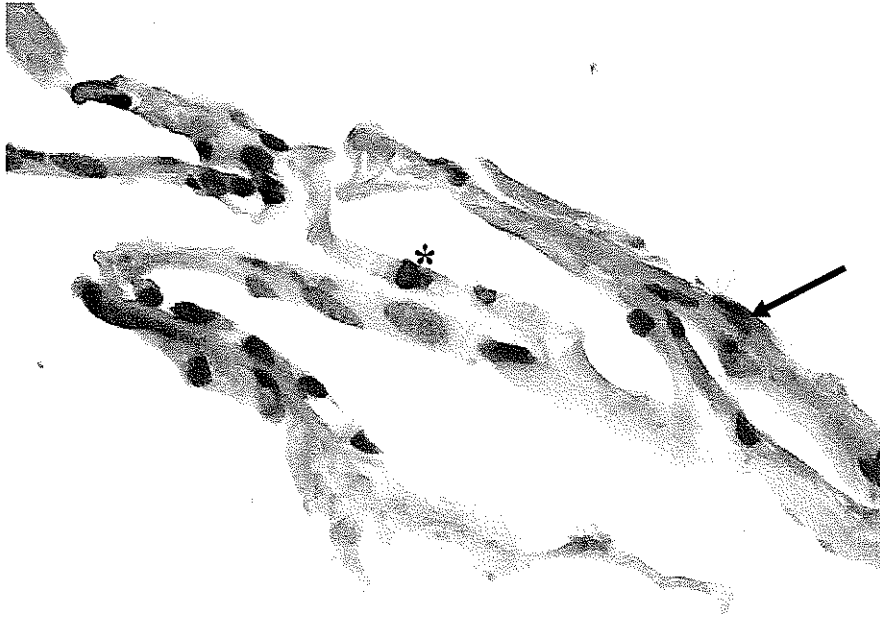
*Legenda:*

Fako: fakoemulzifikace; IOL: umělá nitrooční čočka; PPL: pars plana lensektomie

#### 4.5 Histologické nálezy

Histologické preparáty, které byly hodnotitelné u 10 pacientů, ukázaly, že z povrchu sítnice byly odstraněny dva typy membrán.

Prvním typem byly epiretinální membrány (ERM), které jsme z povrchu sítnice odstraňovali po chirurgickém odloučení zadní plochy sklivce, zpravidla ještě před barvením membránovou trypanovou modří, byly buněčné, někdy tenké, jednovrstevné (obr. 5), někdy vícevrstevné, tvořené převážně drobnějšími buňkami tvarů okrouhlých i poloprotáhlých, původu gliového, s přechodnými tvary charakteru myofibroblastu.



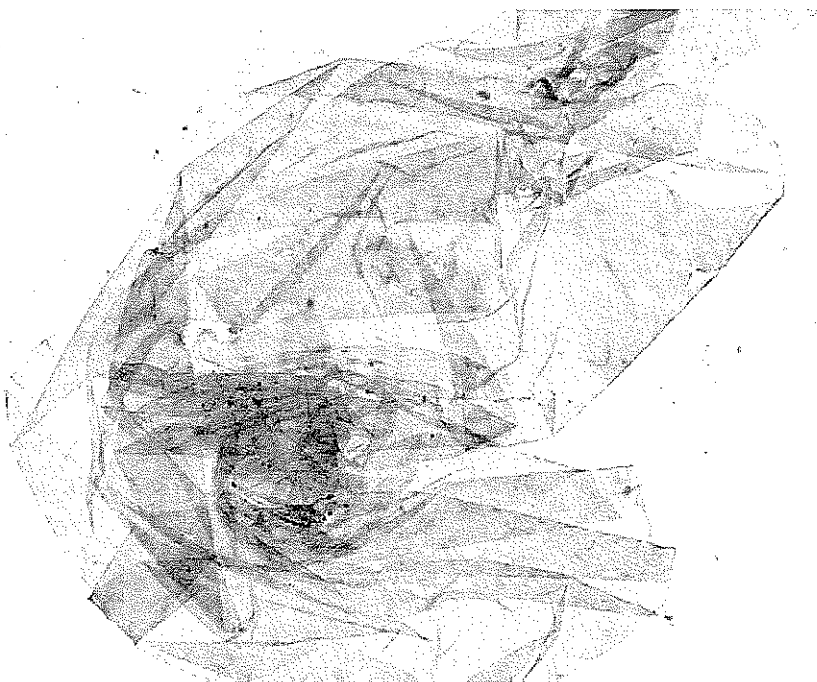
Obr. 5. Epiretinální membrána (pacient č. 14). Buněčná formace tvořená převážně z myofibroblastů (označeno šipkou) a zčásti i z glie (označeno hvězdičkou), kopírující povrch membrány, která zde není v materiálu obsažena. Zvětšení 500x. Parafinový řez, barvení HE.



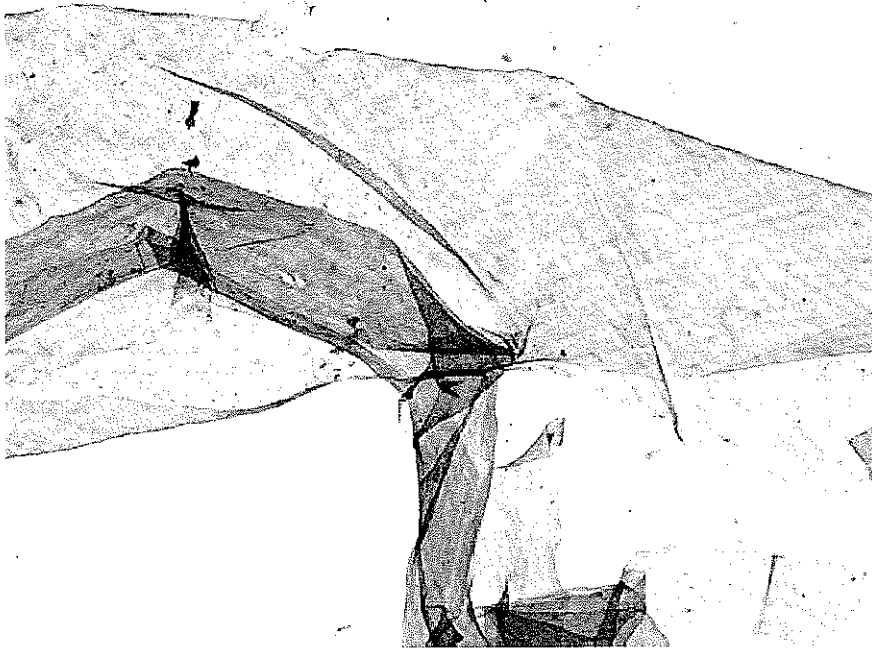
Obr. 6. Epiretinální membrána (pacient č. 31). Detail na ektatickou kapiláru (označeno hvězdičkou) ve sloupnaté neovaskulární membráně. Parafinový řez, zvětšení 500x, barvení HE.

Tyto membrány kopírovaly povrch zadní sklivcové membrány (obr. 5), někdy obsahovaly neovaskularizace s ektatickými kapilárami (obr. 6), v některých případech byla tato membrána jednoznačně neovaskulární membránou s nestejně velikými cévními luminy s erytrocyty uvnitř, s kolagenním pojivem a buněčnou celulizací se zastoupením endotelií, glie a myofibroblastů. Jednalo se o membránu, která vznikla buněčnou celulizací zadní sklivcové membrány nebo jejího odštěpeného zevního listu v případě zadní vitreoschízy. Buňky charakteru myofibroblastů vznikly patrně metamorfózou gliálních buněk (přesný původ těchto buněk nebylo možno identifikovat bez použití speciálních histochemických barvení a ultrastrukturální analýzy pomocí elektronové mikroskopie). Druhým typem byly vnitřní limitující membrány (MLI), které jsme získali peelingem speciální pinzetou po obarvení trypanovou modří. Tyto membrány byly buď zcela acelulární (obr. 7 a 8), nebo obsahovaly příměs erytrocytů a nečetných makrofágů (obr. 9). V MLI byly zcela ojediněle zastíženy buňky glie (obr. 10) nebo izolovaný myofibroblast (obr. 11).

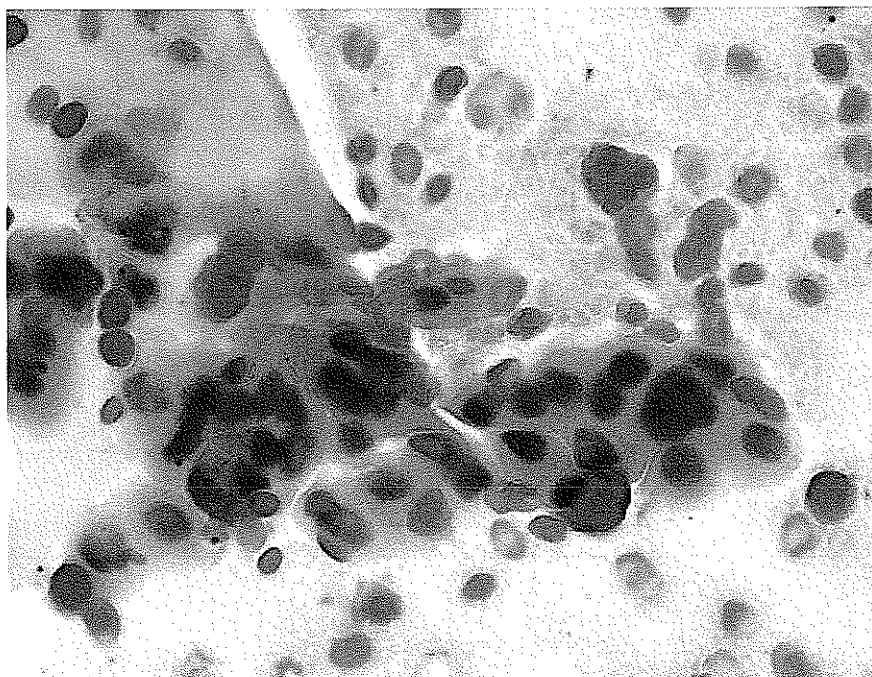
Žádné kontraktlní elementy (myofibroblasty nebo jejich prekurzory, gliální buňky) nebyly ve větším počtu v samotné vnitřní limitující membráně nalezeny.



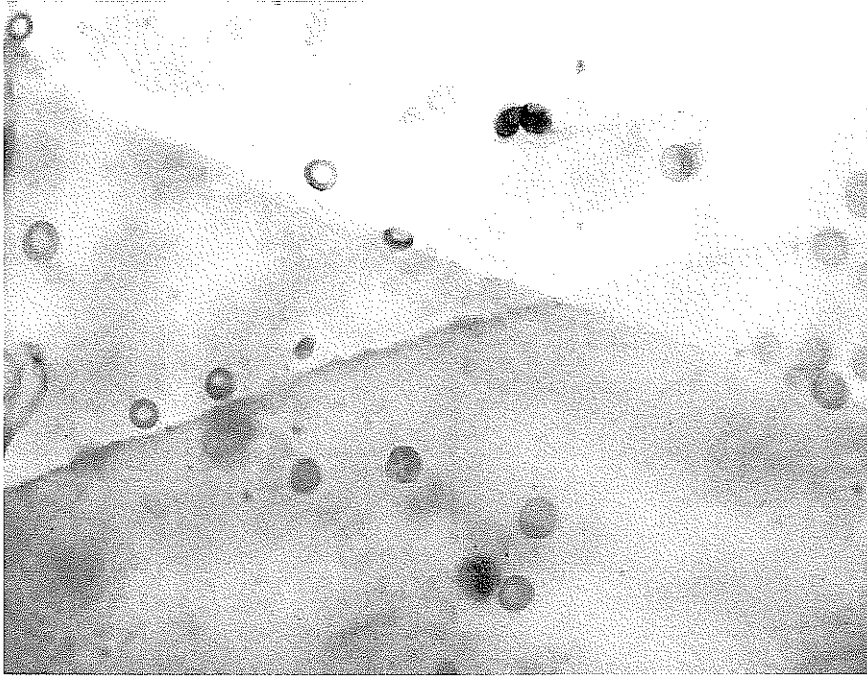
Obr. č. 7 (pacient č. 19). Téměř acelulární sloupnutí MLI. Zvětšení 50x, barvení HE.



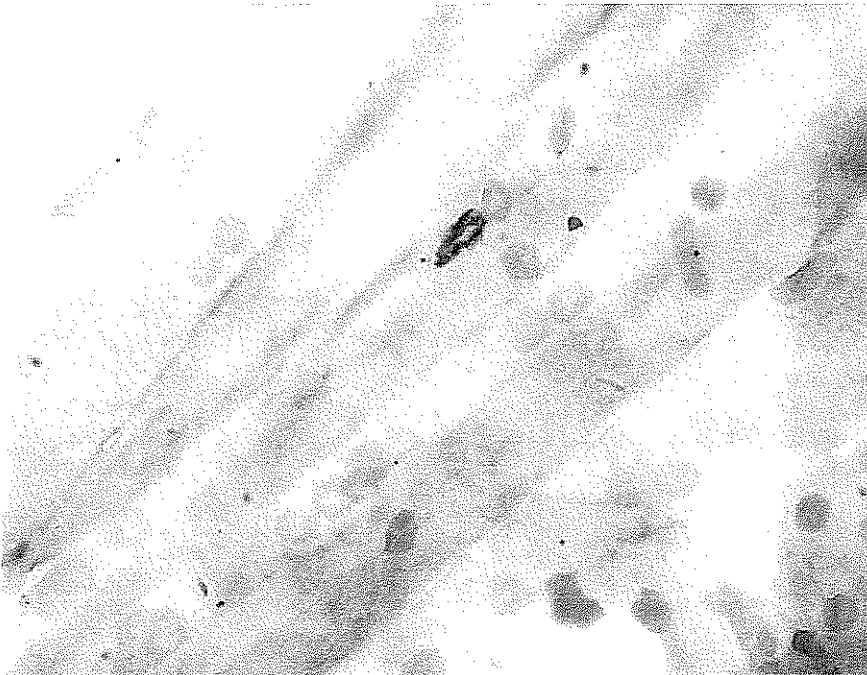
Obr. č. 8 (pacient č. 31). Zcela acelulární MLI. Zvětšení 50x, barvení HE.



Obr. č. 9 (Pacient č. 17). Sloupnutá MLI s adherujícími erytrocyty (jednotlivě i ve shlucích), mezi nimiž jsou i jaderné buňky – makrofágy. Zvětšení 500x, barvení HE.



Obr. č. 10 (pacient č. 8). Sloupnutá MLI s adherujícími erytrocyty a se zcela ojedinělými jadernými buňkami gliálního původu. Zvětšení 500x, barvení HE.



Obr. č. 11 (pacient č. 13). Detail na erytrocytární celulizaci MLI s ojedinělým myofibroblastem. Zvětšení 500x, barvení HE.

## 4.6 Odpovědi na cíle práce

Všech tří cílů práce bylo dosaženo.

1. Prokázali jsme statisticky významný příznivý vliv vitrektomie s peelingem membrana limitans interna na diabetický makulární edém, nereagující na laserovou léčbu. Anatomický nález se zlepšil u 75 % očí, stabilizoval u 17,5 % očí a zhoršil se u 7,5 % očí. Zlepšení vizu bylo dosaženo u 77,5 % očí, stabilizace u 10% očí, zhoršení nastalo u 12,5 % očí. Střední zlepšení vizu (medián) bylo 84 %. Peroperační komplikace v podobě nalezení trhliny sítnice se vyskytly u 17,5 % očí a díky laserové profylaxi nezpůsobily další následky. Pooperační komplikace jsme pozorovali u 35 % očí. Většina z nich byla nezávažných, jedinou vážnou komplikací, která mohla mít souvislost s operací, bylo pozdní odchlípení sítnice, které se vyskytlo u jediného oka.

2. Analýza struktur membrán, odstraněných z povrchu sítnice, přinesla jasné odpovědi v podobě rozlišení mezi epiretinální membránou, vytvořenou sekundárně v rámci diabetické retinopatie a celulizovanou erytrocyty, makrofágy, gliálními buňkami, myofibroblasty, endoteliemi, případně zřetelně neovaskularizovanou, a vnitřní limitující membránou, která nevykazovala výraznějších patologických změn a kromě příměsí erytrocytů či ojediněle jiných buněk byla prakticky acelulární.

3. Kontraktilita membrana limitans interna je vzhledem k výše uvedeným nálezům v podstatě vyloučena a předpokládaná tangenciální trakce MLI tudíž nemůže mít vliv na diabetický makulární edém. Pokud se MLI podílí na vzniku a progresi makulárního edému, je to způsobeno jiným mechanismem.



## 5 Diskuse

Diabetický makulární edém (DME) je hlavní příčinou těžké ztráty zraku pacientů s diabetickou retinopatií (10). Přes úspěchy v léčbě fokálního makulárního edému laserovou koagulací zůstává mnoho nemocných s difúzním, ischemickým či cystoidním DME bez účinné terapie. Mřížková fotokoagulace makuly nepřináší uspokojivé výsledky, Degenring (8) dokonce ve své práci upozornil na negativní účinek mřížkové fotokoagulace u difúzního diabetického makulárního edému. V souboru 41 očí pozoroval po mřížkovém ošetření makuly průměrné zhoršení vizu z 0,25 na 0,20, tedy téměř o 2 řádky, a zlepšení pozoroval pouze u 12 % očí.

Na základě výsledků studií chirurgické léčby makulárních děr, demonstrujících příznivý vliv peelingu membrana limitans interna (MLI) na uzávěr makulární díry (33, 45), byly formulovány též hypotézy o působení membrana limitans interna na diabetický makulární edém.

V posledním desetiletí byla mnoha autory prezentován příznivý vliv vitrektomie na resorpci DME a na zpomalení poklesu zrakové ostrosti (3, 4, 17, 21, 26, 34, 37 - 39, 51 - 53). Výsledky našeho vlastního pozorování naznačují, že u různých stavů se vitreoretinální trakce podílí na narušení hemoretinální bariéry, a stimuluje tak intraretinální i subretinální exsudaci. Vitrektomie s peelingem epiretinálních membrán příznivě ovlivňuje ústup intraretinální a subretinální exsudace u exsudativních a transsudativních cévních anomálií, jakými jsou kapilární hemangiom, Coatsova choroba a jiné angiektázie, familiální exsudativní vitreoretinopatie či venózní okluze (13, 14, 15). Naše představa při zahájení studie vycházela z hypotézy německých chirurgů (18), že MLI u diabetiků je patologicky změněná, tj. ztlustělá gliální, později i fibrocelulární až fibrovaskulární proliferací, a má sama o sobě schopnost kontraktility s výslednou tangenciální trakcí na vitreoretinální rozhraní. Tato trakce je podle mechanické teorie vzniku makulárního edému jedním z hlavních faktorů narušení hemoretinální bariéry (40). Již z prvních histologických vyšetření vzorků MLI u našich pacientů však bylo patrné, že membrana limitans interna je acelulární strukturou, která neobsahuje kontraktilní elementy (myofibroblasty), a tudíž stěží může způsobovat tangenciální trakci. Protože však v některých biomikroskopických nálezech i OCT obrazech byla tangenciální trakce patrna (**obr. 12**) a v ostatních případech na základě údajů z literatury alespoň předpokládána, používali jsme techniku peelingu MLI i nadále u všech pacientů s DME. Dali jsme si přitom za cíl identifikovat strukturu, odpovědnou za zmíněnou kontrakci.



Obr. č. 12. (pacient č. 31). Na OCT patrná vitreomakulární trakce, způsobená epiretinální membránou.

Histologická vyšetření ukázala, že za všekerou kontrakci na povrchu sítnice odpovídá nikoli MLI, ale epiretinální membrána, vytvořená gliální celulizací a případně i neovaskularizací tenké vrstvy kortikálního sklivce. Tato vrstva se pravděpodobně odštěpuje od ostatních vrstev zadní sklivcové membrány při procesu, který popsali Schwartz a kol. pod pojmem zadní vitreoschíza (42). Gliální buňky mají schopnost přeměny na myofibroblasty, které se díky myofibrilám v cytoplazmatu mohou kontrahovat a působit tangenciální i kolmou trakci za sítnici. Epiretinální membrána (ERM) je stále více kolonizována buňkami a bují v ní další neovaskularizace. ERM později tvorbou neokolagenu a přeměnou fibroblastů na fibrocyty dozrává a stabilizuje se a proces spěje ke známému stadiu diabetické fibrovaskulární membrány. Vnitřní limitující membrána není tímto procesem výrazněji narušena, jak ilustrují histologické nálezy u pacienta č. 31 (obr. 6, 8, 12), u něhož byla. Během vitrektomie nejprve odloučena zadní plocha sklivce, poté průhledná epiretinální membrána (ERM), která však obsahovala klíčky neovaskularizací, a po obarvení trypanovou modří byla z povrchu makuly sloupnuta membrana limitans interna, která však již byla acelulární. Teorie německých autorů (18) se tedy u našich pacientů nepotvrdila a byla opuštěna i řadou chirurgů, kteří ve srovnávacích studiích demonstrují, že není statisticky významný rozdíl v úspěšnosti vitrektomie s peelingem MLI a bez peelingu (1, 27, 34, 35, 47, 52). Překvapivý návrat k německému pojetí představuje práce Matsunagova (32), který na základě histochemických a ultrastrukturálních vyšetření popisuje MLI u diabetiků jako významně ztluštělou a celulizovanou na sklivcové straně. Je tedy možné, že MLI je pouze strukturálním a biochemickým prostředníkem kolonizace zevní vrstvy sklivcové kůry, jak uvádí již Gass

(19), tedy že degenerace MLI indukuje migraci glií, její proliferaci a následnou kontrakci epiretinální membrány.

Na opačném principu stojí přístup Smiddyho a Ducourneaua (9, 45), kteří obhajují příznivé působení peelingu MLI, avšak nikoli z důvodu odstranění jejího škodlivého vlivu, ale na podkladě stimulace příznivých reparačních procesů v sítnici. Peeling MLI iritací výběžků Müllerových buněk vede ke glióze, napomáhající díky GFAP a EGF-R obnově synaptických spojů a hemoretinální bariéry, navíc má působení vazokonstrikční, anti-VEGF a anti-apoptotické. Ducourneau rozlišuje horizontální gliózu astrocytárního původu a vertikální gliózu, působenou Müllerovými buňkami. V naší studii nebyla podrobnější analýza gliálních buněk a biochemických dějů možná, stejně jako ultrastrukturální analýza MLI či měření její tloušťky.

Ačkoli jsme nepotvrdili původní předpoklad mechanického působení MLI na DME, prokázali jsme jednoznačně příznivý účinek vitrektomie s peelingem MLI na ústup DME a na zlepšení vizu. Vizu se v našem souboru zlepšil o 2 řádky a více u 65 % očí. Průměrné zlepšení vizu po operaci bylo o  $2,5 \pm 3,3$  řádku. Střední zlepšení vizu bylo o 84 % (-99 až +1100%). Naše výsledky jsou v souladu s údaji autorů, obhajujících příznivý vliv peelingu MLI (3, 9, 18, 26, 28, 37 - 39, 45, 47, 53), kteří udávají zlepšení o 2 řádky u 50 - 69 % očí, výjimečně dokonce u 92 % očí (18). Jiní autoři pozorovali po peelingu MLI sice výrazný ústup makulárního ztlustění na OCT, avšak nevýrazné funkční výsledky v podobě zrakové ostrosti, která nebyla signifikantně zlepšena (2, 4, 27, 34, 47, 52). Někteří z těchto autorů, obhajujících vitrektomii bez peelingu MLI, používají k barvení MLI indocyaninovou zeleň (ICG), nelze proto vyloučit, že na nepřesvědčivém zlepšení vizu se u nich podílí fotodynamický neurotoxický efekt ICG, vyvolávající poškození nervových vláken a apoptózu gliálních buněk (2, 17, 24). Indocyaninová zeleň lépe zviditelňuje MLI, ba dokonce usnadňuje její peeling, ale některé histologické nálezy ukazují, že se tak děje za cenu morfologického poškození povrchu sítnice, Müllerových buněk i optiku s následnými defekty zorného pole, nejčastěji v nazální oblasti. U trypanové modři (Membrane Blue, Dorc, Holandsko) toxické působení nebylo prokázáno (29, 31). V naší studii jsme vždy používali pouze trypanovou modř.

Otázku, zda peeling MLI hraje v chirurgické léčbě pozitivní úlohu, či zda pouhá vitrektomie má podobný účinek, jsme nemohli zodpovědět, jelikož v naší studii chyběla kontrolní skupina pacientů, kteří by byli operováni bez peelingu MLI. Takto doporučujeme

koncipovat příští studii, která by měla být prospektivní, komparativní a randomizovaná. Můžeme však konstatovat, že peeling MLI přinejmenším nepůsobí negativně. Odstranění MLI navíc definitivně zaručuje, že z povrchu sítnice byla beze zbytku odstraněna zadní sklivcová membrána, která se může stát příčinou komplikací v podobě repropoliferací epiretinální membrány, kontraktury epimakulární proliferace (EMP) s dystopií fovey apod. Nežádoucí účinky peelingu MLI v podobě EMP, atrofie papily či defektů perimetru, o kterých referují Yamamoto či Ando (2, 51) jsme v našem souboru nepozorovali. Komplikace operace byly většinou mírné, přechodné a bez následků; výskyt progresse katarakty u 13 % očí nepovažujeme za závažný. Trhliny sítnice, zjištěné peroperačně, nezpůsobily díky laserové profylaxi další komplikace a vyskytly se i u jiných autorů (51). U pacienta č. 28 se po 7 měsících objevilo rhegmatogenní odchlípení sítnice komplikované PVR a ovlivňující jeho výsledný výrazně snížený vizus. Nález v jeho makule byl až do vzniku amoce zlepšen, a tak byla nastolena otázka, zda jsme pacienta neměli vyjmout z hodnocení pozitivního vlivu operace na makulární edém, jak to ve své práci učinil např. Gandorfer (18). Jelikož jsme však měli v úmyslu soubor hodnotit v celém sledovacím období a identifikovat všechna pozitiva i negativa, pacienta jsme v souboru ponechali.

U některých pacientů mohl být závěrečný vizus negativně ovlivněn vznikem či progresí katarakty (u 13 % očí), ba dokonce její pouhou přítomností (10 % očí), nebo naopak pozitivně ovlivněn současnou či pozdější operací katarakty (17,5 %). Pro randomizovanou studii by bylo vhodné, aby všichni pacienti měli před vitrektomií provedenou operaci katarakty, aby nedocházelo k ovlivnění statistických výsledků. Touto otázkou se v literatuře ostatní autoři nezabývali, proto jsme ani my v našem souboru tuto proměnnou podrobněji neanalyzovali.

Naše OCT nálezy ukazují významný úbytek makulárního ztlustění u 60 % očí a jeho stabilizaci u 36 % očí, což koresponduje s údaji v literatuře, kde je udáván ústup edému u 72 - 100 % očí (3, 18, 21, 26, 35, 38, 39, 47, 51, 53). Porovnání OCT nálezů je v našem souboru k dispozici u 50 % očí, jelikož OCT vyšetření nebylo z technických důvodů provedeno u všech pacientů před operací i po operaci. Za zmínku ovšem stojí, že změna OCT nálezu vždy nekorelovala se změnou vizu.

Sledovací doba byla v našem souboru v průměru 8,5 měsíců (v rozmezí 1 - 32 měsíců). Optimální sledovací doba je minimálně 6 měsíců, jelikož ústup makulárního edému po operaci trvá 1 - 4 měsíce (51). Nepodařilo se nám docílit jednotných intervalů pooperačních

kontrol ani sledovací doby 6 měsíců, jelikož u řady nemocných byl celkový zdravotní stav komplikovaný mnohočetnými diabetickými komplikacemi, včetně horší spolupráce nemocných, což znemožňovalo pravidelnou frekvenci návštěv. Z podobných důvodů jsme nemohli zaznamenat přesné trvání makulárního edému ani hodnotit ukazatele metabolické kompenzace a jejich vliv na úspěšnost léčby. Není však pochyb o tom, že důsledná kompenzace nejen glykémie, ale také krevního tlaku a lipidémie významně přispívá k ústupu sítnicových diabetických komplikací a že rozsáhlejší studie by měly tyto faktory rovněž analyzovat.

## 6 Závěr

Hodnotili jsme efekt vitrektomie s peelingem membrana limitans interna při chirurgické léčbě diabetického makulárního edému. Analyzovali jsme vzorky membrán odstraněných z makuly. Řešili jsme otázku možné kontraktivity membrana limitans interna a jejího vlivu na diabetický makulární edém. Všechny tři cíle práce bylo dosaženo.

1. Prokázali jsme statisticky významný příznivý vliv vitrektomie s peelingem membrana limitans interna na diabetický makulární edém, nereagující na laserovou léčbu. Anatomický nálezný se zlepšil u 75 % očí, stabilizoval u 17,5 % očí a zhoršil se u 7,5 % očí. Zlepšení vizu bylo dosaženo u 77,5 % očí, stabilizace u 10 % očí, zhoršení nastalo u 12,5 % očí. Střední zlepšení vizu (medián) bylo 84 %. Peroperační komplikace v podobě nalezení trhliny sítnice se vyskytly u 17,5 % očí a díky laserové profylaxi nezpůsobily další následky. Pooperační komplikace jsme pozorovali u 35 % očí. Většina z nich byla nezávažných, jedinou vážnou komplikací, která mohla mít souvislost s operací, bylo pozdní odchlípení sítnice, které se vyskytlo u jediného oka.

2. Analýza struktur membrán, odstraněných z povrchu sítnice, přinesla jasné odpovědi v podobě rozlišení mezi epiretinální membránou, vytvořenou sekundárně v rámci diabetické retinopatie a celulizovanou erytrocyty, makrofágy, gliálními buňkami, myofibroblasty, endoteliemi, případně zřetelně neovaskularizovanou, a vnitřní limitující membránou, která nevykazovala výraznějších patologických změn a kromě příměsí erytrocytů či ojediněle jiných buněk byla prakticky acelulární.

3. Kontraktilita membrana limitans interna je vzhledem k výše uvedeným nálezům prakticky vyloučena a předpokládaná tangenciální trakce MLI tudíž nemůže mít vliv na diabetický makulární edém. Pokud se MLI podílí na vzniku a progresi makulárního edému, je to způsobeno jiným mechanismem.

Regresní přímku, vyplývající z regresní analýzy vizu před operací a po operaci (graf 10), lze v praxi využít jako model, pomocí něhož lze podle předoperační zrakové ostrosti odhadnout funkční výsledek po operaci, tedy výsledný vizus. Tento graf lze použít k indikaci operace i k edukaci pacientů a jejich rodin před operací.

Vitrektomie s peelingem membrana limitans interna je účinnou a bezpečnou metodou léčby diabetického makulárního edému. Její použití je vhodné zejména u pacientů s difuzním edémem makuly, u něhož je laserová koagulace neúčinná.

## 7 Literatura

1. ANDO, F., et al. Anatomic and visual outcomes after indocyanine green-assisted peeling of the retinal internal limiting membrane in idiopathic macular hole surgery. *Am. J. Ophthalmol.*, 2004, vol.137, no. 4, Apr., p. 609-14.
2. ANDO, F., et al. Optic nerve atrophy after vitrectomy with indocyanine green-assisted internal limiting membrane peeling in diffuse diabetic macular edema. Adverse effect of ICG-assisted ILM peeling. *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.*, 2004, vol. 242, no. 12, Dec., p. 995-9.
3. AVCI, R., et al. Pars plana vitrectomy and removal of the internal limiting membrane in the treatment of chronic macular edema. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 2004, vol. 242, no. 10, Oct., 845-52.
4. BARDAK, Y., CEKIC, O., TIG, S.U. Comparison of ICG-assisted ILM peeling and triamcinolone-assisted posterior vitreous removal in diffuse diabetic macular oedema. *Eye*, 2005, no. 18, Nov. [Epub ahead of print].
5. BHISITKUL, R.B. Second generation vital stains in retina surgery. *British Journal of Ophthalmology*, 2003, vol. 87, p. 664-665.
6. CHI-CHUN, L., et al. Surgical removal of the internal limiting membrane for the treatment of a macular hole. *Chang Chung Medical Journal*, 2002, vol. 25, no. 12 [online].
7. CUNHA-VAZ, J., et al. Early breakdown of the blood-retinal barrier in diabetes. *Br. J. Ophthalmol.*, 1975, vol. 59, p. 649-656.
8. DEGENRING, R.F., et al. Grid-laser koagulation bei diffusem diabetischen Makulaödem. *Klin Monatsbl Augenheilkd.*, 2004, vol. 221, no. 1, Jan., p. 48-51.
9. DUCOURNEAU, D., DUCOURNEAU, Y. ILM removal, how does it work? *Kongres České vitreoretinální společnosti, Praha, 25.-26. říjen, 2005.*
10. EARLY TREATMENT DIABETIC RETINOPATHY RESEARCH GROUP. Early photocoagulation for diabetic retinopathy, ETDRS report No.9, *Ophthalmology*, 1991, vol. 98 (suppl), p. 767-785.
11. ENEA, N.A., et al. Histamine H1 receptors mediate increased blood-retinal barrier permeability in experimental diabetes. *Arch. Ophthalmol.*, 1989, vol. 107, p. 270-274.
12. FINE, B.S., BRUCKER, A.J. Macular edema and cystoid macular edema, *Am. J. Ophthalmol.*, 1981, vol. 92, p. 466-481.
13. FIŠER, I. Vitrektomie. In: SOSNA, T., BOUČEK, P., FIŠER I. Diabetická retinopatie - diagnostika, prevence a léčba. Praha : J. Cendelín, 2001, s. 209-229. ISBN 80-903119-0-3.

14. FIŠER, I. Vitrektomie u diabetiků. In PERUŠIČOVÁ, J. (ed.). *Trendy soudobé diabetologie*. Praha: Galén, 1998, s. 61-84. ISBN 80-7262-003-7.
15. FIŠER, I., et al. Peeling MLI u makulární díry, epimakulární membrány, VMMS a diabetické makulopatie. *Abstrakta : V. Vejdovského olomoucký vědecký den, Olomouc: 2004. Olomouc, UJEP, 2004, s. 36. ISBN 80-244-0823-6.*
16. FOOS, R.Y. Posterior peripheral retinal tears. *Ann. Ophthalmol.*, 1974, no. 6, p. 679-687.
17. GANDORFER, A., et al. Indocyanine green-assisted peeling of the internal limiting membrane may cause retina damage. *Am. J. Ophthalmol.*, 2001, vol.132, p. 433-5.
18. GANDORFER, A., et al. Resolution of diabetic macular edema after surgical removal of the posterior hyaloid and the inner limiting membrane. *Retina*, 2000, vol. 20, no. 2, p. 26-33.
19. GASS, J. D. Müller cell cone, an overlooked part of the anatomy of the fovea centralis : hypothesis concerning its role in the pathogenesis of macular hole and foveomacular retinoschisis. *Arch. Ophthalmol.*, 2000, vol.129, p. 769-77.
20. GASS, J. D. *Stereoscopic atlas of macular disease: diagnosis and treatment*, 4th ed., St. Louis, Mosby, 1997.
21. GRIGORIAN, R., et al. Pars plana vitrectomy for refractory diabetic macular edema. *Semin Ophthalmol.*, 2003, vol. 18, no. 3, Sep., p. 116-20.
22. GUYER, D.R. *Pharmacotherapy for AMD : VEGF inhibitors and related agents : Retina Subspecialty Day : Program and abstracts of the American Academy of Ophthalmology 2002 Annual Meeting*, Orlando,Florida, October 20-23, 2002.
23. GUYER, D.R. *Update on diabetic retinopathy : pharmacological approach to treatment of diabetic retinopathy : Program and abstracts of the American Academy of Ophthalmology 2002 Annual Meeting*; Orlando, Florida, October 20-23, 2002.
24. HARITOGLOU, C., et al. Histology of the vitreoretinal interface after staining of the internal limiting membrane using glucose 5% diluted indocyanine and infracyanine green. *Am. J. Ophthalmol.*, 2004, vol. 137, no. 2, Feb., p. 345-8.
25. JAFFE, N.S. A fluorescein angiographic study in cystoid macular edema. *Am. J. Ophthalmol.*, 1981, vol. 92, p. 775-780.
26. JAHN, C.E., et al. Improvement of visual acuity in eyes with diabetic macular edema after treatment with pars plana vitrectomy. *Ophthalmologica*, 2004, vol. 218, no. 6, Nov.-Dec., p. 378-84.
27. KAMURA, Y., et al. Effects of internal limiting membrane peeling in vitrectomy on diabetic cystoid macular edema patients. *Jp. n. J. Ophthalmol.* 2005, vol. 49, no. 4, Jul.-Aug., p. 297-300.



28. KUHN, F., et al.: Vitrectomy with internal limiting membrane removal for clinically significant macular oedema. *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.*, 2004, vol. 242, no. 5, Feb, p. 402-408.
29. LI K., et al. Trypan blue staining of internal limiting membrane and epiretinal membrane during vitrectomy : visual results and histopathological findings. *Br. J. Ophthalmol.*, 2003, vol. 87, p. 216-19.
30. LIMB, G.A., et al. Müller glial cells from adult human retina exhibit neural stem cell characteristics and prevent loss of visual function in the CS rat : *The 76th annual meeting of the ARVO, Fort Lauderdale, Florida, 2004 [online]*.
31. LUCKE, C., et al. Effects of patent blue on human retinal function. *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.*, 2006, Feb 17 [E pub ahead of print].
32. MATSUNAGA, N., et al. Histopathologic evaluation of the internal limiting membrane surgically excised from eyes with diabetic maculopathy. *Retina*, 2005, vol. 25, No. 3, Apr-May, p. 311-316.
33. MESTER, V., KUHN, F. Internal limiting membrane removal in the management of full-thickness macular holes, *Am. J. Ophthalmol.*, 2000, vol. 129, p. 767-777.
34. MOCHIZUKI, Y., et al. Evaluating adjunctive surgical procedures during vitrectomy for diabetic macular edema. *Retina*, 2006, vol. 26, no. 2, Feb., p. 143-148.
35. PATEL, J.I., et al. Pars plana vitrectomy with and without peeling of the inner limiting membrane for diabetic macular edema. *Retina*, 2006, vol. 26, no. 1, Jan., p. 5-13.
36. PERUŠIČOVÁ, J. Vitrektomie u diabetiků. *Trendy soudobé diabetologie*. Praha : Galén, 1998, s. 61-84.
37. RADETZKY, S., et al. Visual outcome of patients with macular edema after pars plana vitrectomy and indocyanine green-assisted peeling of the internal limiting membrane. *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.*, 2004, vol. 242, no. 4, Apr., p. 27-8.
38. RECCHIA, F.M., et al. Pars plana vitrectomy with removal of the internal limiting membrane in the treatment of persistent diabetic macular edema. *Am. J. Ophthalmol.*, 2005, vol. 139, no. 3, p. 447-454.
39. ROSENBLATT, B.J., et al. Pars plana vitrectomy with internal limiting membranectomy for refractory diabetic macular edema without a taut posterior hyaloid. *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.*, 2005, vol. 243, no. 1, p. 20-5.
40. RYAN, S.J. *Retina*. 3 vol. 3rd edition, St. Louis : Mosby, 2001. xxix, 1847 s. ISBN 0-323-00804-6.
41. SEBAG, J., et al. Biochemical abnormalities in vitreous of humans with proliferative diabetic retinopathy, *Arch. Ophthalmol.*, 1992, vol. 110, p.1472-1479.

42. SCHWARTZ, S.D., et al. Recognition of vitreoschisis in proliferative diabetic retinopathy. A useful landmark for vitrectomy for diabetic traction retina detachment. *Ophthalmology*, 1996, vol. 103, no. 2, p. 205-6.
43. SHIBUYA, S., et al. Temporal progressive antigen expression in radial glia after contusive spinal cord injury in adult rats. *Glia*, 2003, vol. 42, no. 2, Apr. 15, p. 172-83.
44. SIGURDSSON, R., BEGG, I. Organized macular plaques in exudative diabetic maculopathy. *Br. J. Ophthalmol.*, 1980, vol. 64, p. 392-397.
45. SMIDDY, W.E. Internal limiting membrane peeling stimulates macular hole closure. *Ocular Surgery News*, 2001, vol.2, No. 15 [online].
46. SOSNA, T., BOUČEK, P., FIŠER, I. *Diabetická retinopatie: diagnostika, prevence a léčba*. Praha : Cendelín, 2001. ISBN 80-903119-0-3.
47. STEFANIOTOU, M., et al. Vitrectomy results for diffuse diabetic macular edema with and without internal limiting membrane removal. *Eur. J. Ophthalmol.*, 2004, vol. 14, no. 2, Mar.-Apr., p. 137-43.
48. TRAUTNER, C., et al. Incidence of blindness in relation to diabetes : A population-based study. *Diabetes Care*, 1997, vol. 20, no. 7, Jul., p. 1147-53.
49. ÚZIS. Péče o nemocné cukrovkou v České republice v letech 2000-2004. *Aktuální informace ÚZIS č. 19/2005* [online].
50. WOLTER, J.R. The histopathology of cystoid macular edema. *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.*, 1981, vol. 216, p. 85-101.
51. YAMAMOTO, T., et al. Early postoperative retinal thickness changes and complications after vitrectomy for diabetic macular edema. *Am. J. Ophthalmol.*, 2003, vol. 134, No. 1, Jan., p. 14-19.
52. YAMAMOTO, T., et al. Vitrectomy for diabetic macular edema with and without internal limiting membrane removal. *Ophthalmologica*, 2005, vol. 219, no. 4, Jul.-Aug., p. 206-213.
53. YANYALI, A., et al. Modified grid laser photocoagulation versus pars plana vitrectomy with internal limiting membrane removal in diabetic macular edema. *Am. J. Ophthalmol.*, 2005, vol. 139, no. 5, May, p. 795-801.