UNIVERZITA KARLOVA
Lékařská fakulta v Hradci Králové

HABILITAČNÍ PRÁCE

Martin Šín **2018**

UNIVERZITA KARLOVA
Lékařská fakulta v Hradci Králové

Automatická retinální oxymetrie po operaci pars plana vitrektomie

Automatic retinal oximetry after pars plana vitrectomy operation

MUDr.Martin Šín, PhD., FEBO

Přednostka: Prof. MUDr. Naďa Jirásková, PhD., FEBO

Hradec Králové, 2018

Prohlášení autora

Prohlašuji tímto, že jsem tuto habilitační práci zpracoval samostatně a že jsem uvedl všechny použité informační zdroje. Zároveň dávám souhlas k tomu, aby tato práce byla uložena v Lékařské knihovně Lékařské fakulty UK v Hradci Králové a zde užívána ke studijním účelům za předpokladu, že každý, kdo tuto práci použije pro svou publikační nebo přednáškovou činnost, se zavazuje, že bude tento zdroj informací řádně citovat.

Souhlasím se zpřístupněním elektronické verze mé práce v informačním systému Univerzity Karlovy.

Hradec Králové, 2018 **podpis autora**

Obsah

1.Úvod do problematiky 7
1. 1. Zásobení sítnice kyslíkem - anatomické a fyziologické aspekty 8
1. 2. Měření retinální oxygenace 14
Invazivní metody měření kyslíku 14
Neinvazivní metody měření kyslíku 16
Absorbance světla u hemoglobinu 18
1. 3. Historie vývoje technologií pro neinvazivní sítnicovou oxymetrii 24
1. 4. Automatická retinální oxymetrie 25
2. Klinické studie s využitím automatické retinální oxymetrie 30
2. 1. Normativní data – zdravá populace 30
2. 2. Diabetická retinopatie 33
2. 3. Okluze sítnicové žíly 44
2. 4. Retinitis pigmentosa 54
2. 5. Glaukom 59
2. 6. Automatická retinální oxymetrie u neurologických chorob. 63
3. Cíle habilitační práce 65
4. Metodika, soubor pacientů a statistická analýza dat 66
4. 1. Soubor pacientů 66
4. 2. Automatická retinalní oxymetrie 67
4. 3. Pars plana vitrektomie a operace katarakty 69
4. 4. Statistická analýza 70
5. Výsledky 71
5. 1. Kyslíková saturace 71
5. 2. Cévní průměr 72
6. Diskuze 74
6. 1. Vliv katarakty na výsledek kyslíkové saturace v sítnicových cévách 77
7. Závěr 79
8. Literatura 80

Použité zkratky

AD – Alzheimerova choroba

$aSatO_2$ – arteriální saturace kyslíku

A-V – arterio-venózní

BRVO – větvová okluze retinání žíly

CRVO – kmenová okluze retinání žíly

dB – decibel

DM – diabetes mellitus

DME – diabetický makulární edém

DR – diabetická retinopatie

ECM – extracelulární matrix

ERM – epiretinální membrána

Hb – deoxyhemoglobin

HbO_2 – oxyhemoglobin

HRT – heidelberský retinální tomograf

I – intenzita světla

IOL – nitrooční čočka (umělá)

OCT – optická koherenční tomografie

OD – optická hustota

ODR – poměr optických hustot

MH – makulární díra

NPDR – neproliferativní diabetická retiopatie

NTG – normotenzní glaukom

MD – střední defekt

MRI – magnetická rezonance

MS – roztroušená skleróza

PDR – proliferativní diabetická retinopatie

POAG – primární glaukom s otevřeným úhlem

pO2 – parciální tlak kyslíku

PPV – pars plana vitrektomie

PRN – pro re-nata (léčebný režim dle potřeby)

RNFL – tlouška vrstvy nervových vláken

RP – retinitis pigmentosa

RPE – retinální pigmentový epitel

RVO – okluze retinání žíly

SD – směrodatná odchylka

VEGF – vaskulární endotelový růstový faktor

$vSatO_2$ – venózní saturace kyslíku

1. Úvod do problematiky

Sklivec byl po dlouhá léta vývoje oční chirurgie považován za „nedotknutelnou tkáň", protože jeho narušení mělo velmi špatnou prognózu. To se změnilo na počátku 70. let 20. století, kdy Machemer zavedl oční chirurgický zákrok zvaný pars plana vitrektomie /PPV/ (Machemer et al. 1971). Od té doby se stal standardní léčbou pro mnoho patologických stavů oka jako je odchlípení sítnice, makulární díra, epiretinální membrána, komplikace diabetické retinopatie, oční trauma, endoftalmitida a další. Nicméně, jak se ukazuje, odstranění sklivce má značné důsledky pro fyziologii oka. Například transport kyslíku a místní dostupnost růstových faktorů může být ovlivněna (Stefansson 2009). Po odstranění sklivce se sníží riziko neovaskularizace sítnice a choroidei (Blankenship & Machemer 1985; Ikeda et al. 2000), ale zvýší se riziko rubeózy duhovky (Laqua 1980). Bylo prokázáno zvýšení rizika vzniku či progrese šedého zákalu (Holekamp et al. 2005) a zároveň zvýšení rizika primárního glaukomu s otevřeným úhlem (Chang 2006). Společným faktorem byly identifikovány změny v kyslíkovém metabolizmu a difuzi po odstranění sklivce.

Měření hladiny kyslíku v sítnici a sklivci bylo po mnoho let omezeno v důsledku potřeby invazivních metod měření (Barbazetto et al. 2004; Williamson et al. 2009). Nové neinvazivní metody poskytují snadnější přístup a umožnují jednoduše měřit změny hladiny kyslíku v sítnici a sklivci po PPV. Příkladem může být nedávná práce, při které byly změny měřeny pomocí magnetické rezonance /MRI/ (Simpson et al. 2013).

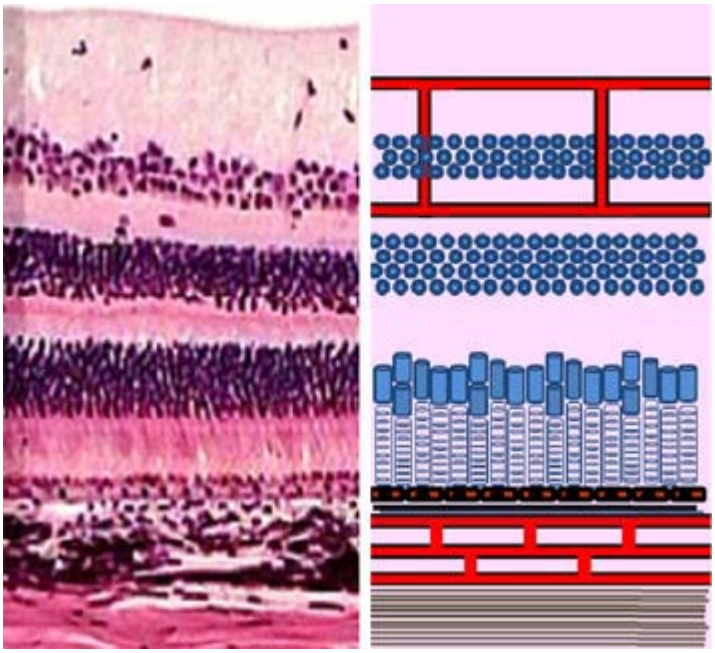
Automatická retinální oxymetrie představuje ideální přístroj pro měření kyslíkové saturace po PPV. Cílem této habilitační práce je zhodnotit vliv pars plana vitrektomie na kyslíkovou saturaci sítnice měřenou pomocí automatické retinální oxymetrie.

1. 1. Zásobení sítnice kyslíkem - anatomické a fyziologické aspekty

Normální fungování sítnice vyžaduje velmi vysokou produkci energie, ke které je potřeba velký přísun kyslíku (Alm & Bill 1970, 1972a,b; Linsenmeier 1986; Alder et al. 1990; Ames et al. 1992; Braun et al. 1995; Wang et al. 1997b,c;Blair 2000; Cringle et al. 2002). Krevní cévy však musí být pouze omezené velikosti, protože nesmí bránit v průchodu světla k fotoreceptorům a tím zhoršovat vidění. K pokrytí těchto navzájem protichůdných požadavků se v sítnici vyvinul unikátní systém krevního zásobení, který dovoluje dodávat velké množství kyslíku a živin bez omezení sítnicové transparence. Špatná funkce sítnicových cév může vyústit v závažné nemoci sítnice s následným postižením vidění. Měření retinální oxygenace je důležité jak pro lepší pochopení normální sítnicové fyziologie, tak k vývoji lepší léčby a prevenci běžných nemocí vedoucích ke slepotě. Porucha krevního toku byla jednoznačně prokázána u závažných stavů, jako je okluze centrální retinální arterie či vény, diabetické retinopatie a glaukomu. Pro rutinní vyšetřování kyslíkové saturace u lidí je potřeba neinvazivní systém, který dovoluje bezpečné a přesné měření.

Pro cévní zásobení sítnice se u lidí vyvinuly dva na sobě nezávislé cirkulační systémy s rozdílnými fyziologickými vlastnostmi (obr. 1). Vnitřní sítnice je živena pomocí povrchové a hluboké cévní pleteně odvozené od centrální retinální tepny. Vnější vrstva sítnice je živena z choroideální cirkulace uložené pod pigmentovým epitelem sítnice (RPE) a jeho (Bruchovou) bazální membránou (Provis 2001). Veškeré cévní zásobení oka pochází z oftalmické arterie, která je větví vnitřní karotidy (Čihák et al. 1997). Oftalmická arterie se dále větví na arterii centralis retinae a ciliární arterii (obr. 2).

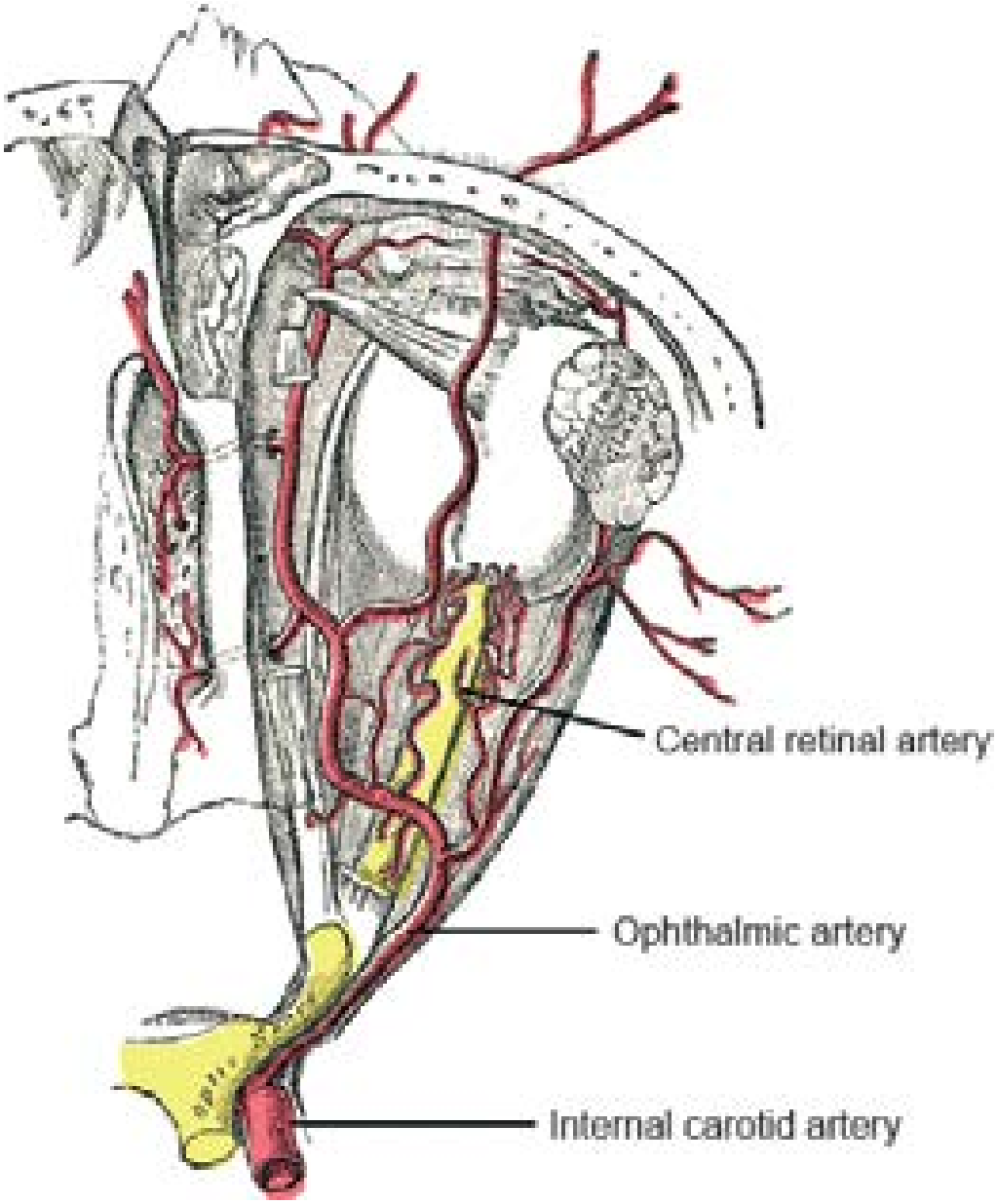
Obr.1: *Histologický řez sítnicí se schématickým označením retinálního a choroideálního cirkulačního systému. (Lange CA & Bainbridge JW 2012: Oxygen sensing in retinal health and disease. Ophthalmologica, 227(3), 115-131.)*



<u>Vaskulatura centrálního sítnicového řečiště</u>
nízký krevní průtok
vysoká A-V diference
autoregulace

<u>Vaskulatura cévnatky</u>
vysoký krevní průtok
nízká A-V diference
bez autoregulace

Obr.2: *Schéma cévního zásobení oka.*
(převzato z Grayovi anatomie, zdroj: Hardarson, S. H. (2013). Retinal oximetry. Acta ophthalmologica, 91(thesis2), 1-47)



Centrální retinální arterie, která je (v převážné většině případů) větví arteria ophthalmica, se do sítnice dostává uvnitř optického nervu. V sítnici se nachází sítnicové kapiláry, které jsou organizovány do dvou vrstev. První ve vrstvě nervových vláken a vrstvě gangliových buněk sítnice, a druhá ve vnitřní jádrové vrstvě (Pournaras et al. 2008; Kong et al. 2010). Za kapilární sítí se vytváří cévní oběh postupným spojováním do centrální retinální žíly, která odvádí krev přes papilu zrakového nervu ve stejném anatomickém uspořádání jako centrální retinální arterie. Oběh centrální retinální arterie má, ve srovnání s jinými tkáněmi, relativně nízký průtok krve a vysoký extrakční poměr kyslíku (8 ml kyslíku na 100 ml), což vede k vysokému arterio-venóznímu rozdílu a nízkému parciálnímu tlaku kyslíku v žilní krvi (Hickam et al. 1959, Hickam & Frayser 1965). Na prasečím modelu byla stanovena hodnota saturace venózní krve v sítnicové žíle na cca 55% a arteriální krve na cca 92% (Tornquist & Alm 1979). To znamená, že A-V diference je lehce nad 30%, zatímco v choroideálním řečišti byla tato hodnota na kočičím modelu stanovena na cca 3% (Alm & Bill 1970). Kyslíková saturace v plicní arterii, která představuje průměrnou saturaci venózní krve v lidském těle, byla stanovena na přibližně 70% v klidovém stavu (Sun et al. 2001; Harms et al. 2003). Arterio-venózní diference je tedy mnohem nižší oproti průměru v choroideální cirkulaci, zatímco v povodí centrální retinální arterie je rozdíl značně vyšší. Regulace retinálního krevního průtoku je považována za mnohem efektivnější v porovnání s regulací průtoku v choroideálním řečišti. Oběh centrální retinální arterie podléhá autoregulaci. Hyperoxie navozená vdechováním obohacené směsi kyslíku vyvolá vasokonstrikci retinálních arteriol (Riva et al. 1983b; Pournaras et al. 2008) a následné snížení krevního průtoku (Stefansson et al. 1988). Vasokonstrikce sítnicových arteriol však neovlivní vyšší přísun kyslíku, protože ten je difundován z cévnatky, kde k podobným změnám nedochází (Stefansson 1981; Stefansson et al. 1983; Wolbarsht et al. 1987; Linsenmeier & Yancey 1989; Pournaras et al. 1989). Naopak k dilataci retinálních cév dochází pod vlivem zvýšené koncentrace CO_2 (Venkataraman et al. 2008).

Endotelové buňky sítnicových cév jsou schopny uvolňovat faktory (např. NO, endotelin, atd.), jejichž působením se aktivně mění tonus cévních stěn, průtok krve a uvolňování kyslíku do cílové tkáně (sítnice). Biochemické mechanismy autoregulace sítnicového krevního průtoku jsou komplikované a ne zcela pochopené ve všech detailech. Vzhledem ke složitosti problému, který přesahuje rámec této práce, doporučuji pro hlubší studium práci Pournaras et al. (2008).

Choroideální vaskulatura začíná z krátkých a dlouhých zadních ciliárních arterií, které procházejí sklérou v okolí zrakového nervu a následně formují 3 vaskulární vrstvy, které dále zásobují zevní sítnici, včetně fotoreceptorů (Hayreh 1983). Choroideální cirkulace má asi 20x vyšší průtok v porovnání s cirkulací centrální retinální arterie a velmi nízký extrakční poměr. Z nízkého extrakčního poměru vyplývá nízká arterio-venózní diference (asi 3% u kočičího modelu, jak již bylo zmíněno) a tím pádem velká rezervní kapacita pro transport kyslíku (Alm & Bill 1972b). Choroideální cévy jsou obaleny hladkou svalovinou a inervovány z perivaskulárních nervových plexů obsahujících obě složky autonomního nervového systému: sympatikus pro vasokonstrikci a parasympatikus pro vasodilataci (Nickla & Wallman 2010; Neuhuber & Schrodl 2011). Původní zvířecí modely naznačovaly, že choroideální krevní průtok není příliš regulován a dochází k téměř lineárnímu poklesu průtoku v závislosti na poklesu perfuzního tlaku. Pozdější studie na zvířecích modelech i u lidí přece jen ukázaly regulaci průtoku při změnách perfuzního tlaku hlavně v závislosti na koncentraci CO_2 (Kiel & Shepherd 1992; Polska et al. 2007; Schmidl et al. 2011a,b). Zdá se, že koncentrace kyslíku nemá téměř žádný efekt na choroideální průtok (Schmidl et al. 2011a). U zdravých očí choroideální cévy neprocházejí přes Bruchovu membránu do sítnice a tím pádem neblokují průchod paprsků světla skrz sítnici. Kyslík tak musí procházet difuzí přes Bruchovu membránu do oblasti fotoreceptorů, kde je intenzivně spotřebováván jejich činností. Vrstva fotoreceptoru (vnější sítnice) tedy v normálním stavu neobsahuje žádné krevní kapiláry, ačkoliv je její tloušťka přes 100μ (Loduca et al. 2010). Ve foveole, vzhledem k unikátnímu anatomickému uspořádání, chybějí kapiláry dokonce v

celé sítnicové tloušťce.

Distribuce kyslíku v sítnici byla měřena za pomoci polarografických elektrod u různých zvířecích druhů jako morčat, koček, krys a makaků (Linsenmeier 1986; Pournaras et al. 1989; Yu et al. 1994; Ahmed et al. 1993). Nejvyšší parciální tlak kyslíku v sítnici je na úrovni choroidei a prudce klesá mezi choriokapiláris a zevní plexiformní vrstvou při denním osvětlení. Matematický model předpokládá, že nejvyšší spotřeba kyslíku je ve tmě v oblasti vnitřních segmentů fotoreceptorů, a to přibližně 15–20 ml kyslíku na 100 g tkáně za minutu. Předpokládá se, že tato skutečnost odráží metabolické potřeby velkého množství mitochondrií v této oblasti (Haugh et al. 1990). Ve tmě parciální tlak kyslíku v zevní sítnici významně klesá téměř k hodnotě 0 mm Hg, zatímco parciální tlak kyslíku v cévnatce se nemění (Linsenmeier 1986; Ahmed et al. 1993). Tyto nálezy odráží zvýšenou kyslíkovou spotřebu fotoreceptory v temných podmínkách, která je potřebná k zajištění zvýšené produkce ATP. Ve tmě je ATP ve zvýšené míře potřeba pro udržení membránového napětí pomocí aktivního transportu Na^+ iontů činností Na^+/K^+ ATPasových pump (Kimble et al. 1980). Nízká tenze kyslíku v zevní sítnici za temna vede ke změně gradientu a difuzi kyslíku z retinální cirkulace do zevních sítnicových vrstev (Wangsa-Wirawan & Linsenmeier 2003). U koček má tlak kyslíku vrchol ve vnitřní a vnější plexiformní vrstvě, což je anatomicky totožné s povrchovým a hlubokým cévním plexem sítnice. Průměrný pO2 ve vnitřní sítnici kočky během adaptace na tmu byl stanoven na 18,5 mm Hg (Linsenmeier & Braun 1992), což je v souladu s měřeními preretinální tenze kyslíku u koček 18,9 mmHg (Alm 1972). I když nebyl prokázán rozdíl ve spotřebě kyslíku mezi tmou a světlem (Alder & Cringle 1990, Medrano & Fox 1995), je parciální tlak kyslíku ve vnitřní sítnici mírně nižší při světle (Linsenmeier RA & Braun 1992). Pokud dáme všechny zmíněné informace dohromady, dá se tedy říci, že pomyslná hranice v zásobení kyslíkem z cévnatky a centrální retinální arterie se mírně mění v závilosti na světelných podmínkách. Ve tmě je kyslík dodáván do fotoreceptorů z obou stran jak z cévnatky, tak v menší míře z retinálních kapilár. Za světla se zdá, že

cévnatka plně zásobuje fotoreceptory, a dokonce může kyslík z cévnatky dosáhnout do oblasti vnitřní sítnice.

1. 2. Měření retinální oxygenace

Retinální oxygenace může být obecně měřena dvěma způsoby: invazivně a nebo neinvazivně. Invazivní měření kyslíku v oku je definováno jako měření, které vyžaduje penetraci povrchu těla (oka). Některé invazivní metody používají sondy senzitivní na kyslík, které musí být pro měření vloženy do oka, některé metody jsou méně invazivní a dochází pouze k injektáži na kyslík senzitivních barviv do krevního proudu. Zřejmou nevýhodou tohoto způsobu měření je samozdřejmě složitost invazivních metod s potřebou penetrace očního bulbu. Neinvazivní metody, které jsou výrazně jednodušší a tím pádem dostupnější, jsou založeny na měření změn barvy kyslíku při různém stupni oxygenace.

Invazivní metody měření kyslíku

Většina z našich znalostí o sítnicové oxygenaci pochází ze studií s použitím sond citlivých na kyslík, které jsou umístěny nad sítnicí nebo jsou dokonce zavedeny přímo do sítnice. Je to z toho důvodu, že po dlouhou dobu bylo toto přímé měření jedinou dostupnou možností měření kyslíku. Obecně platí, že existují dva typy sond: ad a) polarografické elektrody citlivé na kyslík a ad b) sondy, které obsahují barvivo citlivé na kyslík.

Technika elektrody citlivé na kyslík je založena na elektrochemické reakci, která vyžaduje kyslík jako substrát. Polarizační napětí je aplikováno přes dvě elektrody. Rychlost reakce je závislá na koncentraci rozpuštěného kyslíku v blízkosti elektrody a proud, který je úměrný koncentraci kyslíku, může být měřen (viz: například Alm et al. 1972a; Tsacopoulos & Lehmenkuhler 1977; Stefansson 1981; Linsenmeier 1986; Yu et al. 1990; Stefansson et al. 2005).

Druhý typ kyslíkové sondy používá na kyslík citlivé barvivo, palladium-

mesotetra-(4karboxyfenyl)-porfyrin. Barvivo je excitováno světlem o určité vlnové délce a po ozáření emituje světlo se změněnou vlnovou délkou. Změna vlnové délky může být měřena. Vlnová délka nově emitovaného světla je ovlivněna koncentrací kyslíku (Wilson et al. 1987; Rumsey et al. 1988; Tsai et al. 2003). Pokud je na kyslík citlivé barvivo upevněno ke konci optického vlákna, koncentrace kyslíku (změna vlnové délky emitovaného světla) může být měřena na druhém konci vlákna sondy (Stefansson et al. 1989).

Invazivní sondy, které obsahují buď elektrody nebo barvivo citlivé na kyslík, mohou být umístěny do sklivcové dutiny k měření parciálního tlaku kyslíku, například nad sítnicí nebo zrakovým nervem. Předpokládá se, že preretinální hodnota parciálního tlaku kyslíku má podobnou hodnotu jako jeho parciální tlak ve vnitřní sítnici (Alder & Cringle 1990; Stefansson et al. 2005). Umístění sondy však výrazně ovlivňuje výsledky, protože byl popsán gradient koncentrace kyslíku od sítnicových arteriol k sítnicovým venulám na prasatech (Molnar et al. 1985; Riva et al. 1986) a kočkách (Alder & Cringle 1990). Pro získání hodnot, které představují nejpřesnější hodnotu kyslíkové koncentrace v sítnicové tkáni, musí být sonda umístěna co nejdále od velkých cév sítnice. Byla provedena i intraretinální měření za pomoci elektrod citlivých na kyslík, které byly pro tento účel dostatečně malé, aby pronikly do sítnice, aniž by jí příliš poškodily (viz například Tsacopoulos et al. 1976; Alder et al. 1983; Linsenmeier 1986).

Existují i méně invazivní techniky pro měření kyslíku, které jsou založeny na vstřikování barviva citlivého na kyslík přímo do krevního oběhu (Shonat et al. 1992, Tsai et al. 2003). Barvivo se po aplikaci rozšíří v krevním oběhu a dostane se do sítnicové a choroideální vaskulatury. Sítnice a cévnatka jsou pak ozářeny světlem o určité vlnové délce, a následně je emitováno světlo změněné vlnové délky v závislosti na množství navázaného kyslíku na hemoglobin v příslušné cévě. Barvivo je vázáno na albumin, a proto je většinou omezeno na cévní lumen. Některý albumin se dostává do extravazálního prostoru s navázaným barvivem a může sloužit k hodnocení tkáňové koncentrace kyslíku (Tsai et al. 2003). Tato technika je většinou používána pro studium intravaskulární koncentrace kyslíku.

Rozdílná hloubka zdroje emise záření (aktivovaného barviva) může být rozlišena pomocí optických metod (Shahidi et al. 2010). Rozlišení hloubky však u této metody není tak přesné, jako u měření pomocí intraretinálních mikroelektrod. Největším limitem metody pro rozšíření však zůstává, že injekované barvivo není bezpečné pro použití u lidí.

Na kyslík citlivé sondy byly použity v několika studiích na lidech (Stefansson et al, 1992; Holekamp et al 2005, 2006; Siegfried et al 2010). Jejich použití je však samozřejmě omezeno pouze pro pacienty, kteří podstupují chirurgický zákrok (vitrektomii). Invazivní studie byly většinou prováděny na zvířatech a jejich použitím bylo získáno množství informací o okysličení zdravé sítnice a cévnatky, případně o patologii při retinálních vaskulárních uzávěrech a diabetické retinopatii.

Neinvazivní metody měření kyslíku

Neinvazivní měření saturace sítnice je založeno na měření změn barvy hemoglobinu. Z tohoto důvodu je v tomto bodě vhodné podat přehled hlavních vlastností **hemoglobinu a základní fyziologické principy transportu kyslíku** v krvi. Kyslík je v krvi přepravován buď vázaný na hemoglobin, nebo rozpuštěný v krevní plazmě. Při inhalaci kyslíku v normální zemské atmosféře je asi 9 mol kyslíku vázáno na hemoglobin v každém litru arteriální krve a přibližně pouze 0,1 mol/l kyslíku je rozpuštěno v plazmě (za předpokladu standardních podmínek - koncentrace hemoglobinu je 150 g/l, standardní hodnoty pH, koncentrace oxidu uhličitého a teploty), (Zijlstra et al. 2000). V žilní krvi je podíl rozpuštěného kyslíku taktéž zanedbatelný. Měřením množství kyslíku vázaného na hemoglobin tudíž získáme dobrý odhad obsahu kyslíku v krvi. Kyslíková saturace je často definována jako poměr (v %) hladiny hemoglobinu, který je vázán ke kyslíku:

$$Kyslíková\ saturace = HbO_2 / Hb + HbO_2$$

kde $[HbO_2]$ je koncentrace oxyhemoglobinu a [Hb] je koncentrace

deoxyhemoglobinu. Tato definice je zjednodušením, protože existují více než dvě formy hemoglobinu. Nejběžnějším typem hemoglobinu v krvi dospělého člověka je hemoglobin A, který je složen ze dvou alfa a dvou beta proteinových podjednotek zvaných globiny. Každá z těchto čtyř podjednotek obsahuje hemovou skupinu s jedním iontem železa (Fe_2^+), která může vázat jednu molekulu kyslíku. Vzhledem k tomuto uspořádání může být v určitém okamžiku vázána nula až čtyři molekuly kyslíku na každou molekulu hemoglobinu a tyto molekuly kyslíku mohou být vázány buď na alfa, nebo beta podjednotky hemoglobinu A v různých uspořádáních. Poměr mezi vazbou na různé formy je v nelineární závislosti na parciálním tlaku kyslíku (Winslow & Vandegriff 1997; Bellelli 2010; Bellelli & Brunori 2011). Zmíněný vzorec saturace kyslíkem lze tedy přesněji definovat jako poměr (nebo procento) obsazených vazebných míst pro kyslík. Ještě přesněji se dá říct, že se jedná o poměr celkového počtu funkčních vazebných míst. Jak bude popsáno dále, některé formy hemoglobinu nevážou kyslík, a tyto formy by proto neměly být zahrnuty do výpočtu saturace kyslíkem (Toffaletti & Zijlstra 2007). Hemoglobin A tvoří obvykle více než 90% podílu hemoglobinu v krvi zdravých dospělých a hemoglobin A2, který má delta podjednotku místo beta podjednotek, tvoří obvykle méně než 3% (Steinberg & Adams 1991). Fetální hemoglobin (hemoglobin F) činí v průměru <1%, avšak jeho množství může být variabilní u zdravých dospělých (Rochette et al. 1994; Schechter 2008). V dnešní době je známo přes 1000 variant hemoglobinu. Drtivá většina variant obsahuje pouze drobné změny v pořadí jednotlivých aminokyselin. Některé z nich jsou spojeny s určitou nemocí, zatímco jiné nemají žádné symptomy (Wada 2002; Database of Human Hemoglobin Variants and Thalassemias 2015).

Normální hemoglobiny transportují kyslík, ale existuje skupina tzv. dyshemoglobinů. Mezi nejvýznamnější dyshemoglobiny patří karboxyhemoglobin a methemoglobin. Karboxyhemoglobin má místo kyslíku na železný iont vázaný oxid uhelnatý. Oxid uhelnatý je produkován v těle nebo vdechován v malých množstvích. Hemoglobin má mnohem vyšší afinitu k oxidu

uhelnatému v porovnání s kyslíkem a normální hladiny karboxyhemoglobinu jsou proto až 2% všech hemoglobinů, ale může být zvýšena až na 4-8%, například u kuřáků (Fischbach & Dunning 2009). Methemoglobin je forma hemoglobinu, ve kterém je železo ve formě Fe_3^+ namísto Fe_2^+, což brání vazbě kyslíku do hemové skupiny. Methemoglobin je v nízkých hladinách přítomen u zdravých jedinců. Normální hladina je asi 1% (Fischbach & Dunning 2009), ale může být zvýšena při abúzu určitých léků (Skold et al. 2011).

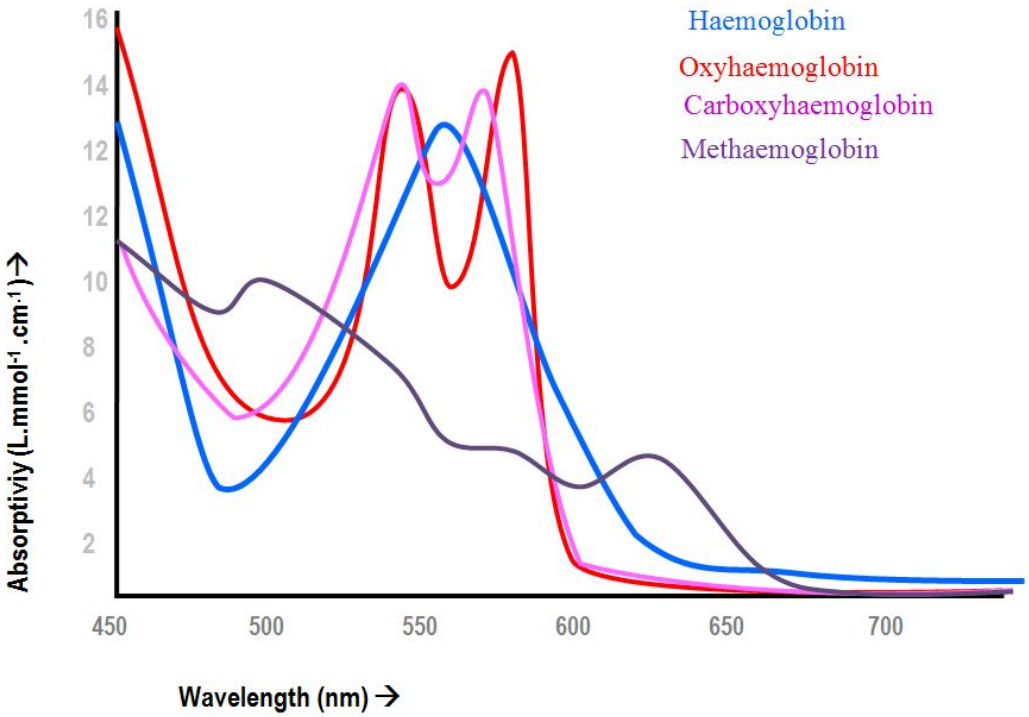
Kromě výše uvedených forem hemoglobinu může být afinita pro kyslík také ovlivněna některými molekulami, které se mohou vázat mimo hemovou skupinu. Oxid uhličitý a protony například snižují afinitu hemoglobinu pro kyslík (Staub 1998), zatímco u glykovaného hemoglobinu se afinita pro kyslík zvyšuje (Ditzel 1976). Koncentrace glykovaného hemoglobinu A1c je v korelaci s dlouhodobými hodnotami glukózy v krvi. Normální hodnoty jsou mezi 5-7% z celkového hemoglobinu u zdravých jedinců (Fischbach & Dunning 2009), ale hodnoty mohou být vyšší při špatné kompenzací diabetu.

Absorbance světla u hemoglobinu

Neinvazivní oxymetrie využívá změn barvy hemoglobinu v závislosti na změnách kyslíkové saturace. Oxy- a deoxyhemoglobin mají různé barvy. Tento fenomén je hlavním důvodem, proč krev s různou saturací kyslíku má různé barvy. Všeobecně známý příklad, který se učí již děti na základní škole, je rozdílná barva arteriální (světle červená) a žilní krve (tmavší červená), (obr. 3).

Obr.3: *Rozdíl barvy okysličené (arteriální) a neokysličené (venózní) krve.*

Obr.4: *Závislost absorpčních koeficientů několika typů hemoglobinu na vlnové délce světla (převzato z Zijlstra WG et al. 2000).*



Obrázek 4 ukazuje absorpční koeficienty několika typů hemoglobinu v závislosti na vlnové délce světla (absorptivita je měřítkem toho, jak moc světla roztok absorbuje na jednotku koncentrace roztoku a na jednotku délky dráhy v roztoku). Jak je zároveň možno vidět na obrázku 4, světelná absorptivita okysličeného a

neokysličeného hemoglobinu A se liší u mnoha vlnových délek světla. V některých vlnových délkách jsou však absorpční koeficienty stejné a tyto vlnové délky jsou nazývány isosbestické vlnové délky.

Jak již bylo popsáno v předešlých řádcích, krev obsahuje směs derivátů hemoglobinů, a zároveň na funkční hemoglobiny mohou být vázány různé ligandy, například kyslík, oxid uhličitý nebo glukóza. Vyvstává tedy otázka, jestli můžeme použít absorpční aktivity plně okysličeného a zcela neokysličeného hemoglobinu A (obr. 4) pro analýzu krve. Za prvé se zdá, že absorbance se mění se změnou okysličení hemoglobinu v lineární závislosti na celkovém podílu obsazených hemových skupin. To znamená, že dva (hypotetické) roztoky molekul hemoglobinu by měly stejnou barvu jak v případě, že by v jednom byly všechny molekuly obsazeny z poloviny vazebné kapacity (tj. dvěma molekulami O_2), tak v případě, že by polovina molekul byla obsazena plně molekulami kyslíku (čtyřmi O_2) a druhá polovina by byla zcela neobsazená kyslíkem. Tato aproximace se zdá být platná, i když byla nalezena drobná nelinearita, přinejmenším při vlnových délkách v blízkosti 400 nm (Doyle et al. 1988). Další otázkou je, zda jiné druhy hemoglobinu než typ A mají vliv na absorbanci světla krve. Jak je možno vidět z obr. 4, hemoglobin A a F mají téměř stejnou křivku absorpčního koeficientu ve všech uvedených vlnových délkách, a to platí jak pro oxy-, tak deoxy- formu. Podle Kunkel et al. (1957) má hemoglobin A2 mezi 520 a 590 nm stejnou světelnou absorbanci jako hemoglobin A. Je proto nepravděpodobné, že by hemoglobiny F a A2 měnily signifikantně hodnoty měření kyslíkové saturace.

Dyshemoglobiny, jako je karboxyhemoglobin a methemoglobin, nemají žádný vliv na výslednou saturaci kyslíkem, protože saturace kyslíkem je definována jako poměr obsazených vazebných míst k počtu funkčních (volných) vazebných míst pro kyslík. Tento poměr je hlavně závislý na parciálním tlaku kyslíku (Toffaletti & Zijlstra 2007). Nicméně, vazba hemoglobinu na oxid uhelnatý bude mít vliv na celkovou kyslíkovou kapacitu krve a totéž platí o koncentraci methemoglobinu. Kromě toho karboxyhemoglobin a methemoglobin absorbují

světlo ze spektra vlnových délek použitých při oxymetrii a ty mohou ovlivnit výsledky měření kyslíkové saturace. Jak je možno vidět na obr. 4, karboxyhemoglobin má podobnou absorpční křivku v oblasti vlnových délek použitých při oxymetrii jako okysličený hemoglobin A (nebo F). Methemoglobin absorbuje taktéž značnou část světla v této oblasti, ale s jiným profilem absorpční křivky, a proto se liší jeho barva (Brunelle at al. 1996).

Kromě výše uvedených forem hemoglobinu je možné, že absorpční vlastnosti hemoglobinu mohou měnit molekuly, které se vážou mimo hemovou skupinu. Velké změny v pH, jak se zdá, mají pouze nepatrné účinky na světelnou absorbanci oxyhemoglobinu, a dokonce ještě menší (pokud vůbec nějaký) vliv na světelnou absorbanci deoxyhemoglobinu (Wimberley et al. 1988). V téže studii bylo také zjištěno, že koncentrace oxidu uhličitého nemá žádný vliv na výsledky oxymetrických měření (při vlnových délkách 535, 560, 577, 622, 636 a 670 nm). To však úplně nevylučuje možnost ovlivnění výsledků způsobené oxidem uhličitým, jsou-li použity jiné vlnové délky. Glukóza také, jak se zdá, nemá velký vliv na absorbanci světla, i když se tvar absorpční křivky mírně mění v rozsahu fyziologických koncentrací glukózy (Lazareva & Tuchin 2007).

Měření světelné absorbance

Světelná absorbance roztoku, například roztoku hemoglobinu, může být popsána pomocí rozdílu optické hustoty. Optická hustota je definována jako:

$$OD = \log (I_0/I)$$

kde [OD] je optická hustota, [I_0] je původní intenzita světla před zeslabením světla v důsledku absorpce v roztoku a [I] je intenzita světla po absorbanci v roztoku. Jak je možno vidět z rovnice, vyšší optická hustota znamená větší absorbanci.

Optická hustota cévy, pokud je měřena při isosbestických vlnových délkách (na kyslík necitlivých, obr. 4), závisí na průměru cév a dalších faktorech, ale na kyslíkové saturaci je nezávislá. Naproti tomu optická hustota při ne-

isosbestických vlnových délkách (citlivých na kyslík) bude záviset na stejných faktorech, a ještě navíc na kyslíkové saturaci. Poměr optických hustot při ne-isosbestické a isosbestické vlnové délce bude závislý na kyslíkové saturaci, zatímco účinky jiných faktorů, jako je šířka cévy, se budou mít tendenci vzájemně vyrušit. Je prokázáno (Hickam et al. 1959; Beach et al. 1999; Harris atal. 2003), že roztok hemoglobinu ve vodě má přibližně lineární závislost mezi poměrem optických hustot a kyslíkovou saturací:

$$\textit{Kyslíková saturace} = a + b\ (\textit{OD non-isosbestická / OD isosbestická})$$

kde [a] a [b] jsou konstanty. Dále se používá označení [ODR] (poměr optické hustoty). Je to poměr těchto dvou optických hustot:

$$\text{ODR} = \textit{OD non-isosbestická / OD isosbestická}$$

Takže výsledný vzorec se dá zapsat jako:

$$\textit{Kyslíková saturace} = a + b\ \textit{ODR}$$

Rovnice platí pro roztok hemoglobinu při zjednodušení, které předpokládá, že existuje pouze jedna forma hemoglobinu, která může být buď okysličená nebo neokysličená (Zijlstra et al. 2000). Výpočet ODR vyžaduje měření intenzity světla vstupujícího a vystupujícího z roztoku, tedy I a I_0, pro dvě vlnové délky. Měření krve v sítnicových cévách je značně složitější v porovnání s měřením roztoku hemoglobinu ve zkumavce. Rozptyl světla krevními buňkami a cévní stěnou způsobuje nepřesnost (Pittman & Duling 1975; Delori 1988; Schweitzer et al. 1995; Hammer et al. 1998, 2001, 2002). Hlavním problémem v reálném měření světelné intenzity (I a I_0) v sítnici je, že musí být odhadnuta z odraženého světla na rozdíl od měření procházejícího světla. Tento fakt způsobuje, že rozdíly v pigmentaci očního pozadí (individuální i interindividuální) mohou ovlivnit přesnost měření (Schweitzer et al. 1995; Beach et al. 1999; Smith et al. 2001; Hammer et al. 2002).

Retinální měření může být provedeno pomocí oxymetru spojeného se sítnicovou kamerou. Světlené intenzity, I_0 a I, lze odhadnout z hodnot jasu na vybraných místech fundu, jak je vidět na obr. 5. Intenzita světla po jeho interakci s krví se odhaduje na základě hodnoty jasu cévy. Tato hodnota jasu je samozřejmě ovlivněna absorbancí světla krví v cévě. Referenční intenzita světla I_0 se odhaduje na základě hodnoty jasu obrazu pozadí vedle cévy. Tato hodnota jasu není ovlivněna absorbancí světla u krevní cévy. Protože se pro referenční světelnou intenzitu (I_0) vyberou hodnoty jasu v blízkosti cévy, jsou světelné intenzity (I a I_0) ovlivněny stejnými faktory s výjimkou absorbance cévy.

I přes značnou aproximaci se ukazuje, že relativní saturace hemoglobinu kyslíkem u sítnicových cév může být dostatečně přesně stanovena měřením odrazu světla při dvou vlnových délkách (Hickam et al. 1959; Beach et al. 1999). Tato metoda byla otestována a prokázalo se, že je dostatečně citlivá na změny saturace, a navíc jsou i její výsledky opakovatelné. Zvýšení saturace kyslíku v sítnicových arteriolách i venulách bylo zjištěno u zdravých dobrovolníků, kteří inhalovali 100% kyslík (Beach et al. 1999; Hardarson et al. 2006). Standardní odchylka mezi opakovanými měřeními stejné sítnicové cévy (průměrováno pro jedno oko) byla 3,7% pro arterioly a 5,3% pro venuly (Hardarson et al. 2006). Výše popsaný způsob je základem všech současně dostupných metod pro neinvazivní oxymetrii. Všechny systémy používají stanovování barevné změny v hemoglobinu pro stanovení kyslíkové saturace hemoglobinu, i když technické aspekty se u různých přístrojů mírně liší.

1. 3. Historie vývoje technologií pro neinvazivní sítnicovou oxymetrii

Sítnicová oxymetrie se dvěma vlnovými délkami. Neinvazivní krevní oxymetrie byla poprvé provedena v roce 1930 v Německu a první ušní oxymetr byl vyroben v roce 1936 (Severinghaus, 2011). Hickam et al. (1959) se jako první pokusil o použití podobného principu na očích. Použil speciální filtry k získání snímků fundu se dvěma různými vlnovými délkami světla. Následným denzitometrickým měřením fotografických filmů odhadoval světelné intenzity,

které pak byly použity k výpočtu saturace sítnicové cévy v určitém úseku. V těchto průkopnických pracích se mu podařila prokázat citlivost této metody pro změny v nasycení hemoglobinu kyslíkem měřením účinku změn podílu kyslíku ve vdechovaném vzduchu. Broadfoot et al. (1961) měřil reflektanci fundu při třech vlnových délkách ve snaze vyvinout choroideální oxymetr. Zjistil, že reflektance se mění dle předpokladu během změn experimentálních podmínek při testech na králících, a také u lidských dobrovolníků.

Choroideální oxymetrie se dvěma vlnovými délkami byla později vyvinuta Laingem (Laing et al., 1969). Předběžné výsledky choroideální oxymetrie ukázaly citlivost vůči změnám nasycení kyslíkem, avšak kalibrace se zdála být příliš hrubá. Laing et al. (1975) také vyvinul systém pro sítnicovou oxymetrii na principu dvou vlnových délek a prokázal citlivost na změny saturace v sítnicových arteriolách u králíků.

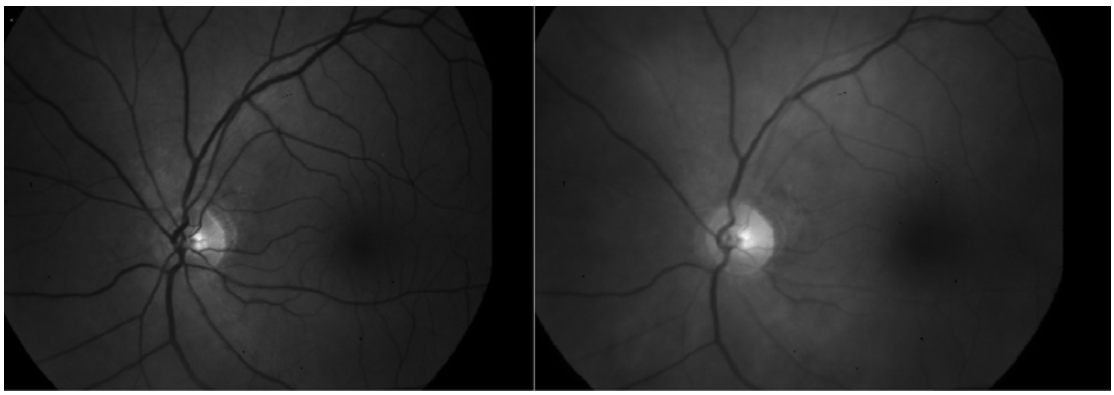
Renesance výzkumu v oblasti oxymetrie za použití dvou vlnových délek přišla na konci 20. století, kdy Beach et al. (1999) a Tiedeman et al. (1998) použili dvě vlnové délky pro výpočet oxymetrie podobně, jako již mnoho desítek let předtím Hickam et al.(1959). Hlavní zlepšení přišlo díky použití technologie digitální kamery, která předtím v oxymetrii použita nebyla. Beach et al. (1999) se rovněž pokusili o rozpracování principů, které vedly ke korekci vlivu průměru cévy a rozdílné pigmentace fundu. Obraz ze sítnicové kamery byl rozdělen tak, že dva obrazy stejné oblasti fundu byly pořízeny ve stejnou dobu. Jeden obraz s vlnovou délkou citlivou na saturaci kyslíkem a druhý obraz necitlivý na kyslíkovou saturaci. Oba tyto obrazy byly zachyceny ve stejnou dobu jediným bleskem na stejném senzoru kamery. Tím byl eliminován problém pohybu očí. Tyto práce daly základ vývoje přístrojů pro neinvazivní měření kyslíkové saturace v sítnicových krevních cévách.

1. 4. Automatická retinální oxymetrie

Duální neinvazivní retinální oxymetr T1 (Oxymap ehf. Rejkjavík, Iceland) je složen ze dvou digitálních kamer, speciálního optického adaptéru, rozdělovače

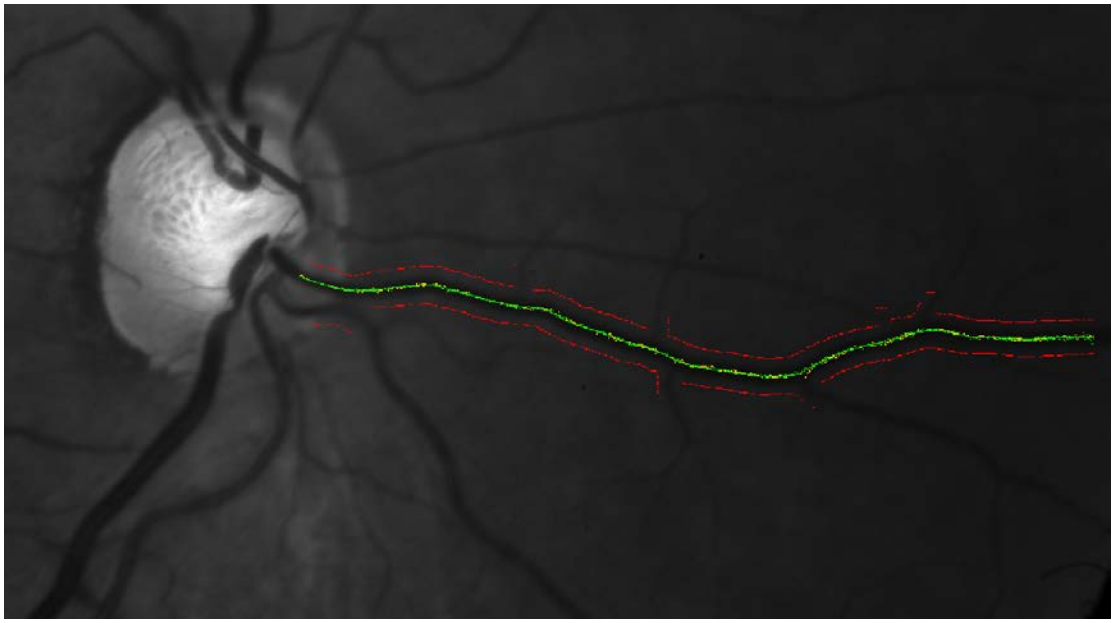
obrazu a dvou úzkých páskových filtrů. Celé zařízení je připojeno na standardní funduskameru (Topcon, TRC – 50 DX, Topcon corp. Tokio, Japan), kterou jsou získávány v jeden okamžik dva obrázky sítnice o různé vlnové délce – 570nm (isobestická vlnová délka) a 600nm (neisobestická vlnová délka), (obr 5.).

Obr.5: *Fotografie fundu ve dvou různých vlnových délkách - 570nm (vpravo) a 600nm (vlevo).*



Speciální software (Oxymap analyzer software 2.2.1, verze 3847; Oxymap ehf.) měří světlost vybraných bodů na získaných obrázcích v obou vlnových délkách. Body měření jsou softwarem umístěny na velké cévy a sítnicové pozadí podél cév. (obr. 6)

Obr.6: *Body měření světlosti lumen cévy (zelené) a pozadí fundu (červené).*



Světelná absorbance krevní cévy je ovlivněna absorbancí (barvou) krve v cévě, zatímco barva sítnicového pozadí je relativně konstantní a není příliš ovlivněna. Tímto způsobem je možno popsat optickou denzitu OD krevní cévy, pro kterou platí:

$$OD = \log (I_0/I),$$

Kde [I_0] je absorbance mimo cévu (na sítnicovém pozadí) a [I] je absorbance krevní cévy.

Optická denzita krevní cévy je výrazně ovlivněna saturací kyslíku při zhotovení obrazu světlem o vlnové délce 600nm (arterie jsou výrazně tmavší než vény), ale nikoliv při referenční vlnové délce 570nm (arterie i vény mají téměř totožný vzhled). (obr. 5)
Poměr optických denzit při vlnových délkách 600nm a 570nm udává tzv. „poměr optické hustoty“ (optical density ratio), ODR:

$$ODR = OD_{600}/OD_{570}$$

ODR je, jak již bylo popsáno dříve, inverzně a přibližně lineárně závislý na kyslíkové saturaci:

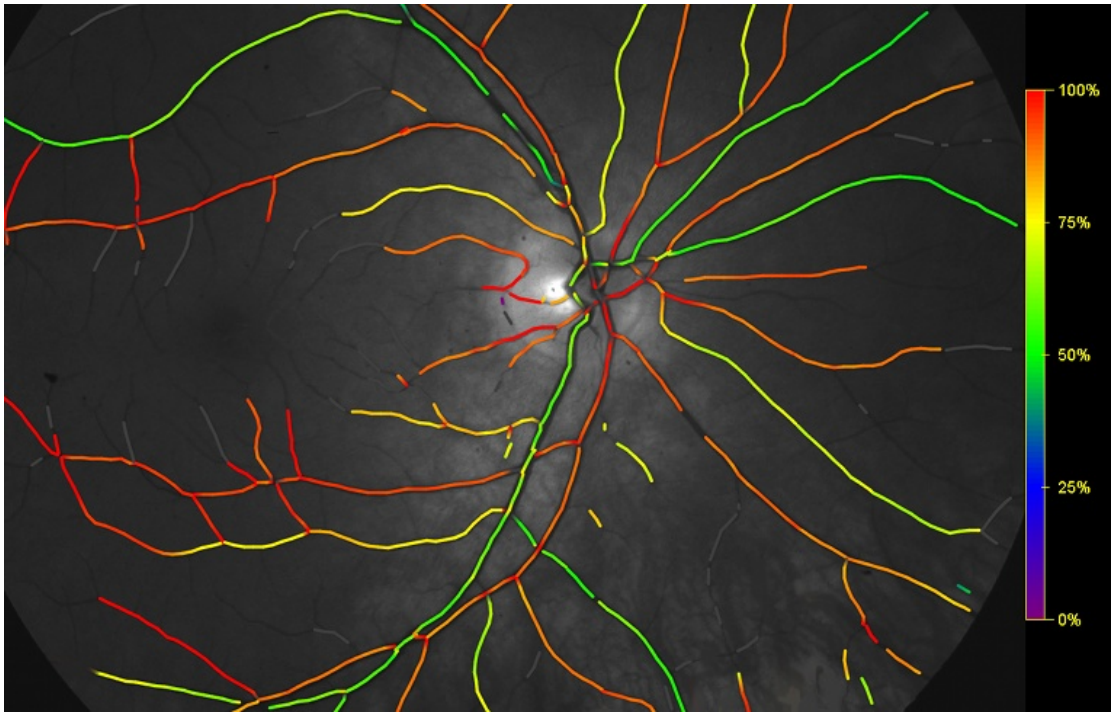
$$Saturace\ O_2\ \% = a + b\ x\ ODR,$$

kde [a] a [b] jsou konstanty.

Pro kalibraci přístroje Oxymap T1 byly použity hodnoty OD_{600} a OD_{570} získané měřením na zdravých pacientech. Tyto hodnoty byly porovnány s měřeními na již kalibrovaném přístroji, které provedli Schwitser et al. (1995). Automatický software tedy každému bodu na cévě přiřadí hodnotu saturace kyslíku, která je vyjádřena pomocí barevné škály, jak je vidět na obr. 7.

Obr.7: *Přehledový obrázek očního pozadí se zobrazením saturace pomocí*

barevné škály. Červená barva představuje cévy, které obsahují krev, která se blíží 100% saturaci kyslíku (arterie). Zelené odstíny odpovídají přibližné saturaci 60% (vény).



2. Klinické studie s využitím automatické retinální oxymetrie

2. 1. Normativní data – zdravá populace

Pro stanovení normálních hodnot saturace získaných měřením pomocí automatické retinální oxymetrie bylo povedeno několik studií. Studie se ve většině případů zabývaly stanovením normálních hodnot retinální oxymetrie u pacientů s ohledem na rozdíl rasy, věku, pohlaví, kardiovaskulárních parametrů a topografické rozdíly na sítnici.

Greisdottir et al. (2012) měřila průměrnou arteriální a venózní saturaci u 120 zdravých jedinců kavkazské rasy ve věku od 18 do 80 let (medián 47 let). Ze 120 jedinců bylo 44 mužů a 76 žen. Průměrná kyslíková saturace v retinálních arteriích byla 92,2 ± 3,7% (průměr ± SD) a 55,6 ± 6,3% v sítnicových žilách. Nebyl zjištěn žádný významný rozdíl v kyslíkové saturaci mezi levým a pravým okem. Inferotemporální kvadrant měl nižší saturaci kyslíkem, a to v arteriích i žilách ($p < 0,0001$). Arteriolární saturace byla beze změn s věkem. Venulární saturace u mužů se v průměru snížila o 1,9 ± 0,6% za 10 let věku ($p = 0,003$) a o 0,7 ± 0,4% u žen. Arterio-venózní diference se za 10 let věku v průměru zvýšila o 1,5 ± 0,5% u mužů a o 1,0 ± 0,4% u žen. Na každých 10 mm Hg zvýšení očního perfuzního tlaku se kyslíková saturace v retinálních arteriích zvýšila o 0,9 ± 0,4% a o 1,2 ± 0,7% v retinálních žilách.

Yip et al. (2014) hodnotil normální saturaci u pacientů starších 40 let, kteří byli bez anamnézy mrtvice a srdečních onemocnění. Normální oči byly definovány jako oči bez závažných očních onemocnění, např: makulární degenerace, glaukom, nebo retinopatie. Spolehlivost oxymetrických měření sítnicových cév byla hodnocena pomocí 50 snímků. Opakovatelnost oxymetrických měření mezi jednotlivými vizitami byla hodnocena pomocí 20 párových obrázků. Celkem 118 retinálních oxymetrických obrazů bylo zahrnuto do konečné analýzy. Byla zjištěna vysoká opakovatelnost měření kyslíkové saturace mezi jednotlivými vizitami (ICC hodnoty: 0,85-0,96). V lineární regresní analýze byl popsán vyšší věk ve spojení s nižší úrovní celkové sítnicové saturace v sítnicových žilách (P: -2,61%; 95% interval spolehlivosti [CI]: -4,92 až -0,29) a zároveň byly

pozorovány snížené hodnoty kyslíkové saturace v oblasti infero-nasálních cév. (P: -3,53%; 95% CI: -6,07 až -0,99).

Mohan et al. (2015) hodnotil saturaci u 98 zdravých indů. Průměrný věk ve sledovaném souboru byl 33 let (rozmezí 18-63). Průměrná kyslíková saturace sítnicových arterií byla 90,3 ± 6,6% a venózní saturace byla 56,9 ± 6,3%. Průměrná A-V diference byla 33,2 ± 5,2%. Byl popsán nárůst v arteriolární (R2 = 0,264; p = 0,001) a žilní saturaci (R2 = 0,151; p = 0,001) v závislosti na věku. Inferotemporalní kvadrant měl nejnižší hodnoty saturace podobně jako v případě kavkazské rasy (Yip et al. 2014).

Celkem 126 zdravých čínských jedinců ve věku od 19 až 30 bylo zahrnuto do studie provedené Yang et al. (2016). Průměrná saturace kyslíkem byla 93,2 ± 6,3% v sítnicových artériích a 60,4 ± 5,3% v žilách. Průměrná A-V diference dosáhla hodnoty 32,9 ± 6,4%. Temporální kvadranty měly nižší měření saturace arterií i vén ve srovnání s nasálními kvadranty (p <0,001).

Nakano et al. (2016) měřil saturaci kyslíku ve velkých sítnicových cévách u 252 očí zdravých japonských jedinců. Průměrný věk byl 61,1 ± 18,8 let a pohyboval se v rozmezí mezi 20 a 93 let. Reprodukovatelnost sítnicové oxymetrie byla ve stejné studii zkoumána na 20 očích 20 zdravých jedinců. Průměrná sítnicová saturace kyslíkem ve 4 kvadrantech byla 97,0 ± 6,9% v arteriích a 52,8 ± 8,3% v žilách. Průměrná A-V diference byla 44,2 ± 9,2%. Jak arteriální, tak venózní saturace kyslíkem byly v temporální části sítnice výrazně nižší, a to zejména v temporálních dolních cévách. Korelační koeficienty pro rozdíl mezi fotografiemi byl v rozmezí 0,936-0,979 a mezi jednotlivými vizitami byl v rozmezí 0,809 - 0,837. V hlavních tepnách sítnice byla popsána zvyšující se saturace s věkem (r = 0,18, p <0,01), v hodnotě 0,67% za 10 let. Venózní kyslíková saturace nevykazovala v této studii žádnou korelaci s věkem.

Diskuze a komentáře k publikovaným normativním studiím

Ve všech doposud publikovaných normativních studiích na zdravé populaci vychází poměrně konstantní hodnoty jak arteriální, tak venózní saturace. Směrodatná odchylka ve všech studiích se u hodnot pohybuje v rozmezí 3-9%.

Rozdíly měřených hodnot v jednotlivých studiích je možno považovat za výsledek rozdílného věkového a rasového složení. Věk je v současnosti jednoznačně považován za prokázaný faktor, který ve většině studií ovlivňuje výsledek retinální oxymetrie. Dále se v některých studiích ukazuje rozdílná pigmentace očního fundu jako faktor, který může ovlivňovat výsledek. Obecně platí, že u pigmentovanějších asijských populací měříme vyšší hodnoty kyslíkové saturace (Lim et al. 2014, Nakano Y et al. 2016). V extrémních případech mohou hodnoty přesáhnout saturaci 100%. Takový výsledek samozřejně nedává fyziologický smysl, a jde o problém kalibrace přístroje na základě rozdílné pigmentace.

Pokud je mi známo, nebyla doposud provedena velká normativní studie na černošské populaci, ale některé menší studie hovoří proti ovlivnění kyslíkové saturace rozdílnou pigmentací (Jani et al. 2014). Vzhledem k nejednotnosti názorů v této oblasti bude k jednoznačnému zodpovězení této otázky potřeba zpracovat další a větší normativní studie.

Ve všech studiích byly popsány v infero-temporalním kvadrantu nižší hodnoty měření saturace sítnice kyslíkem ve srovnání s ostatními třemi kvadranty. Důvod pro toto pozorování je nejasný, a může být vysvětlen vlivem optického artefaktu, nebo má fyziologický původ. Garhöfer et al. (2012) nedávno publikoval výsledky sítnicového průtoku krve pomocí duplexní laserové dopplerovské flowmetrie u mladých zdravých mužů a zjistil topografický rozdíl v sítnicových kvadrantech. Retinální průtok krve byl nejvyšší v infero-temporalním kvadrantu v porovnání s ostatními kvadranty. Tyto výsledky by mohly vysvětlit rozdíly v měřených hodnotách saturace pomocí sítnicové oxymetrie, ale jejich fyziologický význam či důvod je nejasný.

Všechny studie, které se zabývaly reprodukovatelností výsledků sítnicové oxymetrie (Nakano Y et al. 2016, Yip WF et al. 2014) prokázaly vysoký stupeň reprodukovatelnosti, a to jak mezi dvěma fotografiemi jiných vyšetřujících, tak v reprodukovatelnosti hodnot stejného vyšetřujícího mezi dvěma rozdílnými návštěvami s časovým odstupem.

Závěrem lze tedy shrnout, že všechna dosavadní data prokazují nízkou

variabilitu a vysokou reprodukovatelnost metody retinální oxymetrie, která je předpokladem jejího použití ve výzkumné i klinické praxi.

2. 2. Diabetická retinopatie

Diabetická retinopatie je pozdní komplikací cukrovky, která se postupně rozvine s různým stupněm závažnosti u většiny pacientů s diabetem (Williams et al. 2004; Grauslund et al. 2009). Diabetická retinopatie je charakterizována poškozením sítnicových kapilár (Kohner 1993). Bazální membrány kapilár se ztlušťují (Roy et al. 2010), některé kapiláry obliterují a jiné se stávají širšími (Cogan & Kuwabara 1963, Kuwabara & Cogan 1963), formují se mikroaneuryzmata. Uzavření kapilár má také následně vliv na větší sítnicové cévy, což vede ke špatné distribuci krve v sítnici. Konečným důsledkem jsou oblasti hypoxie a ischemie, které vedou k rozvoji proliferativní diabetické retinopatie (PDR), (Kohner 1993), a rozvoji diabetického makulárního edému (DME).

Za všemi těmito změnami stojí zvýšení hladin glukózy v krevním řečišti. Přesné biochemické procesy jsou komplexní a doposud ne zcela známé. Hypoxie sítnice u diabetické retinopatie byla potvrzena na kočičím modelu (Linsenmeier et al. 1998) pomocí na kyslík senzitivních retinálních elektrod. Vzhledem k invazivnosti metody měření nebylo možné po dlouhou dobu potvrdit tato měření u lidských pacientů. Rozvoj automatické retinální oxymetrie poskytl v této oblasti ideální výzkumný nástroj. Doposud bylo publikováno 6 průřezových (cross-sectional) studií, které popisovaly závislost změn kyslíkové saturace v sítnicových cévách při DR (Hammer et al. 2009; Hardarson & Stefansson 2012; Khoobehi et al. 2013; Jorgensen & Bek 2014; Jorgersen et al. 2014; Šínová et al. 2016).

Jorgensen et al. (2014) zkoumala kyslíkovou saturaci v sítnicových cévách u 156 diabetických pacientů s různou závažností DR ve srovnání s 80 zdravými kontrolami. Pacienti byli rozděleni do následujících skupin: zdravé kontroly, DR

bez potřeby léčby, DME a PDR. Výsledky ukázaly vyšší vSatO2 u pacientů s DR bez potřeby léčby (66,2%, p <0,01), DME (68,6%, p <0,01) a PDR (68,0, p<0,01), ve srovnání s kontrolní skupinou zdravých pacientů (63,0%). Retinální aSatO2 byla vyšší u pacientů s PDR ve srovnání s kontrolami (99,4% oproti 95,4%, p ≤ 0,01). Byl prokázán nárůst kyslíkové saturace v sítnicových venulách v závislosti na rostoucí závažnosti DR. Rozdíl v A-V diferenci byl prokázán pouze u pacientů s DME proti kontrolní skupině (p <0,01).

Jorgensen & Bek (2014) měřili saturaci sítnicových cév u 220 pacientů s diabetem před, bezprostředně po a tři měsíce po léčbě sítnice fotokoagulací. Ve studii používali stejnou kontrolní skupinu jako Jorgensen at al. (2014). Před zahájením léčby našli vyšší $vSatO_2$ u pacientů s DME (68,9%, p <0,0001) a u pacientů s proliferativní DR (65,9%, p <0,001) v porovnání s kontrolní skupinou (63,0%). U skupiny s proliferativní DR byla nalezena také vyšší $aSatO_2$ v porovnání s kontrolní skupinou (97,8% versus 95,4%,p = 0,0002). A-V diference byla nižší u pacientů s DME ve srovnání s kontrolami (P <0,0001). U pacientů s proliferativní DR provedení retinální fotokoagulace vedlo ke zvýšení $vSatO_2$ tři měsíce po léčbě ve srovnání se stavem před léčbou (69,43% oproti 65,87%, p = 0,03). U pacientů s DME se $vSatO_2$ zvýšila okamžitě po fotokoagulační léčbě, ale o tři měsíce později se vrátila na stejnou úroveň jako před zahájením léčby. Hodnota $aSatO_2$ nebyla léčbou ovlivněna.

Khoobehi et al. (2013) srovnával kyslíkovou saturaci u 93 pacientů s různým stupněm DR proti 14 zdravým pacientům. Zjistil vyšší $vSatO_2$ a $aSatO_2$ u pacientů s těžkou neproliferativní diabetickou retinopatií (NPDR) (66,8%, p <0,001 a 102%, p = 0,023), s proliferativní DR (66,6%, p = 0,026 a 103,6%, p = 0,003) a pro všechny skupiny DR dohromady (64,2%, p = 0,007 a 100,4%, p = 0,004) ve srovnání s kontrolní skupinou (57,2% a 92,3%). Na druhou stranu pacienti s mírným až středním stupněm NPDR a diabetičtí pacienti bez retinopatie se nelišili od výsledků kontrol v hodnotách saturace žilní nebo arteriální krve. Celkem bylo v této studii popsáno postupné zvyšování kyslíkové saturace jak v sítnicových venulách, tak arteriolách s progresí stupně diabetické retinopatie. Hodnoty A-V diference se signifikantně mezi skupinami nelišily.

Hardarson & Stefansson (2012) srovnávali sítnicovou saturaci kyslíkem u 20 pacientů s DR a 31 zdravých kontrol. Pacienti s DR byli rozděleni do tří skupin: počínající (background) DR, DMO a dříve neléčená proliferativní DR. Zjistili vyšší $vSatO_2$ a $aSatO_2$ ($p < 0,05$) ve všech třech skupinách (DR: 70% a 103%, DMO: 66% a 102%, PDR: 67% a 100%) ve srovnání se zdravými kontrolami (58% a 93 %). Nepopsali žádný významný rozdíl v A-V diferenci mezi diabetickými pacienty a kontrolami.

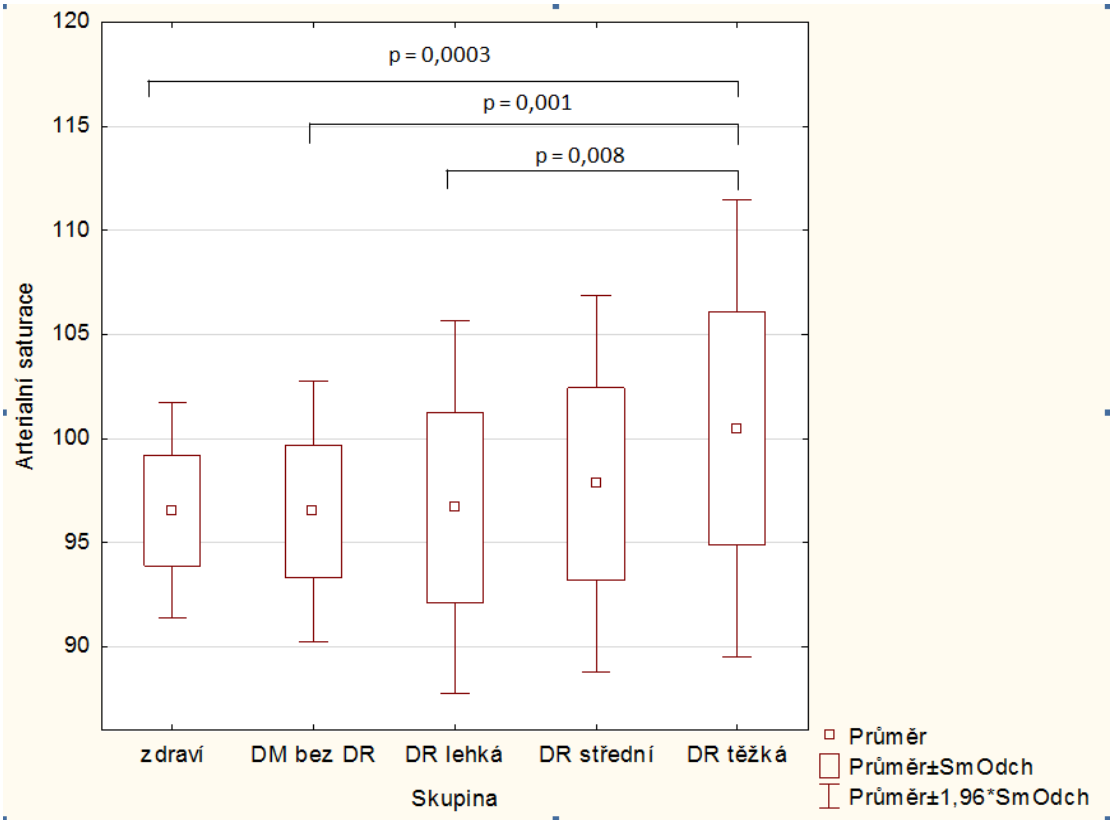
Hammer et al. (2009) zkoumal kyslíkovou saturaci sítnice u 41 diabetických pacientů s různou závažností DR. Jako kontrolní vzorek sloužilo 12 zdravých pacientů. Pacienti byli rozděleni do následujících skupin: mírná NPDR středně těžká NPDR, těžká NPDR a PDR (neléčených i léčených fotokoagulací sítnice). Zjistili vyšší $vSatO_2$ u pacientů se středně těžkou NPDR (70%, $p = 0,046$), těžkou NPDR (75%, $p < 0,001$) a proliferativní DR (75%, $p < 0,001$) v porovnání s kontrolní skupinou (63%). Naopak rozdíl mezi lehkou NPDR a kontrolní skupinou nebyl signifikantní. Hodnota vSatO2 se zvyšovala s progresí stupně DR až po těžkou NPDR, ale nebylo již zaznamenáno signifikantní zvýšení u pacientů s proliferativní DR. Hodnoty A-V diference byly signifikantně nižší u pacientů se středně těžkou NPDR, těžkou NPDR a proliferativní DR ve srovnání s kontrolní skupinou.

Naše práce (Šínová et al 2016) se drží linie a má podobné výsledky jako všechny zmíněné v předchozím textu. I v našem souboru jsme potvrdili, že u pacientů s diabetickou retinopatií dochází ke zvýšení hodnot kyslíkové saturace hlavně v žilním systému v porovnání se zdravými pacienty. Zároveň naše práce ukazuje stejné předchozí výsledky závislosti stupně postižení sítnice diabetem na změnách saturace. V tab. 1 jsou prezentována demografická data našeho souboru. Detailní výsledky s vyznačením statistické signifikance jsou prezentovány v obr. 8, 9 a 10.

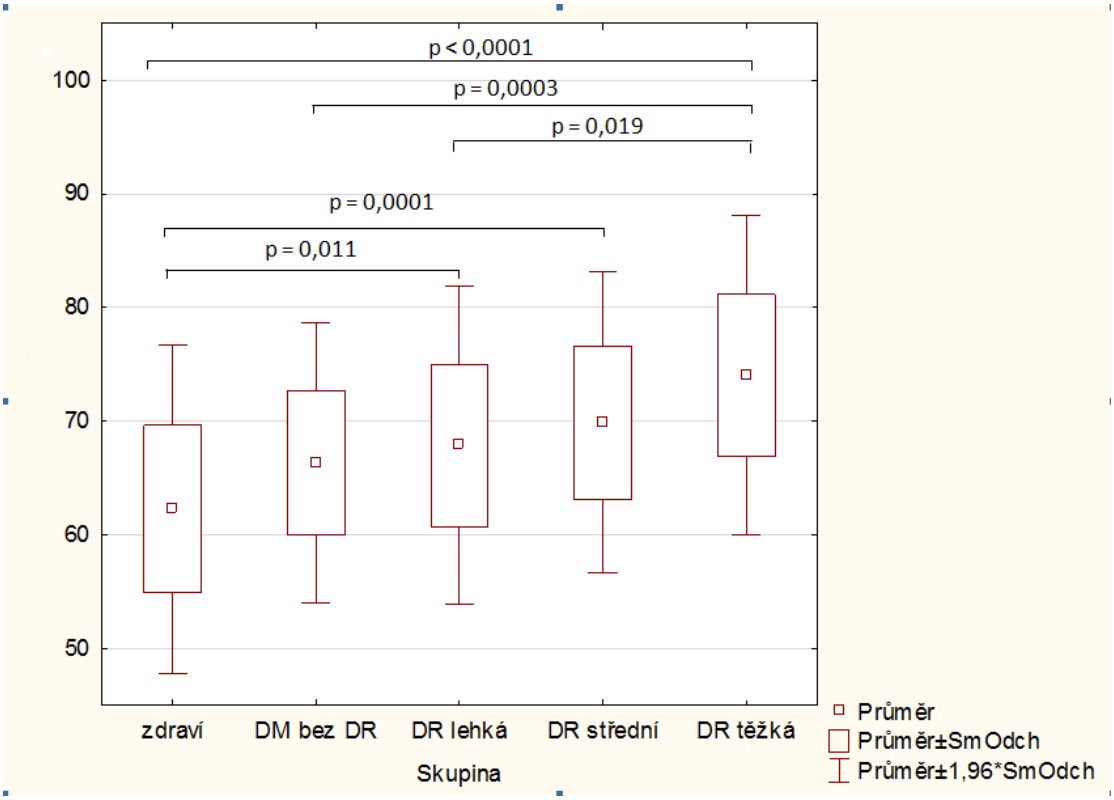
Tab. 1 *Demografická data pacientů studie Šínová et al. (2016).*

	bez DM (n=57)	***DM s DR (n=34)***	***NDR lehká (n=25)***	***NDR střední (n=28)***	***NDR těžká + PDR (n=27)***
věk (roky)	57,3 ± 8	46,2 ± 16	52,8 ± 14	50,9 ± 17	53,6 ± 15
pohlaví M/Ž	24/33	16/18	12/13	18/10	21/16
počet IOL	14	8	13	11	14
hladina HbA1c (mmol/mol)	-	65,9 ± 15,9	66,1± 17,2	66,3± 16,1	68,5± 21,7
doba trvání DM (roky)	-	11 ± 8,5	16,3 ± 9,2	17,1 ± 8,8	21,3 ± 7,6
poměr DM1/DM2	-	18/16	10/15	11/17	9/18

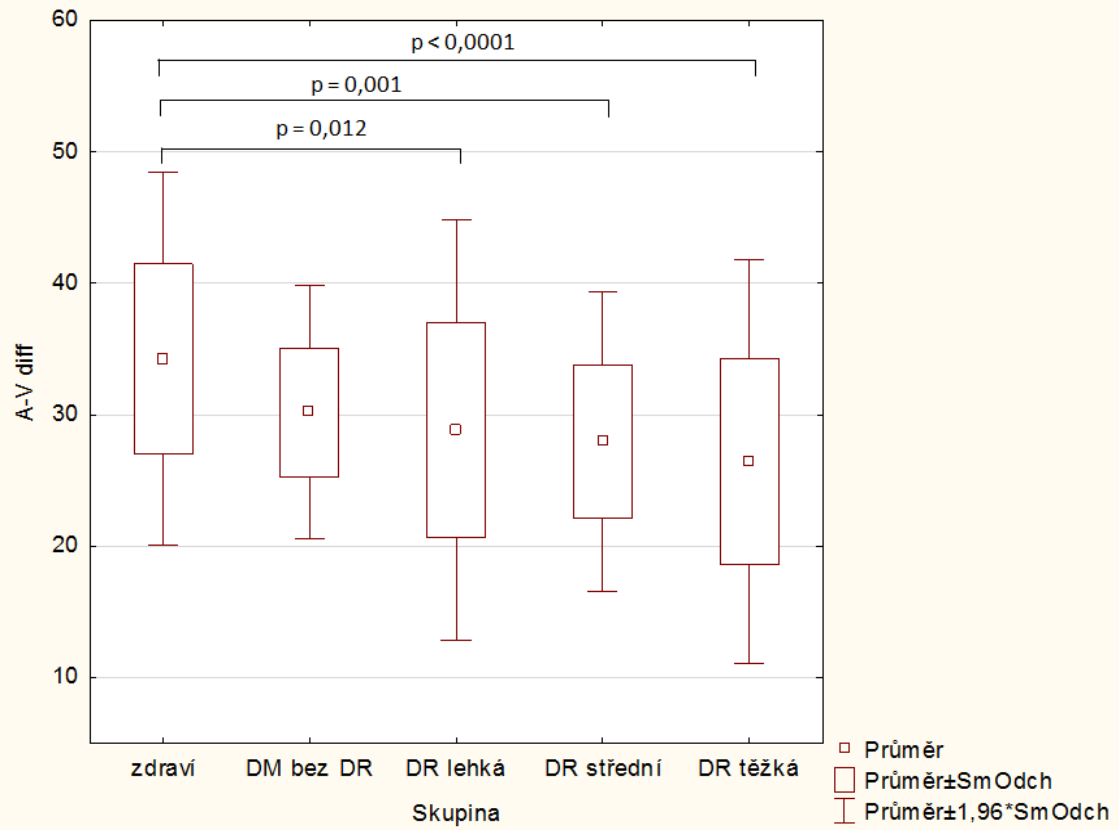
Obr.8 *Box grafy s hodnotami průměrné* ***arteriální saturace*** *v jednotlivých stádiích diabetické retinopatie u studie Šínová et al. (2016). Statisticky signifikantní rozdíly jsou prezentovány s příslušnou hodnotou p.*



Obr.9 *Box grafy s hodnotami průměrné* ***venózní saturace*** *v jednotlivých stádiích diabetické retinopatie u studie Šínová et al. (2016). Statisticky signifikantní rozdíly jsou ukázány s příslušnou hodnotou p.*



Obr.10 *Box grafy s hodnotami průměrné* ***A-V diference*** *v jednotlivých stádiích diabetické retinopatie u studie Šínová et al. (2016). Statisticky signifikantní rozdíly jsou ukázány s příslušnou hodnotou p.*



Ve všech 6 studiích byla popsána vyšší $vSatO_2$ u pacientů s proliferativní DR ve srovnání s kontrolní skupinou a zároveň v 5 studiích bylo popsáno zvýšení $aSatO_2$. Na změnách kyslíkové saturace u diabetiků se podílejí minimálně tři známé mechanismy: 1. kapilární non-perfuze a obtok (shunting) určitých oblastí sítnice, 2. ztluštění stěn kapilár a 3. vyšší afinita hemoglobinu pro kyslík u diabetiků.

Cogan a Kuwabara (Cogan & Kuwabara 1963, Kuwabara & Cogan 1963) prokázali, že u diabetických pacientů dochází k uzavření některých kapilár, zatímco jiné jsou dilatované. U diabetických pacientů prokazujeme fluorescenční angiografií non-perfuzi a dilataci sítnicových kapilár a arteriol v různých oblastech sítnice. Výsledkem těchto změn je, že velké množství krve odtéká dilatovanými kapilárami velkou rychlostí z arterií do vén, aniž by dostatečné množství kyslíku přešlo do cílové tkáně (sítnice). Tento mechanismus vede ke zvýšení saturace ve venózní krvi.

Dalším mechanismem, který by se mohl podílet na změnách výsledné kyslíkové saturace sítnicových cév je ztluštění kapilární stěny u diabetiků, které je jednoznačně prokázáno (Ashton 1974, Roy et al. 2010). Toto ztluštění je zodpovědné za zhoršení difuze kyslíku z krve do sítnicové tkáně, a přispívá tak k většímu množství kyslíku ve venózní krvi.

Třetím mechanismem, který se může podílet na celkovém zvýšení saturace v sítnicových cévách, je zvýšení afinity hemoglobinu pro kyslík spolu se zvýšením hematokritu u diabetických pacientů (Graham et al. 1980, Linsenmeier et. al 1998). Vyšší afinita hemoglobinu pro kyslík a větší počet červených krvinek by mohly vysvětlit vyšší hodnoty saturace v arteriálním i venózním řečišti.

Přesné určení podílu jednotlivých mechanismů na výslednou sítnicovou saturaci je prozatím nejasné. Zároveň je pravděpodobné, že existují další doposud neznámé mechanismy, které se podílí na změnách kyslíkové saturace v retinálním řečišti. Do budoucna bude nutné provedení dalších studií k hlubšímu pochopení všech mechanismů.

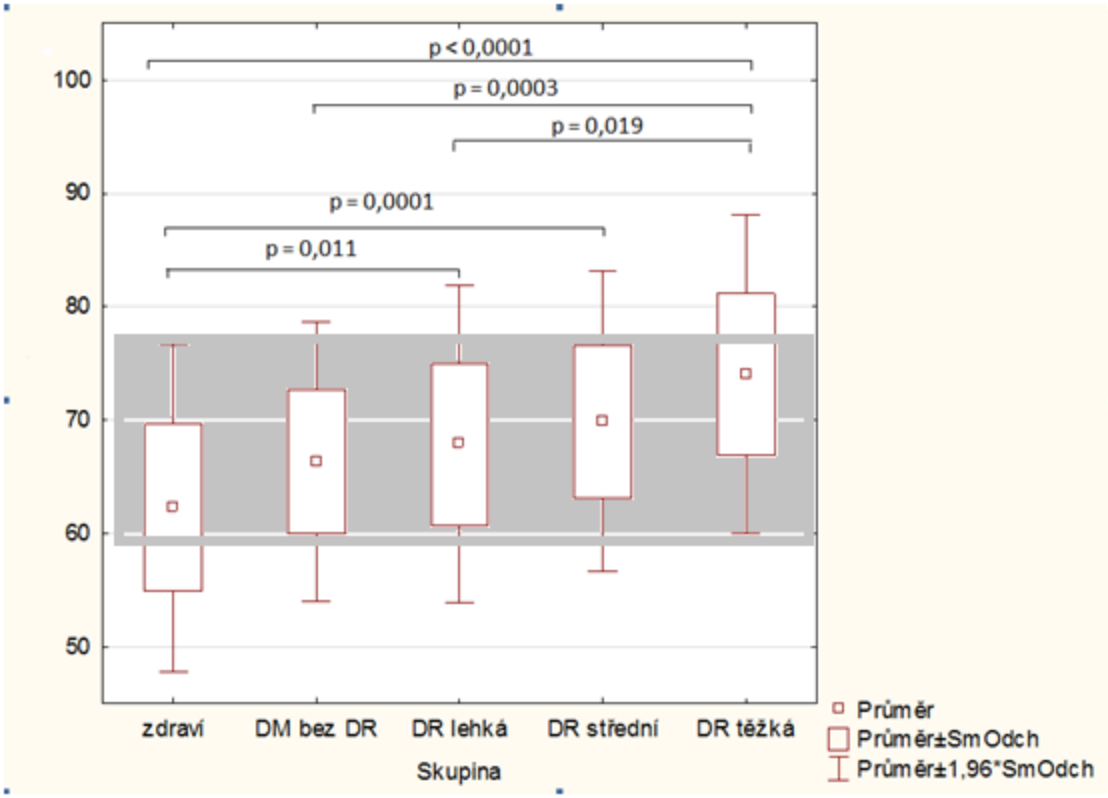
Potenciální klinické využití retinální oxymetrie a plány dalšího výzkumného směřování u DR

Diabetická retinopatie představuje dobrý příklad choroby pro další využití retinální oxymetrie. Přínos nebude z mého pohledu ve zdokonalení diagnostiky ve smyslu rozdělení dle závažnosti (staging). Drtivá většina doposud publikovaných studií jsou studie průřezové (tzv. cross sectional). To představuje výraznou nevýhodu, protože, ač byla ve všech doposud publikovaných případech nalezena výrazná korelace mezi stupněm postižení a hodnotami sítnicové saturace (většinou zvýšení saturace venózní krve), nelze tyto hodnoty použít ke klinickému rozhodování pro malou specificitu této hodnoty. Tento fakt je patrný z obr. 11, kde je vyznačena tzv. šedá zóna – tj. nespecifická oblast, ve které je hodnota saturace společná pro všechna stádia DR. Budoucí využití vidím v individuálním monitoringu jednotlivých pacientů v čase, při kterém budou měnící se hodnoty kyslíkové saturace citlivým indikátorem k zahájení terapie. Doposud je používán morfologický přístup, ve kterém je indikace k terapii stavěna (laser, pars plana vitrektomie, anti-VEGF) na základě morfologických změn na fundu pacienta. Ze všech doposud publikovaných prací zabývajících se kyslíkovou saturací vyplývá, že tato hodnota představuje citlivější indikátor a v budoucnu by mohl být využíván jako jedno z kritérií pro zahájení časné léčby. Pokud již bude terapie (např. laserová či anti-VEGF) zahájena, otevírá se zde další velká možnost využití retinální oxymetrie k měření účinnosti této terapie a titrování množství aplikovaných laserových bodů. Doposud neexistuje žádný objektivní způsob měření, který by hodnotil efektivitu laserové terapie a redukoval množství tohoto nevratného procesu na sítnici. Jsme stále na začátku cesty k efektivnímu využití retinální oxymetrie u diabetických pacientů a studie s delším časovým sledováním jsou velmi důležitým krokem, který by tyto předpoklady potvrdil a pomohl k zavedení tohoto přístupu do klinické praxe.

Velkou výhodou retinální oxymetrie je nezávislost výsledků na vnitřním prostředí, které bylo prokázáno v několika studiích (Klefter et al. 2015; Mlčák & Šín-rukopis v přípravě). Na základě absence jakékoliv vazby je možno

považovat veškeré změny krevní saturace v sítnicových cévách u diabetiků za změny závislé pouze na patologických změnách sítnice samotné. Tento fakt je důležitý pro zavádění automatické retinální oxymetrie do klinické praxi u pacientů s diabetickou retinopatií.

Obr.11 *Box grafy s hodnotami průměrné* ***venózní saturace*** *ze studie Šínová et al.(2016) s vyznačením „šedé zóny“. Při hodnotách saturace v této oblasti nelze diferencovat stadium DR na základě kyslíkové saturace.*



2. 3. Okluze sítnicové žíly

Retinální venózní okluze je, ve většině případů, způsobena trombem lokalizovaným v centrální retinální véně. Pokud je zablokován kmen, jde o okluzi kmenovou, a pokud pouze větev, jde o okluzi větvovou. Trombus způsobí zpomalení toku krve a to buď v celé sítnici nebo pouze v okludované oblasti v závislosti na rozsahu postižení. U kmenové okluze (CRVO) však většinou nedochází ke kompletnímu zastavení toku krve, a to i v případě úplného zablokování trombem (Hayreh 2005). To je umožněno přítomností přítoků centrální retinální žíly lokalizovaných anteriorně od místa okluze (nejčastěji v oblasti lamina cribrosa), které suplují kolaterální oběh (Takahashi et al. 1998). Zpomalení krevního toku na podkladě okluze centrální žíly poškozuje přívod kyslíku do oblasti vnitřní sítnice a vede k hypoxii (Yoneya et al. 2002; Williamson et al. 2009). Studie prokázaly snížení rychlosti průtoku krve v sítnicových žilách pomocí dopplerovské flowmetrie (Tranquart et al. 1998, Tranquart et al. 2000), snížení rychlosti toku krve v kapilárách za pomoci Heidelbergského sítnicového flowmetru (Arvas et al. 2002) a prodloužení doby arterio-venózní pasáže při fluorescenční a indocyaninové angiografii (Arsene et al. 2002, Paques et al. 2001, Paques et al. 2005). Snížení krevního průtoku vede k hypoxii (Hardarson & Stefansson 2010, Yoneya et al. 2002, Williamson et al. 2009) a následně k zvýšení produkce VEGF (Pe'er et al. 1998, Noma et al. 2010). Výsledkem je vazodilatace a hyperperfuze, která potencuje bludný kruh zhoršující krvácení a edém. Kromě toho, exsudace do sítnicových extracelulárních prostor, které mají omezenou kapacitu, může vést ke zvýšení intersticiálního tlaku a dalšímu snížení průtoku krve. Retinální venózní okluze je tedy další chorobou s vysokým potenciálem pro využití automatické retinální oxymetrie v klinické praxi. Doposud bylo publikováno 5 pilotních průřezových studií, které se zabývají automatickou retinální oxymetrií při RVO. Ve třech případech je předmětem studie CRVO (Hardarson & Stefansson 2010; Traustason et al. 2014; Eliasdottir et al. 2015) a ve dvou BRVO (Hardarson & Stefansson 2012a, Lin et al.2016).

Eliasdottir et al. (2015) zkoumala kyslíkovou saturaci sítnice u 14 pacientů s diagnózou jednostranné CRVO. Ve všech případech bylo druhé oko použito jako kontrola. Popsala signifikantní snížení $vSatO_2$ u očí s CRVO v porovnání se skupinou kontrolních očí (31% versus 52%, p <0,0001). Nepozorovala rozdíl v hodnotě aSatO2 a rozdíl v A-V diferenci byl vyšší u očí s CRVO ve srovnání s kontrolní skupinou očí (p <0,0001).

Traustason et al. (2014) měřil kyslíkovou saturaci sítnice u 17 pacientů s CRVO před a během 6 měsíců nepřetržité intravitreální léčby s aplikací preparátu ranibizumabu. Léčebný režim se skládal ze tří prvních měsíčních injekcí (loadovací fáze) s následným léčením v režimu podle potřeby na základě měsíčního hodnocení (režim PRN). Znovu sloužilo druhé oko pacienta jako kontrola. Před zahájením léčby byla vSatO2 nižší u očí s CRVO ve srovnání se skupinou kontrolních očí (35% versus 59%, p < 0,001). Nebyl zaznamenán žádný významný rozdíl v hodnotě $aSatO_2$ při porovnání obou skupin. Hodnota $vSatO_2$ u postiženého oka se zvýšila po 3 a 6 měsících při léčbě ve srovnání s hodnotami před léčbou (43% a 43,5% oproti 35,5%, p = 0,012 v obou případech). Nicméně hodnota $vSatO_2$ 6 měsíců po léčbě byla stále ještě signifikantně nižší než u zdravých očí (43,5% a 59% v uvedeném pořadí). Znovu nebyl zaznamenán žádný rozdíl v hodnotách $aSatO_2$ po léčbě.

Hardarson & Stefansson (2010) měřili kyslíkovou saturaci sítnice u 8 pacientů s jednostranným CRVO. U každého pacienta sloužilo druhé oko jako kontrola. Zjistili nižší hodnotu $vSatO_2$ u očí s CRVO ve srovnání s kontrolním okem (49% oproti 65%, p = 0,003). Nebyl popsán žádný významný rozdíl v hodnotě $aSatO_2$ mezi oběma očima.

Hardarson & Stefansson (2012a) měřili také kyslíkovou saturaci sítnice u 24 pacientů s BRVO. Prováděli porovnání arteriol a venul v okludované oblasti s korespondujícími cévami ve zdravé oblasti téhož oka a zároveň v druhém oku. Zjistili výraznou variabilitu hodnot saturace (jak v arteriolách, tak ve venulách). Žádný z výsledků nebyl však statisticky významný.

Poslední prací s touto tématikou je práce Lin et al.(2016), která porovnává celkem 50 pacientů s BRVO rozdělených na skupinu s ischemickou okluzí u 26

pacientů a skupinu s neischemickou okluzí u 24 pacientů. Ve studii bylo rovněž sledováno 100 zdravých dobrovolníků, kteří sloužili jako kontrolní skupina. Výsledné hodnoty byly velmi fluktuující a nebyl zaznamenán žádný signifikantní rozdíl v hodnotách vSatO2 mezi skupinou pacientů s ischemickou BRVO, neischemickou BRVO, ani kontrolní skupinou.

Výsledky všech měření sítnicové oxymetrie u pacientů s CRVO se jeví konzistentnější než u pacientů s diabetem. Všechny tři studie ukázaly $vSatO_2$ u očí s CRVO (Hardarson & Stefansson 2010; Traustason et al. 2014; Eliasdottir et al. 2015). Naopak aSatO2 nebyla změněna v žádné z těchto studií při porovnání postižených očí se zdravými kontrolami. Pokles vSatO2 je odrazem množství kyslíku, které zbývá ve venózním systému po průchodu přes sítnicovou mikrocirkulaci. Jak spekulovala Eliasdottir et al. (2015), dá se předpokládat, že pokles nasycení je výsledkem snížení průtoku krve nebo zvýšení extrakce kyslíku. Okluze má vliv na průtok krve v cévách, a tím snižuje dodávku kyslíku do tkání. Hypoxické tkáně extrahují více kyslíku ze sníženého množství krve proudícího cévou, a tím způsobují pokles úrovně kyslíku v sítnicových vénách. Campochiaro et al. (2013) zjistil, že aplikace ranibizumabu snižuje progresi sítnicové kapilární non-perfuze u CRVO. Snížením kapilární non-perfuze se zvýší průtok krve v sítnici, což vede ke zvýšení vSatO2. Tento nález je ve shodě s nálezem Traustason et al. (2014), který potvrdil zvýšení $vSatO_2$ u pacientů s CRVO po terapii anti-VEGF preparáty.

U pacientů s BRVO je situace poněkud odlišná a v obou studiích byly výsledky značně heterogenní a nekonzistentní (Hardarson & Stefansson 2012a; Lin et al. 2016). Pokud však přistoupíme k hlubšímu zamyšlení, nejsou úplně neočekávané. Větvová okluze retinální žíly je stav s větší variabilitou závažnosti a různými příznaky, které závisí na rozsahu okluze. Při hodnocení BRVO je taktéž poměrně složité standardizovat analýzu, což jistě přispívá k heterogenitě výsledku.

Výrazný poznatek k této problematice přináší naše nejnovější studie (Šínová et al. 2018), ve které jsme studovali korelaci mezi výsledky kyslíkové saturace a ischemickým indexem retinální okluze.

Ischemický index venozní okluze je poměrně nový pojem, který je produktem zavedení širokoúhlých zobrazovacích systémů do klinické praxe, poprvé byl zmíněn v práci Tsui et al. (2011). Širokoúhlé systémy umožnují zobrazit sítnici v rozsahu až 200° v porovnání se standardním zobrazením v rozsahu 35°-50°. Díky tomuto zobrazení daleké periferie můžeme určit přesný poměr perfundované a neperfundované sítnice. Tento poměr, který nabývá hodnot 0-1 je nazýván ischemický index. Na obr. 12,13,14 jsou znázorněny příklady výpočtů ischemického indexu u CRVO a BRVO.

Ve studii Šínová et. al. 2018 bylo 43 očí 43 pacientů s RVO, z nichž 23 mělo CRVO a 20 pacientů BRVO. Demografická data pacientů jsou uvedena v tabulce 2. Výsledné hodnoty kyslíkové saturace jsou v tabulce 3. Tyto výsledky jsou plně ve shodě s předchozími studiemi, vSatO2 je signifikantě nižší v případech CRVO i BRVO. Dále byla pozorována statisticky významná negativní korelace mezi ISI a nasycením žil ve skupině CRVO ($r = -0.686$, $P = .0003$). Významná pozitivní korelace mezi hodnotou ISI a A-V diferencí byla zjištěna ve skupině CRVO ($r = 0.893$; $P < .0001$) (obr.15).

ISI představuje kvantitativní parametr vyjadřující míru ischemie (závažnosti) RVO. Zjistilio se, že se zvyšujícím se ISI se zvyšuje riziko makulárního edémemu a neovaskularizace (Tsui et al. 2011, Singer et al. 2014). Použití automatické retinální oxymetrie představuje také kvantitativní hodnocení RVO. Naše výsledky naznačují, že závažnost CRVO může být vyjádřena buď ISI nebo výsledky retinální oxymetrie. Korelace je také v souladu s výsledky u diabetických pacientů, kde byl nalezen vztah mezi hodnotami ISI a hodnotami saturace kyslíku v sítnici (Guduru et al. 2016). Kombinací všech doposud publikovaných výsledků se zjištěním korelace mezi parametry ISI a oxymetrie se jeví slibné, že obecný ischemický stav sítnice by mohl být sledován pomocí retinální oxymetrie u CRVO.

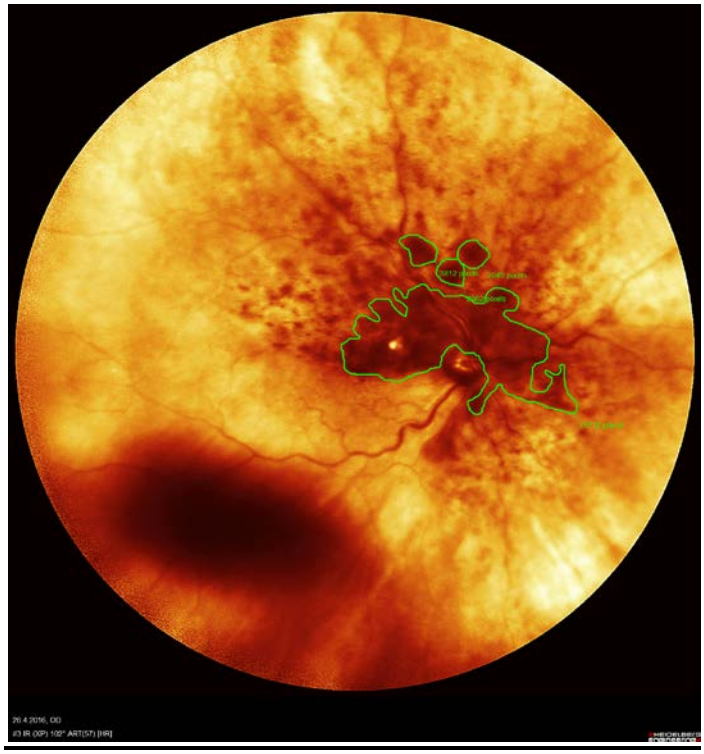
Na druhou stranu toto neplatí u BRVO, kde podobná korelace nalezena nebyla. Tento náš nález je ve shodě se všemi předešlými studiemi, kde u BRVO byla zjištěna vysoká variabilita výsledků saturace žilního kyslíku. Jde jen o další důkaz, že BRVO je podstatně variabilnější a musí být proto provedeny další

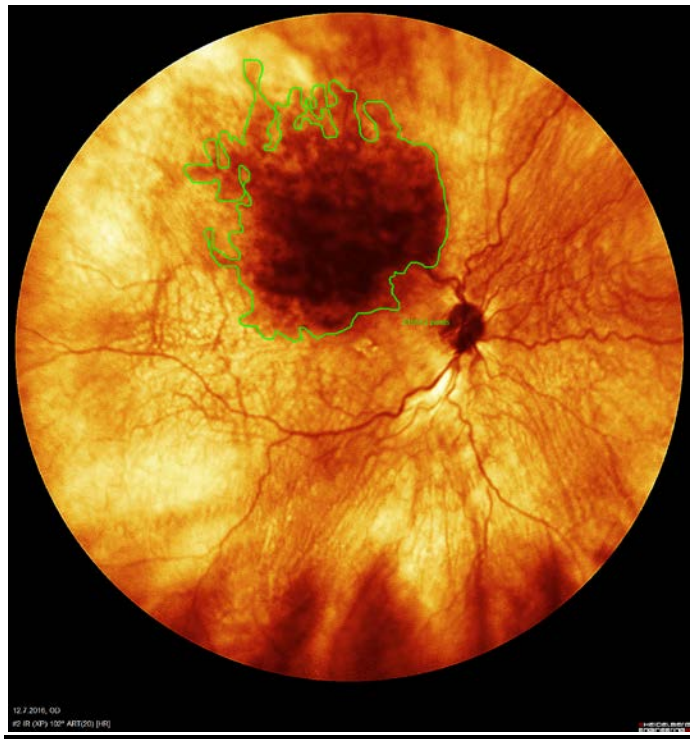
studie k pochopení všech mechanismů.

Potenciální klinické využití retinální oxymetrie a plány dalšího výzkumného směřování u RVO

Výsledky u pacientů s CRVO jsou velmi slibné, a ačkoliv byly doposud provedeny pouze izolované studie, je CRVO považována za diagnózu s největším potenciálem využití automatické retinální oxymetrie. V současnosti probíhá velká multicentrická studie, která si klade za cíl na velkém vzorku pacientů (300 pacientů s CRVO) sledovat změny v hodnotách saturace během jednoho roku léčby anti-VEGF preparáty. První výsledky studie jsou očekávány v průběhu roku 2018. U pacientů s BRVO je situace odlišná a vzhledem k heterogenitě výsledků je potenciální využití metody poněkud sporné. Hlavní příčinu problému představuje nemožnost absolutní standardizace analýzy u BRVO. V této otázce bude v budoucnu nápomocno doplnění oxymetrie o metodu OCT-angiografie, která ukáže kvantitativní postižení okludované oblasti a napomůže standardizaci metody. Dále se dá předpokládat určitá míra difuze kyslíku z neokludované oblasti sítnice do oblasti okluze, a tím následnou rozdílnou míru ovlivnění postiženého povodí.

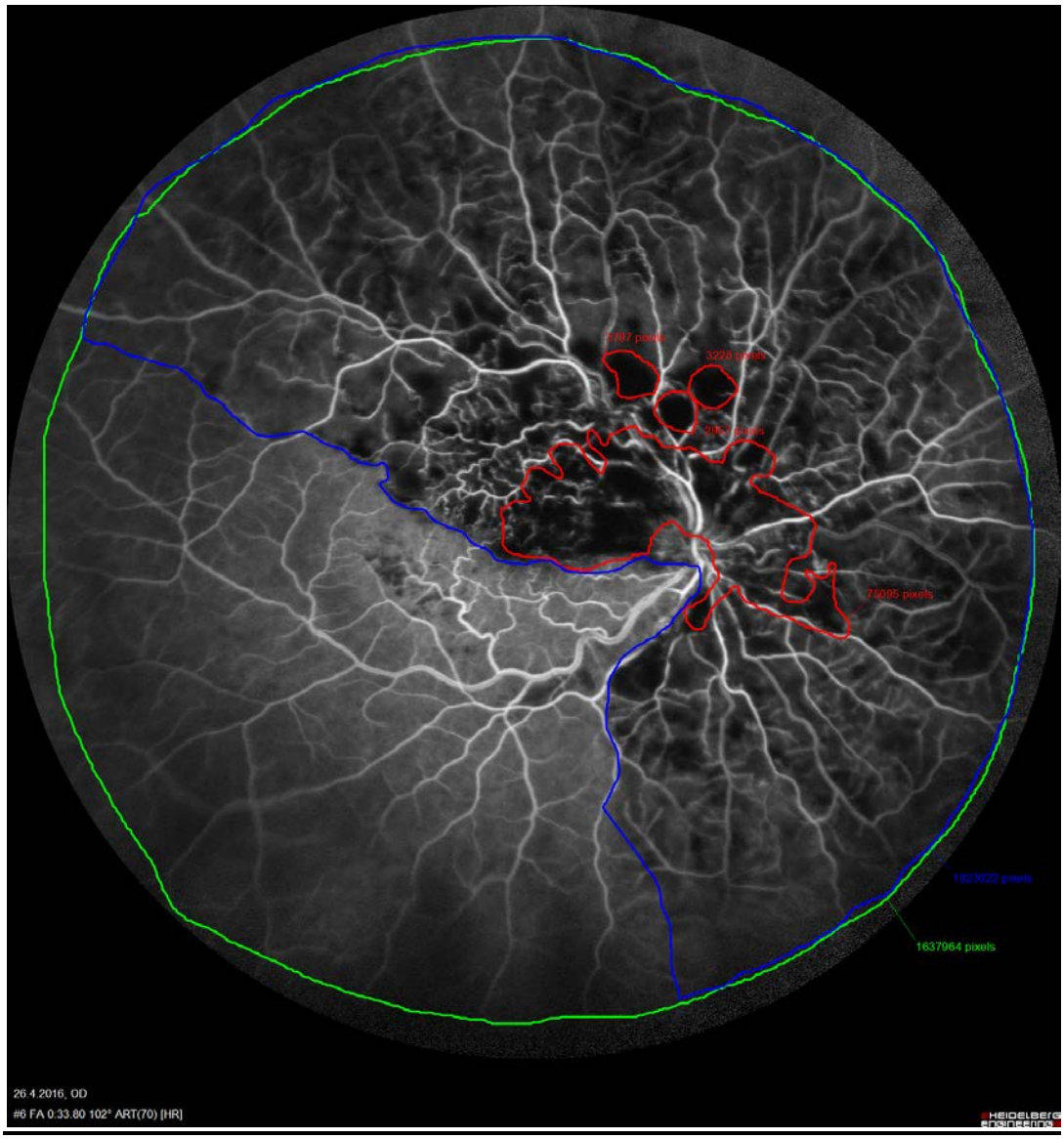
Obr. 12 *- Pseudobarevné fotografie fundu (nahoře CRVO, dole BRVO) s vyznačením hemorhagie (zelená čára). Data ze studie Šínová et al. (2018).*





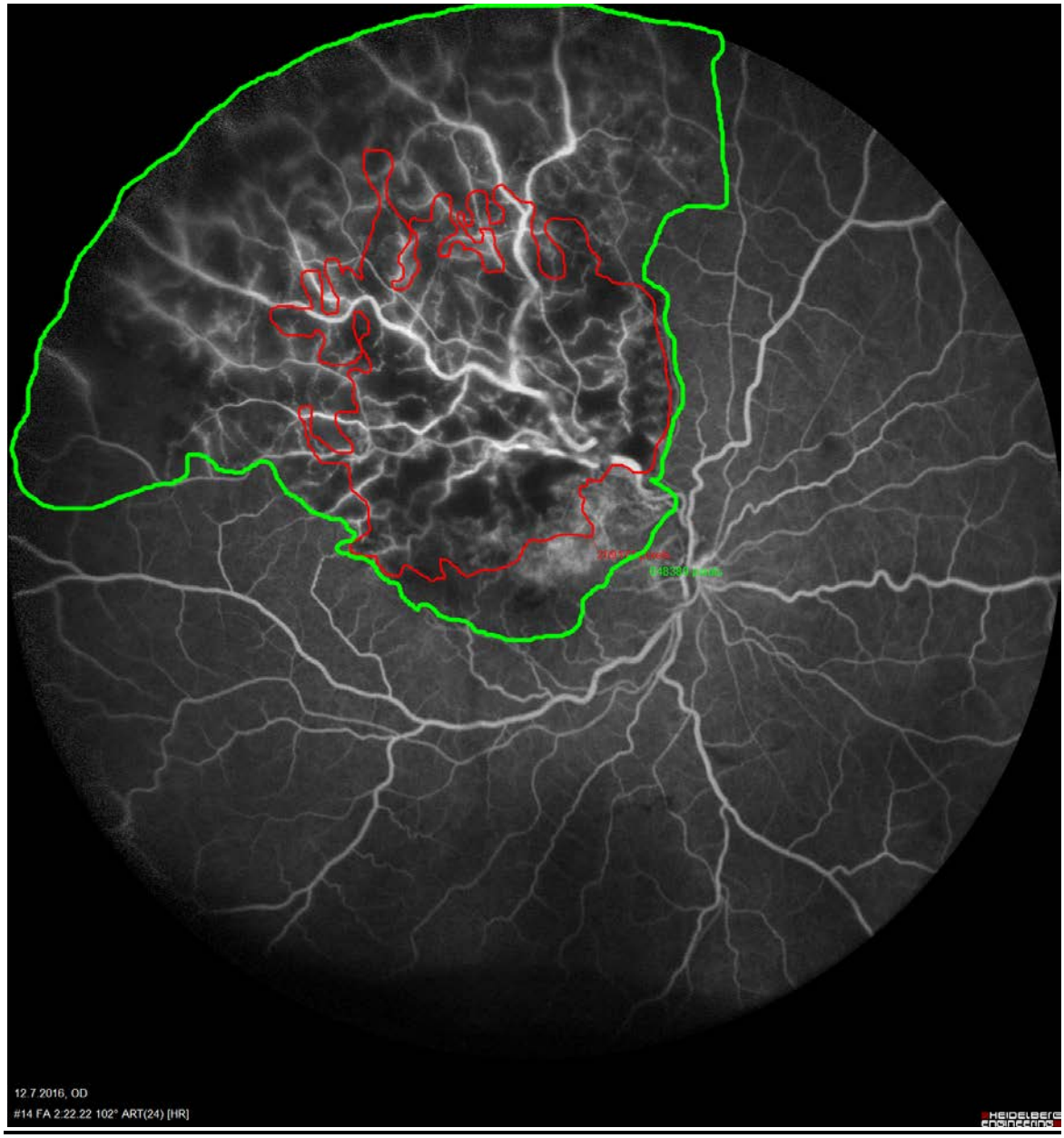
Obr. 13 *- Širokoúhlá fluorescenční angiografie CRVO (stejný případ jako na obr.12), hemorhagie ohraničena červenou čárou (přeneseno z obr.12), nonperfundovaná sítnice ohraničena modře, oblast celé RVO zeleně.*

Ischemický index v tomto případě je 0,6. Data ze studie Šínová et al. (2018).

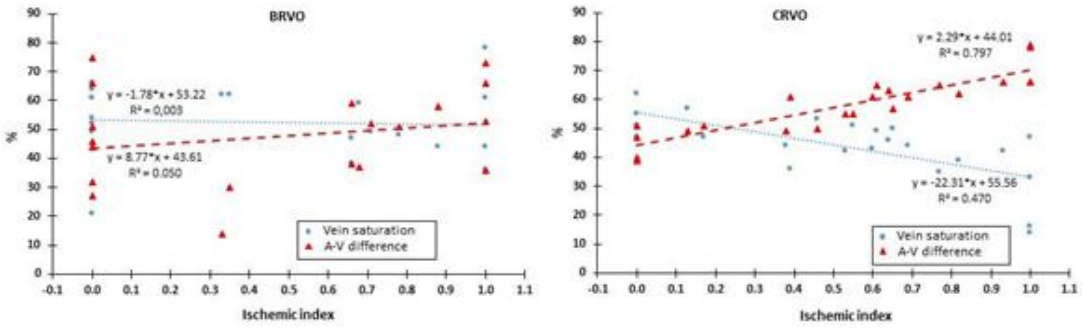


Obr. 14 *- Širokoúhlá fluorescenční angiografie BRVO (stejný případ jako na obr.12), hemorhagie ohraničena červenou čárou (přeneseno z obr.12), oblast celé RVO zeleně.*

Ischemický index v tomto případě je 1,0. Data ze studie Šínová et al. (2018).



Obr. 15 *- Graf závislosti saturace a ischemického indexu u BRVO a CRVO. Modře jsou označeny hodnoty venozní saturace, červeně hodnoty A-V diference. Data ze studie Šínová et al. (2018).*



Tab.2 *- Demografická data pacientů ze studie Šínová et al. (2018).*

Demografická data		
	BRVO	**CRVO**
Počet pacientů	20	23
Postižené oko (L\P)	10\10	13\10
pohlaví (M\Ž)	9\11	12\11
věk (roky)	68±7	63±9
Diabetes mellitus (počet pacientů)	2	3
Krevní tlak <140/90 (počet pacientů)	11	12
doba trvání symptomů	2-11 týdnů	1-11 týdnů
zkratky: L-levá, P-pravá, M-muž, Ž-žena, BRVO-větvová okluze sítnicové žíly, CRVO- kmenová okluze sítnicové žíly		

Tab.3 *- Výsledné hodnoty kyslíkové saturace u pacientů ze studie Šínová et al. (2018).*

Výsledky retinální oxymetrie			
BRVO			
	Postižené oko	Nepostižené oko	Hodnota P
Arteriální saturace (%)	100±11	96±3	.158
Venózní saturace (%)	52±13	63±7	**.015**
A-V diference (%)	48±16	34±7	**.006**
Průměr arterií (pixels)	11±2	11±1	.935
Průměr vén (pixels)	16±2	16±2	.366
CRVO			
	Postižené oko	Nepostižené oko	Hodnota P
Arteriální saturace (%)	101±6	97±3	**.010**
Venózní saturace (%)	44±11	61±7	**<.0001**
A-V diference (%)	58±10	35±9	**<.0001**
Průměr arterií (pixels)	12±2	11±1	.448
Průměr vén (pixels)	18±2	16±2	**.015**
zkratky: A-V-arterio-venózní, BRVO-větvová okluze sítnicové žíly, CRVO- kmenová okluze sítnicové žíly			

2. 4. Retinitis pigmentosa

Retinitis pigmentosa (RP) je dědičné onemocnění charakterizované pomalou, progresivní degenerací fotoreceptorů a pigmentového epitelu sítnice. Klinickým projevem onemocnění je šeroslepost, zúžení zorného pole a v konečném stádiu snížení centrální zrakové ostrosti (Hartong et al. 2006; Ferrari et al. 2011). Ačkoliv jde klinicky o jedno onemocnění s podobným průběhem, na genetické úrovni byl identifikován velký počet mutací v několika genech exprimovaných v retinálních fotoreceptorech a retinálním pigmentovém epitelu, které všechny způsobují retinitis pigmentosa (Ferrari et al. 2011). Genové mutace exprimované ve fotoreceptorech nebo v pigmentovém epitelu sítnice (Berger et al. 2010) vedou k degeneraci neuronů prostřednictvím různých poruch metabolických procesů, které ve většině případů způsobují buněčnou apoptózu (Marc & Jones 2003; Cottet & Schorderet 2009). V návaznosti na atrofii fotoreceptorů vnitřní sítnice reaguje sekundární přestavbou. Dochází k migraci pigmentu do intercelulárních prostor vnitřní sítnice a také k atrofizaci neuronů a proliferaci gliálních buněk ve vnitřních vrstvách sítnice (Marc & Jones 2003; Marc et al. 2003; Jones & Marc 2005). Jak dystrofie postupuje, terč zrakového nervu bledne a arterie se zeslabují (Marc & Jones 2003; Marc et al. 2003; Hamel 2006; Sahaboglu et al. 2013).

Bylo zjištěno, že dochází ke snížení průtoku krve v cévnatce a sítnici při RP. Pulzace krevního průtoku v oku se snižují při RP, a to je s největší pravděpodobností odrazem snížené choroidální cirkulace (Langham & Kramer 1990; Schmidt et al. 2001). Recentní studie zjistily snížení rychlosti krevního proudu v optické arterii a zadních ciliárních tepnách (Cellini et al. 2010) a zároveň snížení subfoveolárního choroidálního krevního průtoku (Falsini et al. 2011). Zhang et al. 2013 dále nalezli snížení celkového průtoku krve okem při kombinovaném měření sítnice a cévnatky pomocí MRI. Výraznější podíl z poklesu jde pravděpodobně za snížením průtoku choroideou. Histopatologické změny byly pozorovány v očích pacientů s RP, ve kterých chybí choroidální kapiláry v oblastech odpovídajících oblastem ztráty fotoreceptorů, a také

oblastem tvoření se obrazců kostních buněk (Henkind & Gartner 1983; Li et al. 1995; Milam et al. 1998). Nedávné studie na OCT ukázaly snížení tloušťky choroidei u RP (Adhi et al. 2013; Ayton et al. 2013; Dhoot et al. 2013).

Grunwald et al. (1996) měřil sítnicový oběh s pomocí laserové dopplerovské techniky a zjistil snížení objemového průtoku krve v hlavních sítnicových cévách při RP. Navíc bylo zjištěno, že rychlost krve je snížená v sítnicovém oběhu (Beutelspacher et al. 2011) a v centrální retinální arterii (Akyol et al. 1995).

Vzhledem k výše popsaným pochodům ve vaskulatuře sítnice je RP považována za modelový příklad choroby s potenciálem změn kyslíkové saturace na podkladě atrofizace. Doposud bylo provedeno 5 studií zaměřených na zkoumání změn kyslíkové saturace při RP.

Eysteinsson et al. (2014) publikoval výsledky pilotní studie na 10 pacientech s retinitis pigmentosa v porovnání s kontrolami ve stejném věku a se stejným pohlavím. Popsal signifikantně vyšší hodnotu $vSatO_2$ u pacientů s RP (58,0 ± 6,2%) v porovnání s hodnotou saturace 53,4 ± 4,3% u zdravých jedinců. Hodnota $aSatO_2$ nebyla signifikantně rozdílná mezi oběma skupinami. Dále bylo nalezeno signifikantní zúžení cévního diametru ve skupině pacientů s RP a to jak u arterií (8,9 ± 1,6 pixelu u RP proti 15,3 ± 1,4 pixelu u kontrolní skupiny), tak u vén (10,1 ± 1,2 pixelu u RP proti 11,4 ± 1,7 pixelu u kontrolní skupiny).

Türksever et al. (2014) publikoval výsledky měření oxymetrie na 21 očích 11 pacientů s RP ve srovnání se skupinou 24 očí 12 zdravých kontrol. U pacientů s RP dosáhla hodnota $aSatO_2$ 99,3%, hodnota $vSatO_2$ 66,8% a hodnota A-V diference 32,5%. U kontrolní skupiny byla hodnota $aSatO_2$ 92,4%, hodnota $vSatO_2$ 54,0% a hodnota A-V diference 38,4%. U skupiny pacientů s RP A-V diference dosáhla pozitivní korelace s centrální tloušťkou makuly.

Ueda-Consolvo et al. (2015) studoval 63 očí u 63 pacientů s RP a 14 očí u 14 zdravých kontrol. Průměrná kyslíková saturace ve vénách u očí pacientů s RP byla 60,2 ± 6,5%, což byla významně vyšší hodnota v porovnání se zdravými kontrolami 54,6 ± 6,3%. Hodnota vSatO2 u RP očí navíc významně korelovala se zbytkovými oblastmi zorného pole V-4e ($r = -0.50$; $p = 0,0030$). Průměrné

kalibry retinálních arteriol (91,1 ± 9,1 µm) a vén (116 ± 13 µm) u očí pacientů s RP byly podstatně užší než u očí zdravých kontrol (115 ± 11 µm a 152 ± 15 µm). Také kalibr retinálních arteriol a vén u RP očí koreloval s oblastmi zorného pole V-4e (r = 0,43; p = 0,033 u arteriol a r = 0,45; p = 0,011 u vén).

Battu et al. (2015) provedl studii na 62 pacientech s RP ve srovnání se skupinou 78 zdravých kontrol, které se nelišili věkem od studované skupiny (age-match controls). Cílem studie bylo hodnocení kyslíkové saturace a cévního průměru v sítnicových cévách. U pacientů s RP byl významně nižší průměr arterií - 98,4 um i vén - 136,9 um v porovnání se zdravými kontrolami (57,4um arterie a 160,4um vény). Dále měli signifikantně vyšší saturaci v arteriích 102,3% proti 90.6% u zdravých kontrol a venózní saturaci 59,1% proti 57.4% u zdravých kontrol. Hodnota A-V diference dosáhla vyšší hodnoty 43% ve srovnání se skupinou zdravých kontrol, kde tato hodnota byla 33,3%.

Zong Y. et al. (2016) měřil saturaci sítnicových cév u 68 pacientů s RP a 136 zdravých kontrol. Subjekty byly rozděleny do dvou věkových skupin: skupina A (20-40 let) a skupiny B (> 40 let). Ve skupině A byla $aSatO_2$ významně vyšší u pacientů s RP (105,5 ± 9,4%) v porovnání se skupinou zdravých jedinců (94,5 ± 4,4% ve skupině A, zatímco ve skupině B byla významně nižší u RP pacientů (86,8 ± 10,3%) v porovnání se skupinou zdravých jedinců (96,0 ± 4,8%). Cévní průměr byl u pacientů s RP menší než u zdravých jedinců v obou skupinách. Hodnoty $aSatO_2$ a A-V diference vykázaly negativní korelaci s trváním choroby a náznak k pozitivní korelaci s výsledky ERG u pacientů s RP.

Diskuze a komentáře k využití automatické oxymerie u RP:

Ve 4 studiích byla popsána zvýšená saturace ve venózní krvi ve srovnání s kontrolní skupinou (Eysteinsson et al. 2014; Türksever et al. 2014; Ueda-Consolvo et al. 2015; Battu et al. 2015). U 4 studií bylo popsáno zúžení cévního průměru v porovnání s kontrolní skupinou (Eysteinsson T. et al. 2014; Ueda-Consolvo et al. 2015; Battu et al. 2015; Zong et al. 2016).

Na základě popsaného snížení arteriálního i venózního průměru se krevní průtok

u pacientů s RP jeví snížen, což je v souladu s předchozími pozorováními (Merin & Auerbach 1976; Hartong et al. 2006; Ma et al. 2012). Pokles sítnicového průtoku krve v kombinaci se sníženou či nezměněnou A-V diferencí má za následek snížené zásobení kyslíkem v oblasti sítnicového oběhu. Sítnice může také pravděpodobně přijímat méně kyslíku z cévnatky u RP, jak naznačují studie, ve kterých je popsáno snížení choroidální krevní cirkulace (Langham & Kramer 1990; Schmidt et al. 2001; Falsini et al. 2011; Zhang et al. 2013). Zvýšená kyslíková saturace v sítnicových vénách, popsaná ve většině studií, je v souladu se sníženou poptávkou po kyslíku v důsledku retinální atrofie. To může znamenat, že snížená dodávka kyslíku a retinálního průtoku krve jsou spíše následkem degenerace než primární příčinou. V případě, že by byl opak pravdou a snížení průtoku krve by bylo příčinou atrofie, dalo by se očekávat snížení žilní saturace kyslíkem. V tomto případě by hypoxické tkáně extrahovaly větší množství kyslíku na jednotku objemu z omezeného množství protékající krve.

V literatuře existují další nepřímé důkazy, které naznačují, že změny v průtoku krve a saturace u RP jsou spíše sekundární změnou než primární příčinou. Grunwald et al. (1996) zjistil, že poměrný pokles krevního průtoku během inhalace čistého kyslíku je podobný u pacientů s RP i u zdravých kontrol. V případě, že by se sítnice nacházela v hypoxii u pacientů s RP, dal by se očekávat menší pokles krevního průtoku v odezvě na hyperoxii, to znamená, že krevní cévy sítnice by umožnily větší přísun kyslíku do hypoxické sítnice v porovnání s normooxií ve zdravé sítnici. Salom et al. (2008) navíc zjistil výrazné snížení hladiny vaskulárního endoteliálního růstového faktoru (VEGF-A) v komorové vodě u pacientů s těžkými formami RP. U hypoxických onemocnění sítnice, jako je například diabetická retinopatie, obecně nastává zvýšení exprese růstových faktorů, jako je VEGF (Aiello et al. 1994). Salom at al. (2008) předpokládá, že důvodem poklesu VEGF-A u RP může být snížený počet buněk retinálního pigmentového epitelu, které produkují VEGF (Marneros et al. 2005) a také hyperoxie v důsledku degenerace fotoreceptorů.

Změny v kyslíkové saturaci a krevním průtoku v sítnicové cirkulaci se mohou na první pohled zdát nelogické, protože u RP jsou hlavní degenerativní procesy

lokalizovány do oblasti vnější sítnice, která je zásobena primárně z cévnatkového oběhu. Jak se však ukazuje u histopatologických studií při RP dochází ke ztrátám buněk ve všech vrstvách sítnice (Santos et al. 1997; Milam et al. 1998; Humayun et al. 1999). Je také možné, že funkce a metabolismus zbývajících buněk vnitřní sítnice je snížen na podkladě nižší stimulace z oblasti vnitřní sítnice. Navíc snížení spotřeby kyslíku v zevních vrstvách sítnice umožnuje větší difuzi kyslíku z cévnatky do vnitřních vrstev sítnice, a tím ještě potencuje nižší potřebu kyslíku z retinálních cév. Na druhou stranu, jak již bylo zmíněno, u RP dochází prokazatelně ke snížení choroidálního průtoku a to jde samozřejmě proti zmíněnému efektu.

Všechny výše popsané mechanismy napovídají tomu, že změny v kyslíkové saturaci a cévním průměru jsou odrazem degenerativních procesů, ale vzhledem k absenci jednoznačného průkazu je nutno počítat i s eventuálním primárním cévním poškozením, ačkoliv je toto všeobecně považováno za velmi málo pravděpodobné. Bylo prokázáno, že u pacientů s RP dochází k translokaci pigmentových buněk, které mohou vytvářet perivaskulárně tlustá depozita extracelulární matrix (Li et al. 1995). Tímto mechanismem může potenciálně dojít ke zhoršení difuze kyslíku ze sítnicových cév do cílové tkáně a jako následek by se dala vysvětlit vyšší saturace ve venózní krvi sítnicových cév. Takto by hypoteticky mohl být vysvětlen mechanismus vzniku primární příčiny hypoxie v sítnici pacientů s RP.

Existují také některé důkazy pro změny ve vaskulatuře sítnice, které nejdou jednoduše vysvětlit jako sekundární reakce na snížení potřeby krve nebo kyslíku. Tlustá vrstva extracelulární matrix (ECM), vytvořená translokovanými RPE buňkami při RP, může způsobit zúžení nebo dokonce okluzi cévního lumen sítnicových cév (Li et al. 1995). Byly objeveny fenestrace v buňkách cévního endotelu v oblastech migrovaných RPE buněk v sítnici pacientů s RP, kterými unikají sérové proteiny do perivaskulárních prostorů (Li et al. 1995; Milam et al. 1998) a korelují s únikem fluoresceinu (Krill et al. 1970; Milam et al. 1998). A dále hladina vazokonstrikčního endotelinu-1 může být abnormální v krvi těchto pacientů, protože studie ukázaly jak vyšší (Cellini et al. 2002, 2010; Vingolo et

al. 2010), tak nižší (Ohguro et al. 2010) hladinu endotelinu-1.

Potenciální klinické využití retinální oxymetrieu RP a směr dalšího výzkumu

Automatická retinální oxymetrie u RP by potenciálně mohla sloužit k monitorování míry atrofie u tohoto onemocnění. Předpokladá se, že míra kyslíkové saturace je přímo závislá na množství zbývajících buněk. Problémem budoucího klinického využití jsou však podstatné cévní změny, které doprovázejí RP a znesnadňují interpretaci výsledků retinální oxymetrie u tohoto onemocnění. Zkoumání vztahu cévních změn a jejich vliv na výsledky krevní saturace měřené pomocí retinální oxymetrie představují hlavní výzkumný úkol pro nejbližší budoucnost.

2. 5. Glaukom

Glaukom je oční onemocnění považované za optickou neuropatii spojenou s apoptózou retinálních gangliových buněk a ztrátou zorného pole (Foster et al. 2002). Ačkoliv zvýšený nitrooční tlak je hlavním rizikovým faktorem pro glaukom, někteří pacienti i nadále progredují přes úspěšné snížení nitroočního tlaku (Broadway & Drance 1998). Existují dvě historické teorie patogeneze onemocnění, které zahrnují rozdílné patologické mechanismy. Jedna zdůrazňuje fyzikální důsledky zvýšeného nitroočního tlaku (IOP), které vedou k degenerativní změně ve tkáních (Sigal & Ethier 2009). Druhá teorie předpokládá, že cévní změny nastávají jako první a, že nedostatečné krevní zásobení nebo nedostatečně regulovaný přívod krve vede k ischemii, hypoxii a následné tkáňové degeneraci (Flammer et al. 2002,Resch et al 2009). Existuje stále více důkazů o tom, že průtok krve v glaukomovém oku je snížen nebo, že je regulace krevního průtoku narušena při srovnání s ne-glaukomovým okem (Grieshaber & Flammer 2005). Například byl popsán snížený průtok krve v choroidálním (Yin et al. 1997; Kerr et al. 1998) a retrobulbárním (Rojanapongpun et al. 1993; Harris

et al. 1994) řečišti u glaukomových pacientů. Plange et al. (2006) ukázal, že rychlost krve v centrální retinální arterii je snížená u více postiženého oka při asymetrickém glaukomovém postižení. Sato et al. (2006) již dříve zjistil, že průtok krve v neuroretinálním lemu se snižuje v oblastech odpovídajících skotomům u asymetrických normotenzních glaukomových očí. Dále systémové a lokální cévní abnormality mohou být spojeny s primárním glaukomem s otevřeným úhlem (POAG), (Hayreh et al. 1994; Drance et al. 2001) a snížený nitrooční perfuzní tlak může být spojen s vyšším výskytem glaukomu (Leske et al. 2002). Všechny výše zmíněné údaje naznačují, že cévní faktory mohou hrát roli. Není však jasné, zda tyto změny jsou primární či sekundární, tedy příčinou či následkem glaukomové atrofie sítnicových gangliových buněk a zrakového nervu.

Automatická retinální oxymetrie se jeví jako ideální vyšetřovací pomůcka v oblasti glaukomu. Jde o vědeckou oblast, ve které bylo provedeno největší množství výzkumných prací. V následujícím přehledu uvádím základní práce, které popisují naše současné znalosti v problematice změn saturace v sítnicových cévách u pacientů s glaukomovým onemocněním.

Olafdottir et al. (2011) popsala ve studii na 31 pacientech s primárním glaukomem otevřeného úhlu změny kyslíkové saturace v závislosti na rozsahu a kvalitě defektů zorného pole. Průměrná kyslíková saturace v žilách byla vyšší u osob s rozsáhlými defekty v zorném poli (68% ± 4%, průměr ± SD), v porovnání s těmi co měli dobré zorné pole (62% ± 3%, p = 0,0018). Průměrný rozdíl v A-V diferenci byl nižší u osob s postiženým zorným polem (30% ± 4%, n = 9), při porovnání s pacienty s nepostiženým zorným polem (37% ± 4%, p = 0,0003, n = 12). Nebyla nalezena žádná korelace mezi saturací v sítnicových arteriích a velikostí defektu zorného pole (n = 31; r = -0,16; P = 0,38). Naopak žilní saturace pozitivně korelovala s velikostí defektu v zorném poli (r = 0,43; P = 0,015) a stejně tak A-V diference (r = -0,55, p = 0,0013). Střední pO2 v retinálních žilách všech pacientů byl 38 ± 3 mmHg. Tato hodnota byla výrazně vyšší u osob s velkými defekty zorného pole (40 ± 3 mmHg), v porovnání s těmi s pouze malými defekty zorného pole (36 ± 2 mmHg; p = 0,0016).

Změny kyslíkové saturace v závislosti na strukturálních změnách na terči zrakového nervu zkoumal Vandewalle et al. (2014) na 59 pacientech s glaukomem. Střední kyslíková saturace v žilách byla vyšší u pacientů s těžkým defektem zorného pole ve srovnání s pacienty s mírnými defekty zorného pole (69 ± 3% oproti 65 ± 6%; p = 0,0003; n = 59). V souladu s tím A-V diference byla nižší u pacientů se závažným defektem zorného pole ve srovnání s pacienty s malými defekty zorného pole (29 ± 3% oproti 33 ± 6%; p = 0,002). Kyslíková saturace v retinálních žilách korelovala s velikostí defektu zorného pole (r = -0.42; p = 0.001; n = 59) a zároveň s velikostí neuroretinálního lemu (měřeného pomocí HRT) a tloušťkou vrstvy nervových vláken (RNFL) (r = -0.39; p = 0.008 a r = -0.26; p = 0.05 v uvedeném pořadí; n = 53). Arteri-venózní diference se signifikantně snížila v závislosti na zhoršení defektu zorného pole (r = 0,38; p = 0,003), zmenšením plochy neuroretinálního lemu (r = 0,29; p = 0,03) a zmenšením tloušťky RNFL (r = 0,27; p = 0,05).

Olafdottir et al. (2014) porovnávala 74 glaukomových pacientů s 89 zdravými kontrolami. Nebyl zaznamenán žádný statisticky významný rozdíl mezi dvěma skupinami a to v žádném z měřených parametrů - arteriální saturace, žilní saturace, AV diference. Jestliže však bylo vybráno 21 pacientů s pokročilým glaukomem (střední rozsah zorného pole MD ≥ 10 dB) bylo zaznamenáno zvýšení saturace ve venózní krvi ve srovnání se zdravými jedinci, (58,2% ± 5,4% vs. 53,8% ± 6,4%; p = 0,0054, průměr ± SD) a rozdíl v A-V saturaci byl nižší u těchto pacientů (36,4% ± 4,7% vs. 39,5% ± 5,7%; p = 0,021). U 33 pacientů s méně závažným defektem zorného pole (MD ≤ 5 dB) nebyl zaznamenán žádný statisticky signifikantní rozdíl.

Doposud největší studií v této oblasti představuje nedávno publikovaná Lovaňská oční studie [Leuven Eye Study] (Abegão Pinto et al. 2016). Jedná se o prospektivní studii na 614 pacientech. Pacienti byli rozděleni do skupin dle typu glaukomu: primárním glaukomem s otevřeným úhlem (PGOU), normotenzní glaukom (NTG) a skupina zdravých dobrovolníků. Hodnota $aSatO_2$ nedosáhla statisticky signifikantního rozdílu mezi jednotlivými skupinami: 97,0 ± 16,4% u PGOU, 96,2 ± 10,1% u NTG a 95,5± 6,2% u zdravých dobrovolníků.

Hodnota $vSatO_2$ byla 59,2 ± 13,8% u PGOU, 62,4 ± 12,5% u NTG a 58,8± 7,0% u zdravých dobrovolníků, což přestavovalo signifikantně vyšší hodnotu ve skupině NTG. V závislosti na zvýšené hodnotě byla signifikantně nižší hodnota A-V diference ve skupině NTG a to 33,8± 12,2% v porovnání s 37,9 ± 12,7% u PGOU a 36,8 ± 7,1% u zdravých dobrovolníků.

Diskuze a komentáře k použití automatické retinální oxymetrie u glaukomu

Ve všech doposud publikovaných studiích byla kyslíková saturace v retinálních arteriích relativně stabilní a nezměnila se se stupněm závažnosti glaukomu. Kyslíková saturace v retinálních vénách se však zvýšila ve všech studiích na podkladě progrese glaukomu. Toto zvýšení saturace koreluje jak s funkční změnou (velikost defektu v zorném poli), tak s morfologickými parametry (tloušťka RNFL a plocha neuroretinálního lemu). A-V diference je logicky v zrcadlové závislosti k oběma zmíněným parametrům jako hodnota venózní saturace. Nižší A-V diference spolu se snížením očního průtoku krve u glaukomu, jak je vidět v dřívějších studiích (Rojanapongpunet al. 1993, Harris et al. 1994, Abegão Pinto et al. 2016), naznačuje menší spotřebu kyslíku v sítnici v závislosti na snížení množství a funkce nervových buněk v sítnici. V případě glaukomu je hodnocení příčiny a následku tohoto jevu velmi složité a dá se říci, že na podkladě současných znalostí je zodpovězení této otázky nemožné. Zajímavá data z tohoto pohledu přinesla recentní Lovaňská oční studie (Abegão Pinto L. et al. 2016), která ukázala rozdíl v hodnotách kyslíkové saturace u pacientů s glaukomem otevřeného úhlu a normotenzním glaukomem. Tato data naznačují, že skutečně nitrooční tlak nemusí být jediným faktorem v patogenezi glaukomu a jak bylo již dříve předpokládáno, minimálně u normotenzního glaukomu je podíl vaskulární složky významnější. Velmi významnou překážkou pro zodpovězení otázky vlivu vaskulárních změn v patogenezi glaukomu za pomoci použití automatické retinální oxymetrie představuje absence delšího sledovacího času měření. Vzhledem k principu automatické retinální oxymetrie představují současná data ze studií hodnotu saturace pouze v jeden okamžik, kdy dochází k pořízení fotografie fundu. Vaskulární změny mohou nastávat intermitentně,

podobně jako změny nitroočního tlaku, které, jak bylo popsáno, často nastávají v nočních hodinách (Cheng et al. 2016). V tomto případě by bylo nutné provést více měření u jednoho pacienta v různých časových úsecích během dne, podobně jako se provádí měření křivky nitroočního tlaku. Dle mých informací však doposud podobná studie provedena nebyla.

Další významnou slabinou všech doposud publikovaných studií je z mého pohledu skutečnost, že do studií byli nabíráni pacienti na antiglaukomatozní terapii. Ačkoliv přes terapii je u těchto pacientů výraznější nález glaukomových změn, mohou být výsledné hodnoty kyslíkové saturace změněny pod vlivem antiglaukomatik, jak bylo popsáno v práci Traustason S. et al. (2009). Všechny tyto nevýhody zdůrazňují vliv zvyšování kyslíkové venózní saturace (a zrcadlového pohledu A-V diference) jako sekundárního následku atrofie buněk, ačkoliv skutečnost, minimálně u normotenzních glaukomů, může být jiná.

Potenciální klinické využití retinální oxymetrie a plány dalšího výzkumného směřování u glaukomu

Otázka příčiny a následku, jak bylo nastíněno v předchozím textu vaskulárních změn, v současnosti představuje u glaukomu hlavní vědecký problém, který bude potřeba vyřešit v následujícím období. Z klinického hlediska by se automatická retinální oxymetrie mohla stát vhodným doplňkem k současným morfologickým zobrazovacím metodám (OCT, HRT) při diagnostice a monitorování účinnosti léčby u glaukomu.

2. 6. Automatická retinální oxymetrie u neurologických chorob.

Sítnice je stejně jako mozek součástí centrálního nervového systému. Sítnice je ideální strukturou pro posouzení stavu nervových struktur, protože zde chybí myelin a gangliové buňky jsou přímo dostupné pro pozorování (Hu et al., 2015). Studie s optickou koherenční tomografií (OCT) prokázaly zeslabení vrstvy nervových vláken a

dalších strukturálních anomálií v sítnici při onemocněních mozku, jako je Alzheimerova choroba (AD), roztroušená skleróza a Parkinsonova choroba (Costello 2011). Retinální oximetrie nabízí příležitost doplnit morfologické zobrazování, vycházejíce s předpokladu, že metabolické změny mozkových onemocnění se mohou projevovat v sítnici.

Einarsdottir et al. (2015) byla první, která prokázala metabolické změny v sítnici při onemocnění mozku, když zaznamenala oxymetrické abnormality v sítnici pacientů s Alzheimerovou chorobou ve srovnání se zdravou kohortou. Ve studii bylo 18 pacientů s mírnou až středně těžkou demencí na podkladě Alzheimerovi choroby (stupeň 3-5 podle GDS [Global Deterioration Scale]) a 18 zdravých jedinců v kontrolní skupině. Hodnoty sítnicové saturace kyslíkem v arteriolách a venulách u pacientů se středním stupněm AD byly významně zvýšené ve srovnání se zdravými jedinci. Hodnota $aSatO_2$ byla 94,2 ± 5,4% u středně závažné AD v porovnání s 90,5 ± 3,1% u zdravých jedinců (p = 0,028). Hodnota $vSatO_2$ dosahovala 51,9 ± 6,0% u středně silného AD v porovnání s 49,7 ± 7,0% u zdravých jedinců (p = 0,02).

Einarsdottir et al. (2018) provedla pilotní měření osmi pacientů s MS s dávnější anamnézou optické neuritidy ve srovnání s 22 zdravými jedinci. Venózní saturace kyslíkem byla signifikaně zvýšena u pacientů s MS ve srovnání se zdravými jedinci (70,7 ± 3,4% oproti 66,2 ± 4,7, p = 0,021). Arterio-venózní diference byla u pacientů s MS vyšší než u zdravých (26,6 ± 3,6% oproti 30,5 ± 4,8%, p = 0,049). U pacientů s MS (97,3 ± 1,7%) a zdravých jedinců (96,7 ± 2,8%) nebyl zaznamenán žádný rozdíl v kyslíkové saturaci v arteriolách.

V obou zmíněných studiích, které byly zaměřeny na chronické stádium onemocnění došlo ke zvýšení $vSatO_2$, které koresponuje s mírou atrofie a tím sníženou potřebou kyslíku. Podobný vzorec můžeme pozorovat u atrofických chorob sítnice jeko je RP či glaukom (Abegão Pinto et al. 2016; Zong Y. et al. 2016). Tento nález plně koresponduje s těsným vztahem mozku a sítnice a představuje výrazný příslib pro budoucí možnosti monitorace atrofie mozkové

tkáně u různých degenerativních chorob.

Zajímavá data k tomuto tématu přinesla nedávná studie našeho týmu (Svrčinová et al. 2017), která byla zaměřena na akutní stadium optické neuritidy na podkladě MS. Arterio-venózní diference byla zvýšena v postiženém oku pacientů ve srovnání s druhým nepostiženým okem (34,2 ± 4,7 versus 31,3 ± 4,6, p = 0,044). Tato studie ukazuje, že změny v optickém nervu vedou ke zvýšení spotřeby kyslíku na sítnici. Předpokládaným vysvětlením tohoto jevu je, že RNFL se skládá z axonů gangliových buněk, které mohou být ovlivněny axonálním zánětem, což může vést ke zvýšené spotřebě kyslíku při vyšších metabolických požadavcích gangliových buněk zasažených autoimunitními procesy. Tento mechanismus byl popsán u experimentální optické neuritidy myší (Shindler et al. 2008).

Potenciální klinické využití retinální oxymetrie a plány dalšího výzkumného směřování u neurologických chorob

K otázce klinického využití automatické retinální oximetrie u neurologických pacientů je v současné době velmi těžké se smysluplně vyjádřit, protože se jedná o úplně novou oblast využití tohoto přístroje. Až následující roky ukáží skutečný potenciál v této oblati, ale z mého pohledu by mohlo jít o podobný proces jako je současný rozvoj diagnostiky neurologických onemocnění pomocí OCT. Vzhledem k velké výhodě neinvazivnosti metody a jejímu vhledu do metabolických procesů předpokládám velký potenciál i v této oblasti.

3. Cíle habilitační práce

Tato práce si klade za cíl stanovení vlivu pars plana vitrektomie (PPV) na saturaci kyslíku v retinálních cévách u pacientů po jednoletém sledování při srovnání diabetických a nediabetických pacientů.

4. Metodika, soubor pacientů a statistická analýza dat

4. 1. Soubor pacientů

Provedli jsme prospektivní intervenční studii s cílem prozkoumat účinek PPV na saturaci krevních cév sítnice při sledování po dobu 52 týdnů. Studijní protokol

byl schválen Etickou komisí Fakultní nemocnice Olomouc a byl proveden v souladu se správnou klinickou praxí a Helsinskou deklarací. Všichni pacienti před vstupem do studie podepsali informovaný souhlas.

Studovaný soubor pacientů sestával z 82 očí 82 pacientů. Pacienti byli rozděleni do tří podskupin. První podskupinu tvořili pacienti s makulární dírou (MH, n = 34), druhou podskupinu pacienti s epiretinální membránou (ERM, n = 23) a poslední pacienti s neproliferativní diabetickou retinopatií (NPDM, n = 25). U všech byla provedena operace PPV. U pacientů s diabetem byla indikací k operaci sklivcová trakce v 10 případech a ERM v 15 případech (pozn.: pacienti s DM byly rozdílní od pacientů s ERM v předcházející podskupině). Žádný z pacientů s diabetem nebyl během sledování léčen anti-VEGF terapií nebo laserovou fotokoagulací, protože indikací PPV nebyl diabetický makulární edém (DME) či sklivcové neovaskularizace. Ve většině případů (n = 66; 80%) jsme použili bezstehovou 23G PPV a u zbývajících (n = 16; 20%) jsme použili klasickou 20G PPV. Průměrný věk pacientů v souboru byl 68,7 ± 7,5 let. V souboru bylo 48 žen a 34 mužů. Na počátku sledování bylo 36 pacientů artefakických a 48 pacientů fakických. Během sledování podstoupilo 23 pacientů operaci katarakty (ve všech případech mezi sledovaným týdnem 7 a 52). To znamenalo, že na konci sledování v 52. týdnu bylo 59 artefakických a 23 fakických pacientů. Tabulka 4 znázorňuje rozložení stavu čoček v podskupinách pacientů podle jejich diagnózy. Nábor pacientů do studie byl proveden postupně v období od ledna 2012 do června 2013 a sledování pokračovalo do června 2014.

4. 2. Automatická retinalní oxymetrie

Automatická retinální oxymetrie byla u všech pacientů provedena 24 hodin před plánovanou PPV. Po operaci se vyšetření opakovalo v 7. týdnu (rozmezí 6-8 týdnů) a v 52. týdnu (rozmezí 48-56 týdnů). Pro měření retinální oxymetrie jsme

použili standardizované podmínky. Ve všech případech byla měření provedena v tmavé místnosti pro eliminaci vlivu světla na přesnost výsledků (Hardarson et al. 2009). Fotografie fundu byla provedena minimálně ve dvou exemplářích, ze kterých byl vybrán ten s nejvyšší kvalitou pro provedení analýzy. Fotografie fundu byla provedena v šířce 50° a byl centrován na temporální hranu optického nervu. Síla blesku (osvětlení fotografie při expozici) byla při všech foceních nastavena na hodnotu 50 Ws.

Pro analýzu kyslíkové saturace byla použita doporučení poslední verze analytického protokolu z listopadu 2013 *(Oxymap protocol for acquisition and analysis of Oxymap T1 oximetry images, version November 21, 2013; Oxymap Inc.).* Do analýzy byly zavzaty pouze sítnicové arterie a vény s průměrem větším než 8 pixelů. Měření bylo prováděno na cévách v takzvané měřící oblasti (measurement zone). Tato oblast je ohraničena dvěma soustřednými kružnicemi o velikosti 1,5 PD a 3 PD s centrem obou kružnic v centru papily (obr. 16).

Celková průměrná saturace byla vypočítána jako součet kyslíkových saturací všech arterií (nebo vén) násobené čtvrtou mocninou jejího průměru s následným podílem součtu čtvrtých mocnin průměrů všech arterií nebo vén (Feke et al. 1989, Traustason et al. 2011). Uvedený vzorec platí pro případ měření osmi cév:

Průměrná kyslíková saturace

$$= \frac{S_1 * d_1^4 + S_2 * d_2^4 + S_3 * d_3^4 + S_4 * d_4^4 + S_5 * d_5^4 + S_6 * d_6^4 + S_7 * d_7^4 + S_8 * d_8^4}{d_1^4 + d_2^4 + d_3^4 + d_4^4 + d_5^4 + d_6^4 + d_7^4 + d_8^4}$$

Kde:

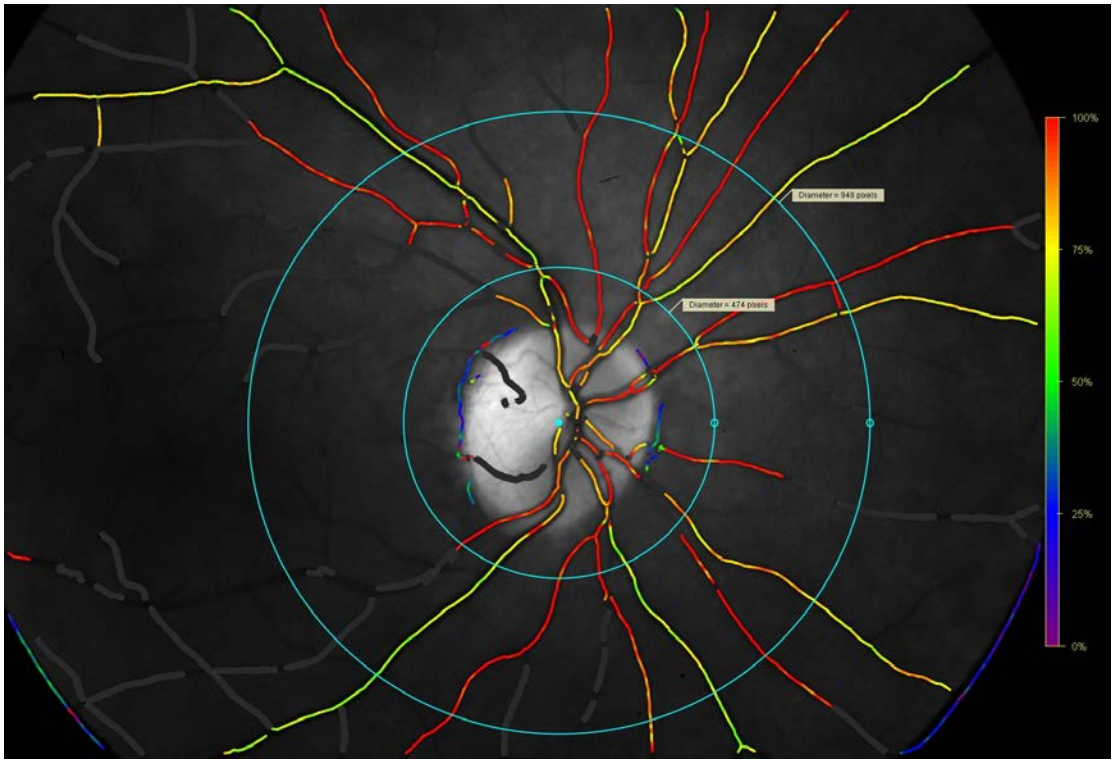
S = saturace n-tého cévního segmentu

d = průměr *n-tého cévního segmentu*

Arterio–venozní diference (A-V diference) byla vypočítána jako rozdíl průměrné arteriální a venózní kyslíkové saturace (Traustason et al. 2011).

Hodnota průměru cév u jednoho pacienta byla vypočítána jako průměr všech naměřených průměrů cév, které byly použity k výpočtu saturace kyslíku (jak je popsáno výše).

Obr.16: *Měřící oblast (measurement zone), která je ohraničena dvěma soustřednými kruhy s průměrem 1,5 a 3 PD.*



4. 3. Pars plana vitrektomie a operace katarakty

Operace pars plana vitrektomie byla provedena v regionální subtenonské anestezii třemi chirurgy. Ve všech případech byla provedena arteficiální ablace zadní sklivcové membrány, s následující důkladnou vitrektomií a shavingem sklivcové baze za pomocí širokoúhlého vizualizačního systému.

Peeling vnitřní limitující membrány a/nebo ERM byl proveden za použití

membránové modři u všech případů ERM a MH. Na konci operace jsme použili plynovou tamponádu u 39 (48%) pacientů (SF6 bylo použito u 38 pacientů C3F8 u jednoho). V souboru nebyl žádný případ kombinované operace PPV a katarakty v jedné době. Během sledovaného období (mezi 7. a 52. týdnem) podstoupilo 23 pacientů nekomplikovanou operací katarakty (fakoemulzifikace s implantátem intraokularní čočky /IOL/ do vaku). V souboru jsme použili dva typy IOL. Ve 13 případech (57%) byla implantována čočka AcrySof SA60AT IOL (Alcon Laboratories Inc., Fort Worth, TX, USA) a v 10 případech (43%) byla implantovánačočka AcrySof Natural SN60AT IOL (Alcon Laboratories Inc., Fort Worth, TX, USA).

4. 4. Statistická analýza

Normálnost rozložení dat byla ověřena Shapiro-Wilkovým testem. Rozložení dat bylo vyhodnoceno jako neparametrické pro saturaci kyslíkem a jako parametrické pro průměr cév ve všech podskupinách. Sady dat byly porovnány Friedmanovým testem nebo ANOVA testem na základě jejich rozložení.

Data byla následně rozdělena do podskupin podle diagnózy (MH, ERM a DM) a podle stavu čoček (fakické, artefakické a pacientů, kteří podstoupili fakoemulzifikaci).

V případě statisticky významných rozdílů v podskupině jsme použili Wilcoxonův test nebo párový t-test s Bonferroni korekcí pro párové porovnání rozdílů mezi různými následnými kontrolami. Data jsou prezentována jako medián ± standardní odchylka. Hodnota $p < 0,05$ byla považována za statisticky významnou. Všechny výpočty byly provedeny pomocí programu SPSS v.15 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

5. Výsledky

5. 1. Kyslíková saturace

Arteriální saturace se významně zvýšila z 96,4% ± 2,9% při počátku sledování na 96,6% ± 3,4% v 7. týdnu a na 97,3% ± 3,4% v 52. týdnu (p <0,0001, Friedmanův test). Všechny údaje o arteriální saturaci s údaji o výsledcích v podskupinách jsou uvedeny v tabulce 5. Venózní saturace také významně vzrostla z 63,5% ± 7,9% při vstupu do studie na 66,1% ± 7,7% a 67,0% ± 7,2%

v 7. a 52. týdnu (p <0,0001, Friedmanův test). Všechny údaje o výsledné kyslíkové saturaci žil s analýzou podskupin jsou uvedeny v tabulce 6. Hodnota A-V diference významně klesá po vitrektomii v naší studii a to z 32,8% ± 7,5% při vstupu do studie až na 30,5% ± 7,5% a 30,3% ±7,0% v 7. a 52. týdnu (p <0,0001, Friedmanův test). Všechny hodnoty A-V diference s údaji o výsledcích podskupin jsou k dispozici v tabulce 7.

5. 2. Cévní průměr

Střední arteriální průměr u pacientů s ERM klesl z 11,7 ± 0,9 pixelů při vstupu do studie na 11,5 ± 0,9 pixelů v 7. týdnu a 11,3 ± 1,0 pixelu v 52.týdnu (p = 0,0002; ANOVA). U pacientů s diabetem se střední průměr snížil z 12,0 ± 0,8 pixelů na 11,4 ± 0,8 pixelu v týdnech 7 a 52 (p <0,0001, ANOVA). U pacientů s MH byl výchozí střední arteriální průměr 11,6 ± 0,9 pixelů a snížil se (ne však statisticky významně) na 11,4 ± 1,0 pixelu v 7. a 52. týdnu (p = 0,761; ANOVA). Střední průměr žil ve všech případech signifikantě poklesl. V podskupině MH, průměr klesl z 15,9 ± 1,5 pixelů na 15,5 ± 1,5 pixelu v týdnu 7 i 52 (p <0,0001; ANOVA). V podskupině ERM došlo k poklesu z 15,9 ± 1,6 pixelů na 15,6 ± 1,6 pixelu v 7.týdnu a 15,5 ± 1,6 pixelu v 52.týdnu (p = 0,002, ANOVA). U pacientů s diabetem se průměrný průměr žíly snížil z 16,4 ± 1,4 pixelů na 15,7 ± 1,5 pixelu v 7. týdnu a 15,6 ± 1,3 pixelu v 52. týdnu (p <0,0001; ANOVA). Byly zkoumány rozdíly arteriálních a žilních průměrů mezi podskupinami na počátku léčby (p = 0,125 pro průměr tepny, p = 0,272 pro průměr žíly, ANOVA). Analýza nezjistila žádný statistický rozdíl v průměru cévy v souvislosti se stavem čočky. Všechny hodnoty středních rozdílů v průměru cév jsou uvedeny v tabulce 8.

***Tab. 4** - rozložení stavu čočky v podskupinách pacientů v závislosti na diagnóze*

Stav čočky v různých podskupinách v závislosti na diagnóze			
	pseudofakičtí pacienti	***pacienti s přirozenou čočkou***	***operace kataraty v průběhu sledování***
podskupina MH	47% (n=16)	24% (n=8)	29% (n=10)
podskupina ERM	35% (n=8)	39% (n=9)	26% n=6)
podskupina DM	48% (n=12)	24% (n=6)	28% (n=7)
zkratky: MH-makulární díra, ERM-epiretinální membrána, DM-diabetes mellitus, n-počet			

Tab. 5 *– Výsledky* ***arteriální saturace po PPV***

Arteriální saturace							
					p (párové testy s Bonferroniho korekcí)		
	vstupní vyšetření	týden 7±1	týden 52±4	p (Friedmannův test)	vstup-týden 7	vstup-týden 52	týden 7-týden 52
všichni pacienti (n=82)	96.4±2.9 %	96.6±3.6 %	97.3±3.4%	**p < 0.0001**	p = 0.66	**p = 0.006**	p = 0.18
podskupina MH (n=34)	96.4±2.4 %	96.8±3.9 %	97.6±3,6%	p = 0.313	NA	NA	NA
podskupina ERM (n=23)	96.7±3.0 %	96.7±3.1 %	97.5±3.4 %	p = 0.58	NA	NA	NA
podskupina DM (n=25)	96.0±3.4 %	96.3±3.6 %	96.6±3,2 %	p = 0.315	NA	NA	NA
podskupina artefakičti pacieti (n=36)	97.5±2.9 %	98.9±3.1 %	99.1±2.6 %	**p = 0.0001**	**p = 0.0003**	**p = 0.0006**	p = 1.0
podskupina přirozená čočka (n=23)	95.9±2.6 %	95.1±3.1 %	93.9±2.6 %	**p < 0.0001**	p = 0,264	**p = 0.0009**	**p = 0.003**
podskupina operacekatarakty (n=23)	95.0±2.3 %	94.6±2.4 %	97.7±2.8 %	**p < 0.0001**	p = 0,81	**p = 0.0003**	**p < 0.0001**
zkratky: MH-makulární díra, ERM-epiretinální membrána,DM-diabetes mellitus, n-počet							

Tab. 6 *– Výsledky* ***venózní saturace po PPV***

Venózní saturace							
					p (párové testy s Bonferroniho korekcí)		
	vstupní vyšetření	týden 7±1	týden 52±4	p (Friedmannův test)	vstup-týden 7	vstup-týden 52	týden 7-týden 52
všichni pacienti (n=82)	63.5±7.9 %	66.1±7.7 %	67.0±7.2 %	**p < 0.0001**	**p < 0.0001**	**p < 0.0001**	**p = 0,045**
podskupina MH (n=34)	62.4±6.9 %	65.8±7.2 %	67.0±7.1 %	**p < 0.0001**	**p < 0.0001**	**p < 0.0001**	**p = 0,03**
podskupina ERM (n=23)	62.0±8.2 %	65.5±6.8 %	66.8±6.3 %	**p = 0.00001**	**p < 0.0001**	**p = 0.0003**	p = 0.84
podskupina DM (n=25)	66.4±8.3 %	67.0±9.1 %	67.2±8.2 %	p = 0,213	NA	NA	NA
podskupina artefakičtí pacieti (n=36)	63.8±8.7 %	67.0±8.2 %	67.3±8.0 %	**p < 0.0001**	**p = 0.00003**	**p = 0.00003**	p = 0.093
podskupina přirozená čočka (n=23)	64.9±6.6 %	67.0±6.5 %	65.2±6.3 %	**p = 0.0003**	**p = 0.003**	p = 1.0	**p = 0.003**
podskupina operace katarakty (n=23)	61.8±7.7 %	63.7±7.5 %	68.3±6.5 %	**p < 0.0001**	**p = 0.12**	**p = 0.00009**	**p = 0.0001**
zkratky: MH-makulární díra, ERM-epiretinální membrána,DM-diabetes mellitus, n-počet							

Tab. 7 *– Výsledky* ***A-V diference po PPV***

Arterio-venosní diference							
					p (párové testy s Bonferroniho korekcí)		
	vstupní vyšetření	týden 7±1	týden 52±4	p (Friedmannův test)	vstup-týden 7	vstup-týden 52	týden 7-týden 52
všichni pacienti (n=82)	32.8±7.5 %	30.5±7.5 %	30.3±7.0 %	**p < 0.0001**	**p < 0.0001**	**p < 0.0001**	p = 0.462
podskupina MH (n=34)	34.8±7.0 %	31.0±8.0 %	30.6±8.0 %	**p = 0.001**	**p = 0.009**	**p = 0.009**	p = 0.231
podskupina ERM (n=23)	34.7±7.7 %	31.2±6.7 %	30.7±5.9 %	**p < 0.0001**	**p < 0.0001**	**p = 0.0002**	p = 1.0
podskupina DM (n=25)	29.6±7.4 %	29.3±7.7 %	29.4±6.8 %	p = 0.756	NA	NA	NA
podskupina artefakičti pacieti (n=36)	33.8±8.2 %	31.9±8.4 %	31.8±8.2 %	**p = 0.025**	**p = 0.048**	p = 0.054	p = 1.0
podskupina přirozená čočka (n=23)	31.0±5.8 %	28.0±6.2 %	28.7±5.9 %	**p = 0.002**	**p = 0.0012**	p = 0.054	p = 1.0
podskupina operace kataraty (n=23)	33.2±8.0 %	30.9±6.9 %	29.4±5.8 %	**p = 0.01**	**p = 0.015**	**p = 0.003**	p = 0.183
zkratky: MH-makulární díra, ERM-epiretinální membrána,DM-diabetes mellitus, n-počet							

Tab. 8 *– Výsledky změny cévního průměru*

Tloušťka cév							
					p (párové testy s Bonferroniho korekcí)		
	vstupní vyšetření	týden 7±1	týden 52±4	p (ANOVA)	vstup-týden 7	vstup-týden 52	týden 7-týden 52
střední tloušťka arterií (pixelů)							
podskupina MH (n=34)	11.6±0.9	11.4±1.0	11.4±1.0	p = 0.716	NA	NA	NA
podskupina ERM (n=23)	11.7±0.9	11.5±0.9	11.3±1.0	p = 0.0002	p = 0.007	p = 0.0002	p = 0.306
podskupina DM (n=25)	12.0±0.8	11.4±0.8	11.4±0.8	p < 0.0001	p < 0.0001	p < 0.0001	p < 0.548
střední tloušťka arterií (pixelů)							
podskupina MH (n=34)	11.6±0.9	11.4±1.0	11.4±1.0	p < 0.0001	p = 0.0004	p < 0.0001	p = 1.0
podskupina ERM (n=23)	11.7±0.9	11.5±0.9	11.3±1.0	p = 0.002	p = 0.005	p = 0.003	p = 0.318
podskupina DM (n=25)	12.0±0.8	11.4±0.8	11.4±0.8	p < 0.0001	p < 0.0001	p < 0.0001	p < 0.570
zkratky: MH-makulární díra, ERM-epiretinální membrána,DM-diabetes mellitus, n-počet							

6. Diskuze

Z výsledků vyplývá, že kyslíková saturace sítnicových žil byla vyšší u pacientů s diabetem 66,4% v porovnání s 62,4% a 62,0% u pacientů s makulární dírou nebo pacientů s ERM. Tato hodnota je v souladu s dříve uvedenými (a publikovanými) výsledky (viz kapitola diabetická retinopatie), kdy pacienti s diabetem mají vyšší žilní saturace (Hammer et al. 2009; Hardarson & Stefansson 2012; Geirsdottir et al. 2014; Jørgensen et al. 2014). Nárůst po vitrektomii byl mnohem menší ve skupině diabetických pacientů, zvýšil se z 66,4% na 67,0% a 67,2% (pouze o 0,6% a 0,8%; nárůst po 7 a 52 týdnech). Tato hodnota nebyla

statisticky významná. Na rozdíl od toho u pacientů s MH a ERM došlo ke zvýšení průměrné saturace v sítnicových žílách, saturace v 7. týdnu se zvýšila na 66,8% a v 52. týdnu na 67,0% (+ 4,6% a 4,8%; nárůst po 7 a 52 týdnech).

K vysvětlení zvýšení venózní saturace po vitrektomii předpokládáme dva možné mechanismy. Zaprvé zvýšení rychlosti proudění retinální krve po vitrektomii a za druhé snížení spotřeby kyslíku odstraněním sklivce, který je jeho konzumentem (Šín et al. 2014). Sklivec byl identifikován jako významný kyslíkový spotřebitel na podkladě chemické reakce s askorbátem (Shui et al. 2009). Odstranění sklivce by mohlo vést ke snížení celkové spotřeby kyslíku celého oka, protože sklivec představuje významnou část jeho objemu (4/5 objemu oka). V důsledku toho by mohlo dojít ke zvýšení saturace kyslíku v sítnicových žilách. Jde však o chemickou reakci, při které je celková spotřeba kyslíku relativně malá i přes velký objem sklivce s vysokou koncentrací askorbátu. Navíc výsledky u diabetických pacientů, kde vitrektomie zvyšuje kyslíkovou saturaci jen velmi nepatrně v porovnání s nediabetickými pacienty, hovoří také proti tomuto mechanismu. Podle mých nejlepších znalostí v současné době neexistují důkazy o tom, že spotřeba kyslíku závislá na askorbátu může být ovlivněna diabetem. Existuje-li tedy rozdíl v ovlivnění saturace po vitrektomii u diabetiků a nediabetiků, vysvětlení je pravděpodobně jiné než tento zvažovaný mechanismus.

Druhým potenciálním mechanismem je změna rychlosti proudění krve. Tento mechanismus je předpokládán jako hlavní u pacientů s diabetem, kde také bylo popsáno zvýšené nasycení žilní krve kyslíkem. Jak bylo popsáno v předešlých kapitolách (Diabetická retinopatie), u diabetiků dochází ke zvýšení rychlosti proudění krve a obtékání kapilární sítě s následným zvýšením podílu saturované krve v žilním sytému (Hammer et al. 2009; Hardarson & Stefansson 2012; Jørgensen et al. 2014). Byly publikovány některé práce, které popsaly rozdílné změny proudění krve po vitrektomii při srovnání diabetiků a pacientů bez diabetu. Krepler et al. (2003) popsal snížení krevního toku v centrální retinální arterii po PPV u pacientů s pokročilou diabetickou retinopatií a Park et al. (2009) popsal snížení perifoveolární cirkulace po PPV u pacientů s DME. Na druhou

stranu u pacientů bez diabetu jsou publikovány výsledky zvýšení rychlosti perifoveolárního toku po vitrektomii (Kadonosono et al. 2000; Yagi et al. 2012). Tento rozdíl je ve shodě s našimi výsledky, kde dochází k výraznějšímu zvýšení saturace u nediabetických pacientů, zatímco u diabetiků zůstává již zvýšená saturace stabilní. Klinická pozorování u diabetiků nám však naznačují taktéž zlepšení saturace (okysličení) sítnice – hlavním je snížení rizika vzniku sítnicových neovaskularizací (Blankenship & Machemer 1985). Na základě dostupných informací je pravděpodobné, že asi dochází k drobným změnám v rychlosti proudění krve po vitrektomii s následnými změnami v kyslíkové saturaci, ale lze také předpokládat, že toto není jediný mechanismus změn saturace po vitrektomii.

Pokud se zaměříme na změny v cévním průměru (tab.8), můžeme pozorovat, že jak u diabetických, tak nediabetických pacientů dochází k mírnému zúžení cév. Toto drobné zúžení by mohlo být výsledkem regulačního mechanismu, který je reakcí na zvýšení oxygenace sítnice. Podobné zúžení cév bylo pozorováno v experimentu, ve kterém pacienti vdechovali vzduch s vyšším obsahem kyslíku než standardních 21% (Olafsdottir et al. 2015).

Otázkou zůstává, jakým mechanismem by mohlo dojít ke zlepšení okysličení sítnice po vitrektomii. Pokud se z oka odstraní sklivec, je následkem této změny zlepšení perfuze kyslíku okem. Po vitrektomii bylo popsáno signifikantní zvýšení pO_2 ve sklivcové dutině pomocí MRI (Simpson et al. 2013) a také pomocí optických kyslíkových senzorů (Holekamp et al. 2005). Pravděpodobný zdroj kyslíku pro zadní segment není zcela jasný, ale mohla by jím být přední část oka (řasnaté tělísko a duhovka). Podobný mechanismus byl popsán jako tzv. „vitreo-perfuze" a byl použit Blairem (2000) v experimentech na kočičích modelech. Petropoulos et al. (2013) popsal ve svých experimentech u morčat změny v preretinálním pO_2 v blízkosti retinálních arterií, vén a v oblasti mezi cévami před a 18 minut po vitrektomii. Tato práce ukázala, že existuje určitý stupeň difuze kyslíku do sklivcové dutiny z arterie, ale také určitý stupeň kyslíkové difuze v opačném směru do vén, a také do sítnice v oblasti mezi

cévami. Překvapivě po vitrektomii nedošlo ke změně tohoto vzorce, jen bylo zaznamenáno zvýšení pO2 v centru sklivcové dutiny. Tato práce představuje důležitý důkaz toho, že po vitrektomii nedochází k výraznému zvýšení difuze kyslíku ze sítnicové cirkulace, a proto zdrojem „extra" kyslíku pravděpodobně není sítnice, ale jiné části oka. Důkazem pro změnu difuze kyslíku po vitrektomii představuje klinické pozorování, protože je již relativně dlouhou dobu známo, že vitrektomie zvyšuje riziko neovaskularizací duhovky (Laqua 1980). Toto klinické pozorování podporuje hypotézu změny difuze kyslíku ve prospěch zadního segmentu oka po vitrektomii. Stefansson et al. (1990) popsal zlepšení oxygenace po vitrektomii v okludovaných oblastech na kočičím modelu. Předpokládal, že zlepšení je důsledkem perfuze kyslíku z dobře prokrvených oblastí do oblastí ischemických. Podobný mechanismus by mohl být na pozadí změn u diabetických pacientů. Naše výsledky popisují mírně výraznější zúžení cévního průměru (asi o 5 %) u pacientů bez diabetu v porovnání s cca 2,5% zůžením cév u nediabetických pacientů. To by na základě hypotézy profesora Stefanssona mohlo znamenat, že u diabetiků došlo k výraznějšímu zlepšení oxygenace sítnice. Podle všech dostupných informací se dá předpokládat, že množství kyslíku, které vstupuje po vitrektomii do sítnice ze sklivcové dutiny, je stejné u diabetiků i nediabetiků. U nediabetických pacientů jsou však metabolické potřeby již pokryty a zvýšené množství kyslíku je tudíž odplaveno v podobě vyšší saturace venózní krve. U diabetiků je „kyslík navíc" pravděpodobně použit na okysličení ischemických oblastí, a proto se neprojeví ve výsledné saturaci venózní krve, ačkoliv je výsledná saturace sítnice větší v porovnání se stavem před PPV.

6. 1. Vliv katarakty na výsledek kyslíkové saturace v sítnicových cévách

Naše výsledky zaměřené primárně na vliv PPV přinesly jeden zajímavý vedlejší výsledek. Jde o popis vlivu katarakty na výsledné měření kyslíkové saturace.

Existují jasné důkazy, že provedení vitrektomie vede k progresi nukleární katarakty (Holekamp et al. 2005). Feng & Adelman (2014) ukázali, že 42% pacientů s přirozenou čočkou podstoupí operaci katarakty do 24 měsíců. Jak je

patrné z výsledků naší studie (tab. 6. a 7.), je zde rozdílný trend mezi podskupinami v závislosti na stavu čočky před provedenou PPV. U pseudofakických pacientů byl zaznamenán vzestup saturace v průběhu sledování po 7 i 52 týdnech. U pacientů s přirozenou čočkou, kteří v průběhu sledování neprodělali operaci katarakty, došlo po počátečním zvýšení saturace po 7 týdnech sledování k mírnému poklesu v týdnu 52. Toto zvýšení by se dalo vysvětlit progresí katarakty u této skupiny pacientů. Naopak ve skupině pacientů, kteří prodělali operaci katarakty mezi 7. a 52. týdnem sledování, došlo po počátečním mírném snížení saturace ke zvýšení na standardní hodnotu v 52. týdnu sledování. Znovu se v tomto případě jeví jednoznačná souvislost s transparencí očních médií v této skupině, která se skokově zlepšila po implantaci IOL. Velmi zajímavým a důležitým zjištěním bylo, že tyto změny se neprojevily v rozdílnosti hodnot A-V diference, kde byl trend ve všech skupinách totožný. Z toho lze usuzovat, že v případě katarakty jde o arteficiální zvýšení hodnot saturace na podkladě zhoršení kvality fotografie fundu použité pro analýzu kyslíkové saturace. U výpočtu hodnoty A-V diference se arteficiální vlivy v obou hodnotách vzájemně vyruší. Tento náš nález je plně ve shodě s pozorováním, které prezentoval Hardarson et al. (2014) na výročním setkání ARVO 2014 a dále s nedávno publikovanou prací zaměřenou na toto téma (Chen at al. 2017).

Arteficiální zvýšení saturace na podkladě zvýšené denzity čočky není úplně jisté. Ve hře jsou zde další potenciální mechanismy, ačkoliv jejich zapojení je mnohem méně pravděpodobné. Hypotetické vysvětlení by mohlo souviset s faktem, že se kyslíková saturace v sítnici zvyšuje ve tmě (Stefansson 1988). U pacientů s kataraktou proniká do oka menší množství světla, což navozuje podobný stav, jaký nastává ve tmě. Dalo by se předpokládat, že zvýšená spotřeba kyslíku v sítnici povede k snížení venózní saturace, ale výsledky publikované Hardarsonem et al. (2009) ukazují zvýšení hodnot venózní saturace. Vzhledem k některým podobnostem se stavem tmy u katarakty by mohl být výsledek interpretován na základě podobných mechanismů.

Dále je potřeba vzít v úvahu, že extrakce čočky mění difuzní poměry v oku (podobně jako PPV – viz výše). V roce 1982 Stefansson popsal změny v

kyslíkové difuzi po extrakci čočky u koček. Podobné změny se dají předpokládat také u lidí (Stefansson et al. 1982). A stejně jako sklivec je čočka také spotřebitelem kyslíku (Shui et al. 2006). Na základě těchto faktů se dá předpokládat podobné vysvětlení jako po PPV. V této věci panuje všeobecný konsensus u všech kolegů zabývajících se touto tématikou, že tyto mechanizmy mají po extrakci jen velmi malý (jestli vůbec nějaký) podpůrný vliv.

7. Závěr

Saturace kyslíku v retinálních žilách a artériích po PPV je vyšší u pacientů bez diabetu, a tento stav trvá po dobu nejméně 52 týdnů. Naproti tomu u pacientů s diabetem není po vitrektomii saturace kyslíku v retinálních cévách zvýšená. Po vitrektomii se snížil střední průměr retinálních cév u obou skupin pacientů. Progresí nukleární katarakty po PPV dochází k podstatným změnám výsledků retinální oxymetrie. Pacienti s nukleární kataraktou mají výšší saturaci jak v tepnách, tak v žilách, ale A-V diference zůstává stejná.

Z klinického hlediska přispěl náš výzkum k důležitému zjištění, že operace (vitrektomie i extrakce čočky) mohou ovlivnit přesnost výsledného měření retinální oxymetrie. Tento fakt bude muset být v budoucích studiích i klinickém pozorování zohledněn.

Z hlediska hlubšího pochopení vlivu kyslíkového metabolizmu naše práce doplňuje nové perspektivy a chybějící střípky v mozaice poznání vlivu vitrektomie na fyziologické změny oka.

8. Literatura

Abegão Pinto L, Willekens K, Van Keer K, et al. (2016): Ocular blood flow in glaucoma–the Leuven Eye Study. Acta Ophthalmol 94(6): 592-598.

Adhi M, Regatieri CV, Branchini LA, et al. (2013): Analysis of the morphology and vascular layers of the choroid in retinitis pigmentosa using spectral-domain OCT. Ophthalmic Surg Lasers Imaging Retina 44: 252–259.

Ahmed J, Braun RD, Dunn R Jr, et al. (1993): Oxygen distribution in the macaque retina. Invest Ophthalmol Vis Sci 34: 516–521.

Aiello LP, Avery RL, Arrigg PG, et al. (1994): Vascular endothelial growth factor in ocular fluid of patients with diabetic retinopathy and other retinal disorders. N Engl J Med 331: 1480–1487

Akyol N, Kukner S, Celiker U, et al.(1995): Decreased retinal blood flow in

retinitis pigmentosa. Can J Ophthalmol 30: 28–32.

Alder VA, Ben-Nun J & Cringle SJ (1990): PO2 profiles and oxygen consumption in cat retina with an occluded retinal circulation. Invest Ophthalmol Vis Sci 31: 1029–1034.

Alder VA & Cringle SJ (1990): Vitreal and retinal oxygenation. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol 228: 151–157.

Alder VA, Cringle SJ & Constable IJ (1983): The retinal oxygen profile in cats. Invest Ophthalmol Vis Sci 24: 30–36.

Alm A (1972): Effects of norepinephrine, angiotensin, dihydroergotamine, papaverine, isoproterenol, histamine, nicotinic acid, and xanthinol nicotinate on retinal oxygen tension in cats. Acta Ophthalmol (Copenh) 50: 707–719.

Alm A & Bill A (1970): Blood flow and oxygen extraction in the cat uvea at normal and high intraocular pressures. Acta Physiol Scand 80: 19–28.

Alm A & Bill A (1972a): The oxygen supply to the retina. I. Effects of changes in intraocular and arterial blood pressures,and in arterial P O2 and P CO2 on the oxygen tension in the vitreous body of the cat. Acta Physiol Scand 84:261–274.

Alm A & Bill A (1972b): The oxygen supplyto the retina. II. Effects of high intraocular pressure and of increased arterial carbon dioxide tension on uveal and retinal blood flow in cats. A study with adioactively labelled microspheres including flow determinations in brain and some other tissues. Acta Physiol Scand 84: 306–319.

Ames A III, Li YY, Heher EC,et al. (1992): Energy metabolism of rabbit retina as related to function: high ost of Na+ transport. J Neurosci 12: 840–853.

Arsene S, Giraudeau B, Le Lez ML, et al. (2002): Follow up by colour Doppler imaging of 102 patients with retinal vein occlusion over 1 year. Br J Ophthalmol 86: 1243–7.

Arvas S, Ocakoglu O, Ozkan S (2002): The capillary blood flow in ischaemic type central retinal vein occlusion: the effect of laser photocoagulation. Acta Ophthalmologica Scandinavica 80: 490–4.

Ashton N (1974): Vascular basement membrane changes in diabetic retinopathy. Montgomery lecture 1973. Br J Ophthalmol, 58: 344–366.

Ayton LN, Guymer RH & Luu CD (2013): Choroidal thickness profiles in retinitis pigmentosa. Clin Experiment Ophthalmol 41: 396–403.

Barbazetto IA, Liang J, Chang S, et al. (2004): Oxygen tension in the rabbit lens and vitreous befor and after vitrectomy. Exp Eye Res 78(5): 917-24

Battu R, Mohan A, Khanna A, et al. (2015): Retinal Oxygen Saturation in Retinitis Pigmentosa and Macular Dystrophies in Asian-Indian EyesRetinal Oximetry in RP and Macular Dystrophies. Invest Ophthalmol Vis Sci *56*(5): 2798-2802.

Beach JM, Schwenzer KJ, Srinivas S,et al. (1999): Oximetry of retinal vessels by dual-wavelength imaging: calibration and influence of pigmentation. J Appl Physiol 86: 748–758.

Bellelli A (2010): Hemoglobin and cooperativity: experiments and theories. Curr Protein Pept Sci 11: 2–36.

Bellelli A & Brunori M (2011): Hemoglobin allostery: variations on the theme. Biochim Biophys Acta 1807: 1262–1272.

Berger W, Kloeckener-Gruissem B & Neidhardt J (2010): The molecular basis of human retinal and vitreoretinal diseases. Prog Retin Eye Res 29: 335–375.

Beutelspacher SC, Serbecic N, Barash H,et al.(2011): Retinal blood flow velocity measured by retinal function imaging in retinitis pigmentosa. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol 249: 1855–1858.

Blair NP (2000): Ocular oxygen consumption during vitreoperfusion in the cat. Trans Am Ophthalmol Soc 98: 305–329.

Blankenship GW, Machemer R (1985): Long-term diabetic vitrectomy results. Report of 10-year follow-up. Ophthalmology 92(4):503–506

Braun RD, Linsenmeier RA & Goldstick TK (1995): Oxygen consumption in the inner and outer retina of the cat. Invest Ophthalmol Vis Sci 36: 542–554.

Broadfoot KD, Gloster J & Greaves DP (1961): Photoelectric method of investigating the amount and oxygenation of blood in the fundus oculi. Br J Ophthalmol 45:161–182.

Broadway DC & Drance SM (1998): Glaucoma and vasospasm. Br J Ophthalmol 82: 862–870.

Brunelle JA, Degtiarov AM, Moran RF, et al. (1996): Simultaneous measurement of total hemoglobin and its derivatives in blood using CO-oximeters: analytical principles; their application in selecting analytical

wavelengths and reference methods; a comparison of the results of the choices made. Scand J Clin Lab Invest Suppl 224: 47–69.

Campochiaro PA, Bhisitkul RB, Shapiro H, et al.(2013): Vascular endothelial growth factor promotes progressive retinal nonperfusion in patients with retinal vein occlusion. Ophthalmology, 120(4); 795-802.

Cellini M, Santiago L,Versura P, et al. (2002): Plasma levels of endothelin-1 in retinitis pigmentosa. Ophthalmologica 216: 265–268.

Cellini M, Strobbe E, Gizzi C, et al. (2010): ET-1 plasma levels and ocular blood flow in retinitis pigmentosa. Can J Physiol Pharmacol 88: 630–635.

Chang S (2006): LXII Edward Jackson lecture: open angle glaucoma after vitrectomy. Am J Ophthalmol 141(6):1033–1043

Chen H, Lin H, Chen W, et al. (2017): Preoperative and postoperative measurements of retinal vessel oxygen saturation in patients with different grades of cataracts. Acta Ophthalmol *95*(6): 436-442

Cheng J, Kong X, Xiao M, et al. (2016): Twenty‐four‐hour pattern of intra‐ocular pressure in untreated patients with primary open‐angle glaucoma. Acta Ophthalmol *94*(6): 460-467

Cogan DG, Kuwabara T (1963): Capillary Shunts in the Pathogenesis of Diabetic Retinopathy. Diabetes 12; 293–300.

Costa VP, Harris A, Stefansson E, et al. (2003): The effects of antiglaucoma and systemic medications on ocular blood flow. Prog Retin Eye Res 22:769–805.

Costello F (2011): Evaluating the use of optical coherence tomography in optic neuritis. Mult Scler Int 2011:148394.

Cottet S & Schorderet DF (2009): Mechanisms of apoptosis in retinitis pigmentosa. Curr Mol Med 9: 375–383.

Cringle SJ, Yu DY, Yu PK, et al.(2002): Intraretinal oxygen consumption in the rat in vivo. Invest Ophthalmol Vis Sci 43:1922–1927.

Čihák R, Druga R & Grim M (1997): *Anatomie 3*. Grada. Praha

Delori FC (1988): Noninvasive techniques for oximetry of blood in retinal vessels. Appl Opt 27: 1113–1125.

Dhoot DS, Huo S, Yuan A, et al. (2013): Evaluation of choroidal thickness in retinitis pigmentosa using enhanced depth imaging optical coherence tomography. Br J Ophthalmol 97: 66–69.

Ditzel J (1976): Oxygen transport impairment in diabetes. Diabetes 25(2 Suppl): 832–838.

Doyle ML, Di Cera E & Gill SJ (1988): Effect of differences in optical properties of intermediate oxygenated species of hemoglobin A0 on Adair constant determination. Biochemistry 27: 820–824.

Drance S, Anderson DR & Schulzer M. (2001): Risk factors for progression of visual field abnormalities in normal-tension glaucoma. Am J Ophthalmol. 131:699–708.

Einarsdottir AB, Hardarson SH, Kristjansdottir JV, et al. (2015): Retinal oximetry imaging in Alzheimer's disease. J Alzheimers Dis. **49(1):** 79-83.

Einarsdottir AB, Olafsdottir OB, Hjaltason H, et al. (2018): Retinal oximetry is affected in multiple sclerosis. Acta Ophthalmol. 2018 Jan 16. doi: 10.1111/aos.13682. (přijato k publikaci)

Eliasdottir TS, Bragason D, Hardarson SH, et al. (2015): Venous oxygen saturation is reduced and variable in central retinal vein occlusion. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol 253; 1653–1661.

Eysteinsson T, Hardarson SH, Bragason D, et al. (2014): Retinal vessel oxygen saturation and vessel diameter in retinitis pigmentosa. Acta Ophthalmol 92:449–453

Falsini B, Anselmi GM, Marangoni D, et al. (2011): Subfoveal choroidal blood flow and central retinal function in retinitis pigmentosa. Invest Ophthalmol Vis Sci 52: 1064–1069.

Feke GT, Tagawa H, Deupree DM, et al. (1989): Blood flow in the normal human retina. Invest Ophthalmol Vis Sci 30(1): 58-65

Feng H & Adelman RA (2014): Cataract formation following vitreoretinal procedures. Clin Ophthalmol 23: 1957–1965.

Ferrari S, Di Iorio E, Barbaro V, et al. (2011): Retinitis pigmentosa: genes and disease mechanisms. Curr Genomics 12: 238–249.

Fischbach FT & Dunning MB (2009): A manual of laboratory and diagnostic tests,8th edn. Philadelphia: Wolters Kluwer Health ⁄ Lippincott Williams & Wilkins.

Flammer J, Orgul S, Costa VP, et al. (2002): The impact of ocular blood flow in glaucoma. Prog Retin Eye Res 21:359–393.

Foster PJ, Buhrmann R, Quigley HA, et al. (2002): The definition and classification of glaucoma in prevalence surveys. Br J Ophthalmol 86: 238–242.

Garhofer G, Werkmeister R, Dragostinoff N, et al. (2012): Retinal blood flow in healthy young subjects. Invest Ophthalmol Vis Sci 53(2): 698-703.

Geirsdottir A, Palsson O, Hardarson SH, et al. (2012): Retinal vessel oxygen saturation in healthy individuals. Invest Ophthalmol Vis Sci 53: 5433–5442.

Graham JJ, Ryall RG & Wise PH (1980): Glycosylated haemoglobin and relative polycythaemia in diabetes mellitus. Diabetologia, 18(3): 205-207.

Grauslund J, Green A & Sjolie AK (2009): Prevalence and 25 year incidence of proliferative retinopathy among Danish type 1 diabetic patients. Diabetologia 52: 1829–1835

Grieshaber MC, Flammer J (2005): Blood flow in glaucoma. Curr Opin Ophthalmol. 16:79–83.

Grunwald JE, Maguire AM & Dupont J (1996): Retinal hemodynamics in retinitis pigmentosa. Am J Ophthalmol 122: 502–508.

Guduru A., Martz TG., Waters A, et al. (2016): Oxygen Saturation of Retinal Vessels in All Stages of Diabetic Retinopathy and Correlation to Ultra-Wide Field Fluorescein Angiography. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci 57(13):5278-5284.

Hamel C (2006): Retinitis pigmentosa. Orphanet J Rare Dis 11: 40.

Hammer M, Schweitzer D, Michel B, et al. (1998): Single scattering by red blood cells. Appl Opt 37: 7410–7418.

Hammer M, Leistritz S, Leistritz L, et al. (2001): Light paths in retinal vessel oxymetry. IEEE Trans Biomed Eng 48: 592–598.

Hammer M, Thamm E & Schweitzer D (2002): A simple algorithm for in vivo ocular fundus oximetry compensating for nonhaemoglobin absorption and scattering. Phys Med Biol 47: N233–N238.

Hammer M, Vilser W, Riemer T, et al. (2009): Diabetic patients with retinopathy show increased retinal venous oxygen saturation. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol 247(8): 1025-30

Hardarson SH, Basit S, Jonsdottir TE et al. (2009): Oxygen saturation in human retinal vessels is higher in dark than in light. Invest Ophthalmol Vis Sci 50: 2308–2311.

Hardarson SH, Bragason D, Eysteinsson T, et al. (2014): The effect of cataract on retinal oximetry. Invest Ophthalmol Vis Sci 55: 201.

Hardarson SH, Harris A, Karlsson RA, et al. (2006): Automatic retinal oximetry. Invest Ophthalmol Vis Sci 47: 5011–5016.

Hardarson SH & Stefansson E (2010): Oxygen saturation in central retinal vein occlusion. Am J Ophthalmol 150: 871–875.

Hardarson SH & Stefansson E (2012a): Oxygen saturation in branch retinal vein occlusion. Acta Ophthalmol 90: 466–470.

Hardarson SH & Stefansson E (2012b): Retinal oxygen saturation is altered in diabetic retinopathy. Br J Ophthalmol 96: 560–563.

Harms MP, van Lieshout JJ, Jenstrup M,et al. (2003): Postural effects on cardiac output and mixed venous oxygen saturation in humans. Exp Physiol 88: 611–616.

Harris A, Dinn RB, Kagemann L, et al.(2003): A review of methods for human retinal oximetry. Ophthalmic Surg Lasers Imaging 34: 152–164.

Harris A, Sergott RC, Spaeth GL, et al. (1994): Color Doppler analysis of ocular vessel blood velocity in normaltension glaucoma. Am J Ophthalmol. 118:642–649.

Hartong DT, Berson EL & Dryja TP (2006): Retinitis pigmentosa. Lancet 368: 1795–1809.

Haugh LM, Linsenmeier RA& Goldstick TK (1990): Mathematical models of the spatial distribution of retinal oxygen tension and consumption, including changes upon illumination. Ann Biomed Eng; 18: 19–36.

Hayreh SS (1983): Physiological anatomy of the choroidal vascular bed. Int Ophthalmol; 6: 85–93.

Hayreh SS (2005): Prevalent misconceptions about acute retinal vascular occlusive disorders. Prog Retin Eye Res 24: 493–519.

Hayreh SS, Zimmerman MB, Podhajsky P, et al. (1994): Nocturnal arterial hypotension and its role in optic nerve head and ocular ischemic disorders. Am J Ophthalmol. 117:603–624.

Henkind P & Gartner S (1983): The relationship between retinal pigment epithelium and the choriocapillaris. Trans Ophthalmol Soc UK 103(Pt 4): 444–447.

Hickam JB, Sieker HO & Frayser R (1959): Studies of retinal circulation and A-V oxygen difference in man. Trans Am Clin Climatol Assoc 71: 34–44.

Hickam JB, Frayser R (1965): Aphotographic method for measuring the mean retinal circulation time using fluorescein. Invest Ophthalmol 4: 876–884.

Holekamp NM, Shui YB & Beebe DC (2005): Vitrectomy surgery increases oxygen exposure to the lens: a possible mechanism for nuclear cataract formation. Am J Ophthalmol 139: 302–310.

Holekamp NM, Shui YB & Beebe D (2006): Lower intraocular oxygen tension in diabetic patients: possible contribution to decreased incidence of nuclear sclerotic cataract. Am J Ophthalmol 141: 1027–1032.

Hu SJ, You YA& Zhang Y (2015): A study of retinal parameters measured by optical coherence tomography in patients with multiple sclerosis) Int J Ophthalmol **8(6)** 1211-4.

Humayun MS, Prince M, de Juan E Jr,et al. (1999): Morphometric analysis of the extramacular retina from postmortem eyes with retinitis pigmentosa. Invest Ophthalmol Vis Sci 40: 143–148.

Ikeda T, Sawa H & Koizumi K (2000): Pars plana vitrectomy for regression of choroidal neovascularization with age-related macular degeneration.Acta Ophthalmol Scand 78: 460-4

Jani PD, Mwanza JC, Billow KB, et al.(2014): Normative values and predictors of retinal oxygen saturation. *Retina 34*(2): 394-401.

Jones BW & Marc RE (2005): Retinal remodeling during retinal degeneration. Exp Eye Res 81:123–137.

Jørgensen CM, & Bek T (2014) Increasing oxygen saturation in larger retinal vessels after photocoagulation for diabetic retinopathy. Invest Ophthalmol Vis Sci *55*(8): 5365-5369.

Jørgensen CM, Hardarson SH& Bek T. (2014) The oxygen saturation in retinal vessels from diabetic patients depends on the severity and type of vision-threatening retinopathy. Acta Ophthalmol 92(1): 34-39

Kadonosono K, Itoh N & Ohno S (2000): Perifoveal microcirculation before

and after vitrectomy for diabetic cystoid macular edema. Am J Ophthalmol 130: 740–744.

Kerr J, Nelson P & O'Brien C (1998): A comparison of ocular blood flow in untreated primary open-angle glaucoma and ocular hypertension. Am J Ophthalmol. 126:42–51.

Khoobehi B, Firn K, Thompson Het al. (2013): Retinal arterial and venous oxygen saturation is altered in diabetic patients. Invest Ophthalmol Vis Sci 54: 7103–7106.

Kiel JW & Shepherd AP (1992): Autoregulation of choroidal blood flow in the rabbit. Invest Ophthalmol Vis Sci 33: 2399–2410.

Kimble EA, Svoboda RA & Ostroy SE (1980): Oxygen consumption and ATP changes of the vertebrate photoreceptor. Exp Eye Res; 31: 271–288

Klefter ON, Vilsbøll T, Knop FK, et al. (2015): Retinal vascular and structural dynamics during acute hyperglycaemia. Acta Ophthalmol.*93*(8), 697-705.

Kohner EM (1993): Diabetic retinopathy. BMJ, 307; 1195–1199.

Kong X, Wang K, Sun X & Witt RE (2010): Comparative study of the retinal vessel anatomy of rhesus monkeys and humans. Clin Experiment Ophthalmol 38: 629–634.

Krepler K, Polska E, Wedrich A, et al. (2003): Ocular blood flow parameters after pars plana vitrectomy in patients with diabetic retinopathy. Retina 23: 192–196.

Krill AE, Archer D & Newell FW (1970): Fluorescein angiography in retinitis pigmentosa. Am J Ophthalmol 69: 826–835.

Kunkel HG, Ceppellini R, Muller-Eberhard U & Wolf J (1957): Observations on the minor basic hemoglobin component in the blood of normal individuals and patients with thalassemia. J Clin Invest 36: 1615–1625.

Kuwabara T & Cogan DG (1963): Retinal vascular patterns. VI. Mural cells of the retinal capillaries. Arch Ophthalmol 69: 492–502.

Laing RA, Cohen AJ & Friedman E (1975): Photographic measurements of retinal blood oxygen saturation: falling saturation rabbit experiments. Invest Ophthalmol 14: 606–610.

Laing RA, Danisch LA & Young R (1969): Non-invasive, multichromatic eye oximeter. Available at: http://www.archive.org/ details/nasa_techdoc_19700011123.

Langham ME & Kramer T (1990): Decreased choroidal blood flow associated with retinitis pigmentosa. Eye 4(Pt 2): 374–381.

Laqua H (1980): Rubeosis iridis nach pars plana vitrektomie. Klin Monatsbl Augenheilkd 177(1): 24–30

Lazareva EN & Tuchin VV (2007): Dynamics of visible absorbance spectrum of hemoglobin solution incubated with glucose. In:Luo Q, Wang LV & Tuchin VV (eds). The 6th international conference on photonics and imaging in biology and medicine. Wuhan, China: World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd, 45–50.

Leske MC, Wu SY, Nemesure B, Hennis A. (2002) Incident open-angle glaucoma and blood pressure. Arch Ophthalmol. 120:954–959.

Lim LS, Tan L & Perera S (2014): Retinal vessel oxygen saturation increases after vitrectomy. Invest Ophthalmol Vis Sci 55: 3851–3856.

Li ZY, Possin DE & Milam AH (1995): Histopathology of bone spicule pigmentation in retinitis pigmentosa. Ophthalmology 102: 805–816.

Lin LL, Dong YM, Zong Y, et al.(2016): Study of retinal vessel oxygen saturation in ischemic and non-ischemic branch retinal vein occlusion. *Int. J Oph 9*(1): 99.

Linsenmeier RA (1986): Effects of light and darkness on oxygen distribution and consumption in the cat retina. J Gen Physiol 88: 521–542.

Linsenmeier RA & Braun RD (1992): Oxygen distribution and consumption in the cat retina during normoxia and hypoxemia. J Gen Physiol 99: 177–197.

Linsenmeier RA, Braun RD, McRipley MA, et al.(1998): Retinal hypoxia in long-term diabetic cats. Invest Ophthalmol Vis Sci 39(9): 1647-57

Linsenmeier RA & Yancey CM (1989): Effects of hyperoxia on the oxygen distribution in the intact cat retina. Invest Ophthalmol Vis Sci 30: 612–618.

Loduca AL, Zhang C, Zelkha R et al. (2010): Thickness mapping of retinal layers by spectral-domain optical coherence tomography. Am J Ophthalmol 150: 849–855.

Ma Y, Kawasaki R, Dobson LP, et al. (2012): Quantitative analysis of retinal vessel attenuation in eyes with retinitis pigmentosa. Invest Ophthalmol Vis Sci

53: 4306–4314.

Machemer R, Buettner H, Norton EW, et al. (1971): Vitrectomy: a pars plana approach. Trans Am Acad Ophthalmol Otolaryngol 75(4):813–820

Marc RE & Jones BW (2003): Retinal remodeling in inherited photoreceptor degenerations. Mol Neurobiol 28: 139–147.

Marc RE, Jones BW, Watt CB, et al. (2003): Neural remodeling in retinal degeneration. Prog Retin Eye Res 22: 607–655.

Marneros AG, Fan J, YokoyamaY, et al. (2005): Vascular endothelial growth factor expression in the retinal pigment epithelium is essential for choriocapillaris development and visual function. Am J Pathol 167: 1451–1459.

Medrano CJ, Fox DA (1995): Oxygen consumption in the rat outer and inner retina: light- and pharmacologically-induced inhibition. Exp Eye Res; 61: 273–284.

Merin S & Auerbach E (1976): Retinitis pigmentosa. Surv Ophthalmol 20: 303–346.

Milam AH, Li ZY & Fariss RN (1998): Histopathology of the human retina in retinitis pigmentosa. Prog Retin Eye Res 17: 175–205.

Mohan A, Dabir S, Yadav NK, et al. (2015): Normative database of retinal oximetry in Asian Indian eyes. *PloS one 10*(4): e0126179.

Molnar I, Poitry S, Tsacopoulos M, et al. (1985): Effect of laser photocoagulation on oxygenation of the retina in miniature pigs. Invest Ophthalmol Vis Sci 26: 1410–1414.

Nakano Y, Shimazaki T, Kobayashi N, et al. (2016): Retinal oximetry in a healthy Japanese population. *PloS one, 11*(7), e0159650.

Neuhuber W & Schrodl F (2011): Autonomic control of the eye and the iris. Auton Neurosci165: 67–69.

Nickla DL & Wallman J (2010): The multifunctional choroid. Prog Retin Eye Res 29: 144–168.

Noma H, Funatsu H, Mimura T, et al. (2011): Vitreous levels of pigment epithelium-derived factor and vascular endothelial growth factor in macular edema with central retinal vein occlusion<. Curr Eye Res 36: 256–63.

Ohguro H, Mashima Y & Nakazawa M (2010): Low levels of plasma

endothelin-1 in patients with retinitis pigmentosa. Clin Ophthalmol 4: 569–573.

Olafsdottir OB, Hardarson SH, Gottfredsdottir A, et al. (2011): Retinal oximetry in primary open-angle glaucoma. Invest Ophthalmol Vis Sci *52*(9): 6409-6413.

Olafsdottir OB, Eliasdottir TS, Kristjansdottir JV, et al. (2015): Retinal vessel oxygen saturation during 100% oxygen breathing in healthy individuals. PloS ONE10: e0128780.

Olafsdottir OB, Vandewalle E, Pinto LA, et al. (2014): Retinal oxygen metabolism in healthy subjects and glaucoma patients. Br J Oph 98(3): 329-333.

Paques M, Baillart O, Genevois O, et al. (2005): Systolodiastolic variations of blood flow during central retinal vein occlusion: exploration by dynamic angiography. Br J Ophthalmol. 89: 1036–40

Paques M, Garmyn V, Catier A, et al. (2001): Analysis of retinal and choroidal circulation during central retinal vein occlusion using indocyanine green videoangiography. Arch Ophthalmol 119: 1781–7.

Park JH, Woo SJ, Ha YJ, et al. (2009): Effect of vitrectomy on macular microcirculation in patients with diffuse diabetic macular edema. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol 247: 1009–1017.

Pe'er J, Folberg R, Itin A, et al. (1998): Vascular endothelial growth factor upregulation in human central retinal vein occlusion. Ophthalmology 105: 412–16.

Petropoulos IK, Pournaras JA, Stangos AN, et al. (2013): Preretinal partial pressure of oxygen gradients before and after experimental pars plana vitrectomy. Retina 33: 170–178.

Pittman RN & Duling BR (1975): A new method for the measurement of percent oxyhemoglobin. J Appl Physiol 38: 315–320.

Plange N, Kaup M, Arend O, et al. (2006): Asymmetric visual field loss and retrobulbar haemodynamics in primary open-angle glaucoma. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. 244: 978–983.

Polska E, Simader C, Weigert G, et al.(2007): Regulation of choroidal blood flow during combined changes in intraocular pressure and arterial blood pressure. Invest Ophthalmol Vis Sci 48: 3768–3774.

Pournaras CJ, Riva CE, Tsacopoulos M, et al.(1989): Diffusion of O2 in the retina of anesthetized miniature pigs in normoxia and hyperoxia. Exp Eye Res 49: 347–360.

Pournaras CJ, Rungger-Brandle E, Riva CE, et al.(2008): Regulation of retinal blood flow in health and disease. Prog Retin Eye Res 27: 284–330.

Provis JM (2001): Development of the primate retinal vasculature. Prog Retin Eye Res 20: 799–821.

Resch H, Garhofer G, Fuchsjager-Mayrl G, et al. (2009): Endothelial dysfunction in glaucoma. Acta Ophthalmol. 87: 4 –12.

Riva CE, Grunwald JE & Sinclair SH (1983): Laser Doppler Velocimetry study of the effect of pure oxygen breathing on retinal blood flow. Invest Ophthalmol Vis Sci 24: 47–51.

Riva CE, Pournaras CJ & Tsacopoulos M (1986): Regulation of local oxygen tension and blood flow in the inner retina during hyperoxia. J Appl Physiol 61: 592–598.

Rochette J, Craig JE & Thein SL (1994): Fetal hemoglobin levels in adults. Blood Rev 8: 213–224.

Rojanapongpun P, Drance SM & Morrison BJ (1993): Ophthalmic artery flow velocity in glaucomatous and normal subjects. Br J Ophthalmol. 77: 25–29.

Roy S, Ha J, Trudeau K, et al. (2010): Vascular Basement Membrane Thickening in Diabetic Retinopathy. Curr Eye Res 35: 1045–1056.

Rumsey WL, Vanderkooi JM & Wilson DF (1988): Imaging of phosphorescence: a novel method for measuring oxygen distribution in perfused tissue. Science 241:1649–1651.

Sahaboglu A, Paquet-Durand O, Dietter J, et al. (2013): Retinitis pigmentosa: rapid neurodegeneration is governed by slow cell death mechanisms. Cell Death Dis 4: e488.

Salom D, Diaz-Llopis M, Garcia-Delpech S, et al. (2008): Aqueous humor levels of vascular endothelial growth factor in retinitis pigmentosa. Invest Ophthalmol Vis Sci 49: 3499–3502.

Santos A, Humayun MS, de Juan E Jr, et al. (1997): Preservation of the inner retina in retinitis pigmentosa. A morphometric analysis. Arch Ophthalmol 115: 511–515.

Sato EA, Ohtake Y, Shinoda K, et al. (2006) Decreased blood flow at neuroretinal rim of optic nerve head corresponds with visual field deficit in eyes with normal tension glaucoma. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. 244: 795–801.

Schechter AN (2008): Hemoglobin research and the origins of molecular medicine. Blood 112: 3927–3938.

Schmidl D, Garhofer G & Schmetterer L (2011a): The complex interaction between ocular perfusion pressure and ocular blood flow – Relevance for glaucoma. Exp Eye Res 93: 141–155.

Schmidl D, Weigert G, Dorner GT, et al. (2011b): Role of adenosine in the control of choroidal blood flow during changes in ocular perfusion pressure. Invest Ophthalmol Vis Sci 52: 6035–6039.

Schmidt KG, Pillunat LE, Kohler K, et al. (2001): Ocular pulse amplitude is reduced in patients with advanced retinitis pigmentosa. Br J Ophthalmol 85: 678–682.

Schweitzer D, Leistritz L, Hammer M, et al. (1995): Calibration- free measurement of the oxygen saturation in human retinal vessels. Ophthalmic Technologies V. Proc SPIE 2393: 210–218.

Severinghaus JW (2011): Monitoring oxygenation. J Clin Monit Comput 25: 155–161

Shahidi M, Wanek J, Blair NP, et al. (2010): Retinal tissue oxygen tension imaging in the rat. Invest Ophthalmol Vis Sci 51: 4766–4770.

Shindler KS, Ventura E, Dutt M, et al. (2008): Inflammatory demyelination induces axonal injury and retinal ganglion cell apoptosis in experimental optic neuritis. Experimental eye research 87(3): 208-213.

Shonat RD, Wilson DF, Riva CE,et al. (1992): Effect of acute increases in intraocular pressure on intravascular optic nerve head oxygen tension in cats. Invest Ophthalmol Vis Sci 33: 3174–3180.

Shui YB, Holekamp NM, Kramer BC, et al. (2009): The gel state of the vitreous and ascorbate-dependent oxygen consumption: relationship to the etiology of nuclear cataracts. Arch Ophthalmol 127: 475–482.

Shui YB, Fu JJ, Garcia C, et al. (2006): Oxygen distribution in the rabbit eye and oxygen consumption by the lens. Invest OphthalmolVis Sci 47: 1571–1580.

Singer M, Tan CS, Bell D, et al. (2014) Area of peripheral retinal nonperfusion

and treatment response in branch and central retinal vein occlusion. Retina 34: 1736–42.

Siegfried CJ, Shui YB, Holekamp NM,et al. (2010): Oxygen distribution in the human eye: relevance to the etiology of open-angle glaucoma after vitrectomy. Invest Ophthalmol Vis Sci 51: 5731–5738.

Sigal IA & Ethier CR (2009): Biomechanics of the optic nerve head. Exp Eye Res. 88: 799–807.

Simpson AR, Dowell NG, Jackson TL et al. (2013): Measuring the effect of pars plana vitrectomy on vitreous oxygenation using magnetic resonance imaging. Invest Ophthalmol Vis Sci 54: 2028–2034.

Skold A, Cosco DL & Klein R (2011): Methemoglobinemia: pathogenesis, diagnosis, and management. South Med J 104: 757– 761.

Smith MH, Denninghoff KR, Lompado A, et al. (2001): Minimizing the influence of fundus pigmentation on retinal vessel oximetry measurements. Proc SPIE 4245: 135–145.

Staub NC Sr (1998): Transport of oxygen and carbon dioxide: tissue oxygenation. In Berne RM, Levy MN, Koeppen BM & Stanton BA (eds). Physiology, 4th edn. St. Louis, USA: Mosby Inc: 561–571.

Stefansson E (1981): Ocular oxygenation and neovascularization. Durham, NC: Duke University.

Stefansson E, Wolbarsht ML & Landers MB III (1983): In vivo O2 consumption in rhesus monkeys in light and dark. Exp Eye Res 37: 251–256.

Stefansson E (1988): Retinal oxygen tension is higher in light than dark. Pediatr Res 23: 5–8.

Stefansson E. (2009): Physiology of vitreous Sumery. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol 247:147–163

Stefansson E, Landers MB III & Wolbarsth ML (1982): Vitrectomy, lensectomy, and ocular oxygenation. Retina 2: 159–166.

Stefansson E, Peterson JI & Wang YH (1989): Intraocular oxygen tension measured with a fiber-optic sensor in normal and diabetic dogs. Am J Physiol 256(Pt 2):H1127–H1133.

Stefansson E, Novack RL & Hatchell DL (1990): Vitrectomy prevents retinal hypoxia in branch retinal vein occlusion. Invest Ophthalmol Vis Sci 31: 284–

289.

Stefansson E, Machemer R, de Juan E Jr, et al. (1992): Retinal oxygenation and laser treatment in patients with diabetic retinopathy. Am J Ophthalmol 113: 36–38.

Stefansson E, Pedersen DB, Jensen PK, et al. (2005): Optic nerve oxygenation. Prog Retin Eye Res 24: 307–332.

Steinberg MH & Adams JG III (1991): Hemoglobin A2: origin, evolution, and aftermath. Blood 78: 2165–2177.

Sun XG, Hansen JE, Stringer WW, et al. (2001): Carbon dioxide pressure-concentration relationship in arterial and mixed venous blood during exercise. J Appl Physiol 90: 1798–1810.

Svrčinová T, Mareš J, Chrapek O, et al. (2017): Changes in oxygen saturation and the retinal nerve fibre layer in patients with optic neuritis - a pilot study. Acta Ophthalmol. Nov 1. doi: 10.1111/aos.13571. (přijato k publikaci)

Šín M, Chrapek O, Karhanová M, et al. (2016): The effect of pars plana vitrectomy and nuclear cataract on oxygen saturation in retinal vessels, diabetic and non-diabetic patients compared. Acta Ophthalmol 94(1): 41-7.

Šín M, Šínová I, Chrapek O, et al. (2014) The effect of pars plan vitrectomy on oxygen saturation in retinal vessels - a pilot study. Acta Ophthalmol 92(4): 328-332

Šínová I, Chrapek O, Mlčák P, et al. (2016). Automatic Retinal Oxymetry in Patients with Diabetic Retinopathy. Ceska a slovenska oftalmologie. *72*(5): 182.

Šínová I, Řehák J, Nekolova J, et al. (2018): Correlation between ischemic index of retinal vein occlusion and oxygen saturation in retinal vessels. Am J Ophthalmol 2018 – přijato k publikaci

Takahashi K, Muraoka K, Kishi S, et al. (1998): Formation of retinochoroidal collaterals in central retinal vein occlusion. Am J Ophthalmol 126: 91–99.

Tiedeman JS, Kirk SE, Srinivas S, et al. (1998): Retinal oxygen consumption during hyperglycemia in patients with diabetes without retinopathy. Ophthalmology 105: 31–36.

Toffaletti J & Zijlstra WG (2007): Misconceptions in reporting oxygen saturation. Anesth Analg 105(6 Suppl): S5–S9.

Tornquist P & Alm A (1979): Retinal and choroidal contribution to retinal metabolism in vivo. A study in pigs. Acta Physiol Scand 106: 351–357.

Tranquart F, Arsene S, Aubert-Urena AS, et al. (1998): Doppler assessment of hemodynamic changes after hemodilution in retinal vein occlusion. J Clin Ultrasound. 26: 119–24.

Tranquart F, Arsene S, Giraudeau B, et al.(2000): Initial color Doppler findings in retinal vein occlusion. J Clin Ultrasound 28: 28–33.

Traustason S, Hardarson SH, Gottfredsdottir MS, et al. (2009): Dorzolamidetimolol combination and retinal vessel oxygen saturation in patients with glaucoma or ocular hypertension. Br J Ophthalmol 93: 1064–1067.

Traustason S, Jensen AS, Arvidsson HS, et al. (2011): Retinal oxygen saturation in patients with systemic hypoxemia. Invest Ophthalmol Vis Sci 52: 5064-5067

Traustason S, La Cour M & Larsen M (2014): Retinal vascular oximetry during ranibizumab treatment of central retinal vein occlusion. Br J Ophthalmol. 98; 1208–1211.

Tsacopoulos M, Baker R & Levy S (1976): Studies on retinal oxygenation. Adv Exp Med Biol 75: 413–416.

Tsacopoulos M & Lehmenkuhler A (1977): A double-barrelled Pt-microelectrode for simultaneous measurement of PO2 and bioelectrical activity in excitable tissues. Experientia 33: 1337–1338.

Tsai AG, Johnson PC & Intaglietta M (2003): Oxygen gradients in the microcirculation. Physiol Rev 83: 933–963.

Tsui I, Kaines A, Havunjian MA, et al. (2011): Ischemic index and neovascularization in central retinal vein occlusion. Retina 231:105–110.

Türksever C, Valmaggia C, Orgul S, et al. (2014): Retinal vessel oxygen saturation and its correlation with structural changes in retinitis pigmentosa. Acta Ophthalmol 92:454–460

Ueda Consolvo T, Fuchizawa C, Otsuka M, et al. (2015): Analysis of retinal vessels in eyes with retinitis pigmentosa by retinal oximeter. Acta Ophthalmol *93*(6): 446-50

Vandewalle E, Abegão Pinto L, Olafsdottir OB, et al. (2014): Oximetry in glaucoma: correlation of metabolic change with structural and functional damage. Acta Ophthalmol *92*(2): 105-110.

Venkataraman ST, Hudson C, Fisher JA, et al. (2008): Retinal arteriolar and capillary vascular reactivity in response to isoxic hypercapnia. Exp Eye Res 87: 535–542.

Vingolo EM, Lupo S, Grenga PL,et al. (2010): Endothelin-1 plasma concentrations in patients with retinitis pigmentosa. Regul Pept 160: 64–67.

Wada Y (2002): Advanced analytical methods for hemoglobin variants. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci 781: 291– 301.

Wang L, Tornquist P & Bill A (1997a): Glucose metabolism of the inner retina in pigs in darkness and light. Acta Physiol Scand 160: 71–74.

Wang L, Tornquist P & Bill A (1997b): Glucose metabolism in pig outer retina in light and darkness. Acta Physiol Scand 160: 75–81.

Wangsa-Wirawan ND & Linsenmeier RA (2003): Retinal oxygen: fundamental and clinical aspects. Arch Ophthalmol; 121: 547–557.

Williams R, Airey M, Baxter H, et al. (2004): Epidemiology of diabetic retinopathy and macular oedema: a systematic review. Eye (Lond) 18: 963–983.

Williamson TH, Grewal J, Gupta B, et al. (2009): Measurement of PO2 during vitrectomy for central retinal vein occlusion, a pilot study. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol 247: 1019–1023.

Wilson DF, Vanderkooi JM, Green TJ, et al. (1987): A versatile and sensitive method for measuring oxygen. Adv Exp Med Biol 215:71–77.

Winslow RM & Vandegriff KD (1997): Oxygen-haemoglobin dissociation curve. In Crystal RG (ed.). The lung: scientific foundations. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins: 1625–1632.

Wimberley PD, Fogh-Andersen N, Siggaard-Andersen O, et al. (1988): Effect of pH on the absorption spectrum of human oxyhemoglobin: a potential source of error in measuring the oxygen saturation of hemoglobin. Clin Chem 34: 750–754.

Wolbarsht ML, Stefansson E & Landers MB III (1987): Retinal oxygenation from the choroid in hyperoxia. Exp Biol 47: 49–52.

Yagi T, Sakata K, Funatsu H, et al. (2012): Macular microcirculation in

patients with epiretinal membrane before and after surgery. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol 250: 931–934.

Yang W, Fu Y, Dong Y, et al. (2016). Retinal vessel oxygen saturation in a healthy young Chinese population. Acta Ophthalmol *94*(4): 373-379.

Yin ZQ, Vaegan, Millar TJ, et al. (1997): Widespread choroidal insufficiency in primary open-angle glaucoma. J Glaucoma. 6: 23–32.

Yip W, Siantar R, Perera SA, et al. (2014): Reliability and determinants of retinal vessel oximetry measurements in healthy eyes. Invest Ophthalmol Vis Sci 55: 7104–7110.

Yoneya S, Saito T, Nishiyama Y, et al. (2002): Retinal oxygen saturation levels in patients with central retinal vein occlusion. Ophthalmology 109: 1521–1526.

Yu DY, Cringle SJ, Alder VA, et al. (1994): Intraretinal oxygen distribution in rats as a function of systemic blood pressure. Am J Physiol 267:H2498–H2507.

Zhang Y, Harrison JM, Nateras OS, et al. (2013): Decreased retinalchoroidal blood flow in retinitis pigmentosa as measured by MRI. Doc Ophthalmol 126: 187–197.

Zijlstra WG, Buursma A & Van Assendelft OW (2000): Visible and near infrared absorption spectra of human and animal haemoglobin – determination and application. Utrecht: VSP.

Zong Y, Lin L, Yi C, et al. (2016): Retinal vessel oxygen saturation and vessel diameter in retinitis pigmentosa at various ages.Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol *254*(2): 243-252.