

УДК 617.735-002-02:616.379-008.64

DOI: <https://doi.org/10.22141/2309-8147.9.3.2021.247906>

Могілевський С.Ю.¹, Гудзь А.С.², Панченко Ю.О.¹, Бушуєва О.В.², Захаревич Г.Е.²
Національний університет охорони здоров'я України імені П.Л. Шупика, м. Київ, Україна
Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, м. Львів, Україна

Нові, генетично детерміновані, фактори ризику діабетичної ретинопатії при цукровому діабеті 2-го типу: заключне повідомлення

Резюме. *Актуальність.* За прогнозами Міжнародної федерації діабету (IDF), до 2030 року кількість хворих на цукровий діабет (ЦД) зросте з 366 до 552 мільйонів. В Україні зареєстровано понад 1,5 мільйона хворих на цукровий діабет, із яких 84–95 % — хворі на діабет 2-го типу (ЦД2). Одним із важливих ускладнень цукрового діабету є діабетична ретинопатія (ДР), що залишається однією з причин сліпоти і слабкозорості, в тому числі в осіб працездатного віку. В патогенезі ДР важлива роль належить метаболічним порушенням, в тому числі активації поліолового шляху утилізації глюкози, ключову роль у чому відіграє альдозоредуктаза, активність якої пов'язують з поліморфізмом її гена — AKR1B1. Вивчення нових метаболічних і генетичних механізмів розвитку і прогресування ДР при ЦД2 у пацієнтів української популяції є актуальним завданням сучасної офтальмології. **Мета:** дослідити та узагальнити нові дані про генетично детерміновані фактори ризику діабетичної ретинопатії при цукровому діабеті 2-го типу. **Матеріали та методи.** У дослідження було залучено 409 осіб, які були розподілені на чотири групи: 1-ша — пацієнти когорти порівняння (98 осіб без ЦД); 2-га — 76 пацієнтів (I стадія ДР, без змін на очному дні); 3-тя — 64 пацієнти (непроліферативна ДР (НПДР)); 4-та — 64 пацієнти (проліферативна ДР); контрольну групу для генетичних досліджень становили 107 офтальмологічно здорових обстежених пацієнтів. Всім пацієнтам виконували забір крові для молекулярно-генетичних досліджень шляхом пункції ліктьової вени і забору 2,5 мл крові через одноразовий шприц (Нетопласт, Etalon+, Україна) об'ємом 5,0 мл із голкою діаметром 23G з подальшим випусканням до контейнера (Vacuette K3E K3EDTA, Greiner bio-one, Австрія) об'ємом 3,0 мл. Досліджували розподіл поліморфних алелей і генотипів rs759853 та rs9640883 гена AKR1B1 у пацієнтів з НПДР та ПДР і ЦД2 та в контрольній групі та їх асоціацію з захворюванням і впливом на виникнення, механізми розвитку і прогресування ДР. На підставі проведених досліджень було розроблено модель прогнозування розвитку ДР шляхом побудови множинної регресії з достатньою надійністю ступеня впливу незалежних змінних на розрахунковий показник. **Результати.** В результаті проведених нами досліджень були встановлені нові, генетично детерміновані, фактори ризику розвитку та прогресування різних стадій ДР у пацієнтів із ЦД2, а саме роль поліморфних алелей і генотипів rs759853 та rs9640883 гена AKR1B1. Розроблені логістичні моделі регресії встановили, що ризик розвитку ДР у п'ять разів менший у носіїв генотипів G/G і G/A порівняно з носіями генотипу A/A поліморфізму rs759853 ($p < 0,001$). Встановлено, що ризик у два рази більший ($p = 0,01$) у носіїв генотипу G/G rs9640883 порівняно з генотипами A/A + G/A. Ризик розвитку ПДР у 3,3 раза менший у носіїв генотипу G/G та в 2,5 раза — у носіїв генотипу G/A порівняно з носіями генотипу A/A rs759853. **Висновки.** Отже, на підставі проведених нами клінічних, офтальмологічних і молекулярно-генетичних та статистичних досліджень були встановлені нові фактори ризику розвитку та прогресування різних стадій ДР у пацієнтів із ЦД2. Були побудовані математичні моделі розвитку та прогресування різних стадій ДР у пацієнтів із ЦД2.

Ключові слова: діабетична ретинопатія; цукровий діабет 2-го типу; фактори ризику; поліморфізм алелей і генотипів rs759853 та rs9640883 гена AKR1B1

© «Архів офтальмології України» / «Archive Of Ukrainian Ophthalmology» («Arhiv oftal'mologii Ukraini»), 2021

© Видавець Заславський О.Ю. / Publisher Zaslavsky O.Yu., 2021

Для кореспонденції: Могілевський Сергій Юрійович, доктор медичних наук, професор кафедри офтальмології, Національний університет охорони здоров'я України імені П.Л. Шупика, вул. Дорогожицька, 9, м. Київ, 04112, Україна; e-mail: sergey.mogilevskyy@gmail.com

For correspondence: S.Yu. Mogilevskyy, MD, PhD, Professor at the Department of ophthalmology, Shupyk National Healthcare University of Ukraine, Dorohozhytska st., 9, Kyiv, 04112, Ukraine; e-mail: sergey.mogilevskyy@gmail.com

Актуальність

За прогнозами Міжнародної федерації діабету (IDF), до 2030 року кількість хворих на цукровий діабет (ЦД) зросте з 366 до 552 мільйонів [1–8]. ЦД дослідники вважають найбільшою неінфекційною сучасною пандемією. ЦД 1-го типу становить близько 5–16 %, тоді як 84–95 % хворих страждають на ЦД 2-го типу (ЦД2). ЦД і його ускладнення є третьою причиною смертності у світі після серцево-судинних та онкологічних захворювань [9–11]. В Україні зареєстровано понад 1,5 мільйона хворих на ЦД [4, 12].

У зв'язку з відсутністю своєчасного звернення пацієнтів та пізньою діагностикою ЦД2 на час встановлення діагнозу до 50 % хворих уже мають ускладнення, пов'язані з розвитком мікро- та макроангіопатій [13–18].

Діабетична ретинопатія (ДР) була й залишається одним із вагомих ускладнень ЦД та є однією з основних причин слабкості та сліпоти в осіб працездатного віку [19–23]. Згідно з сучасними даними, понад 90 мільйонів людей страждають на ДР, серед них близько 17 мільйонів мають проліферативну форму (ПДР), 21 мільйон — діабетичний набряк макули (ДМН) та 28 мільйонів — ДР із високим ризиком сліпоти [24, 25].

Патологія сітківки розвивається у хворих на ЦД у 25 разів частіше порівняно з іншими захворюваннями. Але наявність або відсутність факторів ризику не завжди пояснюють розвиток і тяжкість ДР.

В патогенезі ДР одне з головних місць належить метаболічним порушенням [26–29]. Механізм розвитку ДР багатокомпонентний і включає порушення обміну речовин: вуглеводного, ліпідного, білкового й електролітного. У розвитку ДР суттєву роль відіграють генетичні чинники [30–33]. Відповідно до сучасних даних, генетичним факторам відводять до 50 % ризику розвитку ДР. Виявлення пацієнтів, схильних до розвитку ДР, сприятиме розробці індивідуального підходу до впровадження профілактичних заходів і лікування. Генетичні чинники можна вважати есенціальними факторами виникнення пізніх ускладнень ЦД, зокрема ДР. Низкою досліджень показано наявність спадковості при розвитку ДР у різних популяціях незалежно від рівня гіперглікемії та супутніх факторів ризику навколишнього середовища. Для ПДР спадковість була встановлена на рівні від 25 до 50 % [34, 35]. Ідентифікація генів, пов'язаних із виникненням ускладнень при ЦД, зокрема ДР, розширює відомості про роль молекулярних механізмів в її етіології [36, 37]. Результати генетичних досліджень дозволять розробити алгоритм для раннього виявлення пацієнтів з високим ризиком розвитку ускладнень ЦД.

В Україні немає проведеного дослідження щодо визначення найбільш значущих поліморфізмів, зокрема поліморфних варіантів генів альдозоредуктази, в розвитку ДР у пацієнтів із ЦД2. Суперечливі результати використання інгібіторів поліолового шляху утилізації глюкози в лікуванні ЦД2 та його ускладнень можуть бути пояснені, по-перше, генетичними відмінностями в різних етнічних групах, а по-друге, резистентністю окремих поліморфізмів щодо застосованих препаратів. Отже, обґрунтування нових методів діагностики ДР повинно базуватися на підставі визначення полімор-

фізмів основного гену, що є ключовим регулятором поліолового шляху утилізації глюкози при лікуванні ЦД2 — альдозоредуктази.

Мета: дослідити та узагальнити нові дані про генетично детерміновані фактори ризику діабетичної ретинопатії при цукровому діабеті 2-го типу.

Матеріали та методи

Всі дослідження проводили з дотриманням основних положень Конвенції Ради Європи про права людини та біомедицину, Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації про етичні принципи проведення наукових медичних досліджень за участю людини (1964, з подальшими доповненнями, включаючи версію 2000 р.) та Наказу МОЗ України № 690 від 23.09.2009 р.

Ступінь тяжкості ДР визначали за міжнародною класифікацією, прийнятою Американською академією офтальмології (2003). Дослідну когорту становили 204 пацієнти обох статей, різного віку, які звернулись у клініку з приводу хірургії катаракти.

Критерії включення у дослідження: пацієнти, в яких діагностовано ЦД2; пацієнти з ЦД2, які мали достатній діаметр зіниці, достатню прозорість оптичних середовищ і були адекватними для виконання оптичної когерентної томографії сітківки.

Критерії виключення: наявність іншої патології органа зору недіабетичного характеру, крім катаракти; наявність відомих на момент дослідження інших системних захворювань, крім ЦД2.

Когорту порівняння становили 98 осіб. Критерії включення: пацієнти, прооперовані з приводу катаракти; відсутність супутньої офтальмопатології та відомих на момент дослідження системних захворювань; максимальна коригована гострота зору не нижче 0,9 після операції; достатній діаметр зіниці й адекватність пацієнта для виконання оптичної когерентної томографії сітківки. Критерії виключення: наявність іншої патології органа зору; наявність цукрового діабету 1-го типу, інших відомих на момент дослідження системних захворювань.

Згідно з завданням дослідження та робочою класифікацією, пацієнти дослідної когорти та когорти порівняння були розподілені на чотири групи:

— 1-шу групу становили пацієнти когорти порівняння, загалом 98 осіб без ЦД2, результати обстеження яких вважалися за контрольні;

— 2-гу групу становили 76 пацієнтів із числа осіб дослідної когорти, в яких була діагностована І стадія ДР без змін на очному дні. Відокремлення цієї групи, на наш погляд, було надзвичайно важливим, оскільки дозволило вивчити патологічний процес при ЦД2, але ще без змін на очному дні (без наявних ознак ретинопатії);

— 3-тю групу становили 64 пацієнти з дослідної когорти зі встановленим діагнозом непроліферативної ДР (НПДР). Ці пацієнти увійшли в одну групу з огляду на наявність у них патологічного процесу — непроліферативної ретинопатії;

— 4-ту групу становили 64 пацієнти з дослідної когорти зі встановленою ПДР. Ця група була відокремлена у зв'язку з наявністю специфічних проліферативних

змін на очному дні і з наукової точки зору та відповідно до мети дослідження стала основною для подальших порівнянь та обґрунтування висновків. У відповідному сенсі всі інші групи можна було визначити як групи порівняння для оцінки окремого впливу вікових змін, ЦД2 та НПДР.

Крім перелічених чотирьох груп до дослідження була залучена ще одна група — контрольна, для генетичних досліджень. В цю групу було включено 107 офтальмологічно здорових обстежених пацієнтів, відповідних до інших груп за віком та статтю.

Загалом до даного дослідження було залучено 409 осіб.

Середній вік у групах становив: $69,6 \pm 1,1$ року в 1-й групі, $67,6 \pm 0,8$ року в 2-й групі, $67,8 \pm 1,1$ року в 3-й групі, $61,1 \pm 0,9$ року в 4-й групі та $62,4 \pm 0,4$ року в контрольній групі.

Всім пацієнтам проводили офтальмологічні дослідження: визначення максимальної гостроти зору з корекцією (МГЗК), вимірювання внутрішньоочного тиску (ВОТ), біомікроскопію, офтальмоскопію, фотграфування очного дна на фундус-камері в 7 ділянках згідно з протоколами дослідження ETDRS. Також проводили вимірювання центральної товщини сітківки (ЦТС) та центрального об'єму сітківки (ЦОС), яке виконували методом оптичної когерентної томографії (ОКТ), використовуючи протоколи Cross-Line і EMM5. Вимірювали найменшу товщину та об'єм сітківки у проекції фовеа в режимі Cross Line.

Визначення МГЗК, ВОТ, ЦТС і ЦОС виконували через місяць після забору ВОР.

Всім пацієнтам виконували забір крові для молекулярно-генетичних досліджень шляхом пункції ліктьової вени і забору 2,5 мл крові через одноразовий шприц (Hemoplast, Etalon+, Україна) об'ємом 5,0 мл з голкою діаметром 23G з подальшим випусканням до контейнера (Vacuette K3E K3EDTA, Greiner bio-one, Австрія) об'ємом 3,0 мл.

Одразу після забору біологічного матеріалу проводили його маркування, пакування у пластиковий контейнер, на внутрішній поверхні якого фіксували стікер, що містив необхідні паспортні й офтальмологічні дані пацієнта, на основі яких у подальшому створювали електронну базу даних у програмі Excel 2007 (Microsoft Corporation, США) із присвоєнням індивідуального порядкового номера. Пластиковий контейнер негайно розміщували в морозильній камері, де він і зберігався до етапу транспортування і дослідження.

Досліджували розподіл поліморфних алелей і генотипів *rs759853* та *rs9640883* гена альдозоредуктази (*AKR1B1*) у пацієнтів із НПДР та ПДР і ЦД2 та в контрольній групі та їх асоціацію з захворюванням та впливом на виникнення, механізми розвитку і прогресування ДР.

Статистичний аналіз результатів клінічних досліджень проводили за допомогою пакета програм SPSS 11.0, MedStat (Лях Ю.Є., Гур'янов В.Г., 2004–2012), MedCalc (MedCalc Software Vvba, 1993–2013). Для надання кількісних показників розраховували середнє арифметичне значення і помилку середнього (*m*). Для

оцінки якісних ознак розраховувалась частота їх появи (%) і стандартна помилка (*m%*). При порівнянні кількісних ознак у двох групах використовували параметричні критерії (в разі нормального закону розподілу) або непараметричний критерій Манна — Уїтні (у разі відмінності закону розподілу від нормального). При порівнянні частоти для якісних ознак у двох групах використовувався точний критерій Фішера. При порівнянні середніх значень кількісних показників у трьох і більше групах використовувалися параметричні та непараметричні методи множинних порівнянь. У разі, коли закон розподілу не відрізнявся від нормального, використовувалися дисперсійний аналіз і метод множинних порівнянь Шеффе, у разі відмінності закону розподілу від нормального — критерій Крускала — Уолліса і критерій Данна. Для порівняння розподілу значень якісних ознак у цьому випадку використовувався критерій χ^2 . Для аналізу динаміки показників використовували методи дисперсійного аналізу для пов'язаних груп або їх непараметричний аналог — критерій Фрідмана. Кількісна оцінка величини ефекту для якісних ознак проводилась за показником відношення шансів (ВШ; Odds Ratio (OR)), для узагальнення отриманих результатів розраховувався також 95% вірогідний інтервал (95% ВІ; Confidence Interval (CI)). Для оцінки ступеня зв'язку між ознаками були використані методи кореляційного аналізу. Для аналізу факторів, пов'язаних із ризиками розвитку патологічних процесів, були залучені методи побудови математичних моделей: моделей множинної регресії, однофакторних та багатфакторних моделей логістичної регресії. Вибір факторних ознак, пов'язаних із прогнозованим ризиком, проводився з використанням методу покровкового відкидання (Backward). Для оцінки адекватності побудованих моделей використовувався метод аналізу кривих операційних характеристик (ROC — Receiver Operating Characteristic curve analysis), при цьому розраховувалась площа під ROC-кривою (AUC — Area under the ROC curve). Модель вважається адекватною при статистично значущій відмінності величини AUC від 0,5. Для оцінки ступеня і спрямованості впливу факторних ознак на результуючу в рамках побудованої логістичної моделі розраховувалися показник ВШ та відповідний 95% ВІ. У всіх випадках проведення аналізу критичний рівень значущості був прийнятий рівним 0,05.

Результати та обговорення

Проведене нами дослідження встановило значущість алельного поліморфізму гена *AKR1B1* у розвитку ДР при ЦД2. Загальна оцінка перерозподілу генотипів поліморфізму *rs759853* показала, що у групах відзначалось загальне зниження шансів предкової генотипу G/G на тлі збільшення шансів гетерозиготи в пацієнтів без діабету (у 1,3 раза) та при ЦД2 без ретинопатії (у 1,9 раза), тоді як за умов ДР суттєво (у 3,3–3,9 раза) збільшувалися шанси мутантної гомозиготи A/A. Збільшення частоти гетерозиготи супроводжувало розвиток ЦД2 без ретинопатії, а збільшення мутантної гомозиготи — розвиток ДР і більшою мірою — ПДР. При зростанні тяжкості ЦД2 та прогресуванні ДР відзначалась чітка закономірність — зниження частоти предкової алелі G

та збільшення частоти мутантної алелі А поліморфізму *rs759853*. Також встановлене суттєве збільшення шансів предкового генотипу G/G поліморфізму *rs9640883* у пацієнтів із ЦД2 (у 1,4–1,6 раза) на тлі зменшення шансів гетерозиготи G/A (у 1,4–1,9 раза). Наявність ДР супроводжувалась повною відсутністю мінорної гомозиготи A/A (кількість таких пацієнтів становила 128 осіб). Це дало можливість припустити наявність протективного ефекту гомозиготи A/A, за відсутності якої складалися умови для розвитку ДР. У пацієнтів за умов прогресування ЦД2 та ДР була відзначена закономірність — збільшення частоти предкової алелі G та зменшення частоти мінорної алелі А поліморфізму *rs9640883*. З огляду на те, що гомозиготний генотип за мінорною алеллю A/A взагалі не був виявлений у пацієнтів із ДР, ми припустили наявність її протективної ролі (ДР частіше розвивалась у пацієнтів, які не мали алелі А). Нами був виявлений гаплотип ризику розвитку ДР: A/A *rs759853* + G/G *rs9640883*, що відзначався в основному за умов ДР (71,4 %). Оцінка значущості відмінностей (за критерієм «хі-квадрат») показала відсутність вірогідної асоціації вивчених поліморфізмів у пацієнтів без діабету. Наявність у генотипі поліморфізму *rs759853* гена *AKR1B1* мутантної алелі А суттєво (у 2,4 раза для алелі А, у 1,6 раза для гетерозиготного генотипу G/A та у 3,0 раза для гомозиготного мутантного генотипу A/A) підвищувала ризик розвитку ЦД2 ($p < 0,001$). Наявність гомозиготи за предковою алеллю G/G та алелі G поліморфізму *rs9640883* суттєво підвищувала ризик (відповідно у 1,6 та 2,4 раза), тоді як наявність алелі А у гетеро- або гомозиготному стані суттєво зменшувала ризик розвитку ЦД2 (у 2,1–2,9 раза). Була виявлена асоціація генетичних поліморфізмів гена *AKR1B1* з розвитком ДР (мутантна алель А поліморфізму *rs759853* та генотип A/A, що підвищувала шанси розвитку ДР відповідно у 2,8 та 5,2 раза, $p < 0,001$). Наявність алелі G у гетеро- або гомозиготному стані знижувала ризик розвитку ДР, що, можливо, мало протективний ефект. Також визначена наявність впливу поліморфізму *rs9640883* на розвиток ДР ($p < 0,001$). Наявність предкової алелі G підвищувала у 2,6 раза, а гомозигота G/G — у 3,0 раза ризик розвитку ДР. На противагу цьому наявність алелі А знижувала у 2,6 раза, а гомозигота A/A — у 16,7 раза ризик розвитку ДР. Наявність алелей ризику негативно впливала на розвиток ДР

у пацієнтів з ЦД2. Алель А поліморфізму *rs759853* у 1,5 раза підвищувала ризик розвитку ДР, а у гомозиготному стані (генотип A/A) ризик збільшувався у 10,8 раза. Наявність гомозиготи G/G поліморфізму *rs9640883* збільшувала ризик розвитку ДР у 1,5 раза. Окремо встановлено, що на розвиток ПДР поліморфізми *rs759853* та *rs9640883* гена *AKR1B1* не впливали. Високий ризик розвитку як ЦД2, так і ДР був пов'язаний з поєднанням у гаплотипі мінорної гомозиготи ризику A/A *rs759853* з іншою гомозиготою ризику — G/G *rs9640883* або з поєднанням гетерозиготи G/A *rs759853* з гомозиготою ризику G/G *rs9640883*. Тобто асоціацію з ЦД2 та ДР мали гаплотипи з поєднанням алелі А поліморфізму *rs759853* з предковою гомозиготою G/G поліморфізму *rs9640883*. До того ж гаплотипи G/A *rs759853**G/G *rs9640883* та A/A *rs759853**G/G *rs9640883* були маркерами наявності ДР порівняно з контрольною групою. Протективний ефект на розвиток ЦД2 і ДР мали відсутність генотипу A/A *rs9640883* та поєднання його з мінорною гомозиготою A/A *rs759853*. Гаплотип A/A *rs759853**G/A *rs9640883* суттєво підвищував ризик розвитку ПДР, тоді як гаплотип G/G *rs759853**G/A *rs9640883*, навпаки, вірогідно зменшував шанси її розвитку.

Також в результаті наших досліджень було встановлено, що ризик розвитку ретинопатії зменшувався (у 5 разів; $p < 0,001$) для генотипу G/A поліморфізму *rs759853* з показником ВШ 0,2 (95% ВІ 0,1–0,4) і для генотипу G/G поліморфізму *rs759853* (у 5 разів; $p < 0,001$) з показником ВШ 0,2 (95% ВІ 0,1–0,4) порівняно з генотипом A/A поліморфізму *rs759853*. Виявлено зростання (майже у два рази; $p = 0,01$) ризику розвитку ДР для генотипу G/G поліморфізму *rs9640883* з показником ВШ 1,9 (95% ВІ 1,2–3,1) порівняно з генотипами A/A + G/A поліморфізму *rs9640883* (слід зазначити, що для A/A *rs9640883* жодного випадку ДР встановлено не було). Виявлено зменшення ($p < 0,001$) ризику розвитку ПДР з віком пацієнта, показник ВШ = 0,94 (95% ВІ 0,91–0,97) на кожен рік. Ризик розвитку ПДР зменшувався у 2,5 раза ($p = 0,01$) для генотипу G/A поліморфізму *rs759853* з показником ВШ 0,4 (95% ВІ 0,2–0,8) і у 3,3 раза для генотипу G/G поліморфізму *rs759853* ($p = 0,003$) з показником ВШ 0,3 (95% ВІ 0,1–0,7) порівняно з генотипом A/A поліморфізму *rs759853*. Зв'язку ризику розвитку ПДР з *rs9640883* не виявлено.

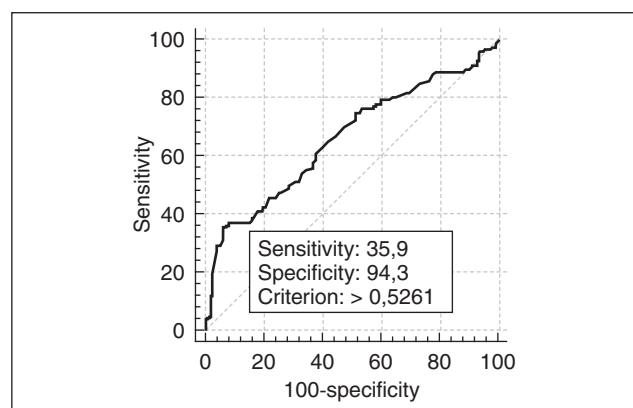


Рисунок 1. ROC-крива трифакторної моделі визначення ризику розвитку ДР

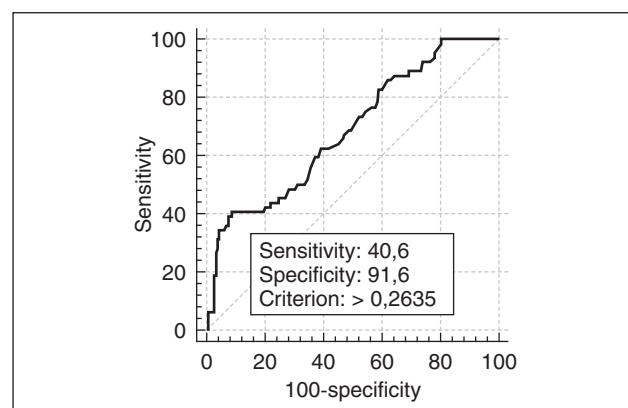


Рисунок 2. ROC-крива трифакторної моделі визначення ризику розвитку ПДР

На підставі проведених нами клінічних, офтальмологічних та молекулярно-генетичних досліджень ми розробили модель прогнозування розвитку ДР шляхом побудови множинної регресії з достатньою надійністю ступеня впливу незалежних змінних на розрахунковий показник: -2Log -правдоподібність — 354,467 ($\chi^2 = 42,877$; $p < 0,001$), коефіцієнт детермінації вхідних даних $R^2 = +0,261$. Найбільша ймовірність розвитку ДР була відзначена для гаплотипів A/A *rs759853**G/G *rs9640883* ($Z = 0,610$), G/A *rs759853**G/G *rs9640883* ($Z = 0,407$) та A/A *rs759853**G/A *rs9640883* ($Z = 0,389$). ROC-крива трифакторної моделі визначення ризику розвитку ДР надана на рис. 1, а ПДР — на рис. 2.

Найменша ймовірність розвитку ДР ($Z = 0,047$) була визначена для протективного гаплотипу (G/G *rs759853**A/A *rs9640883*). Загалом значення ймовірності розвитку ДР більше або рівне 0,231 встановлювало позитивний результат, а менша величина вказувала на негативний результат. Значення, що перевищують цю межу, прогнозують схильність до розвитку ДР з 60,94 % правильного результату.

Нами було встановлено, що ПДР в середньому розвивається на 3,62 року пізніше від початку захворювання на ЦД2, ніж НПДР. Водночас швидкість розвитку ДР визначає гаплотип поліморфізмів *rs759853* та *rs9640883* гена *AKR1B1*: у носіїв гаплотипу G/G *rs759853**G/A *rs9640883* НПДР розвивається на 2,5 року раніше, ніж у середньому в цій групі пацієнтів, а ПДР — на 7,2 року раніше. Навпаки, затримує розвиток ДР наявність гаплотипу G/A *rs759853**G/G *rs9640883*, а розвиток ПДР — ще й гаплотип A/A *rs759853**G/A *rs9640883*.

Висновки

1. В результаті проведених нами досліджень були встановлені нові, генетично детерміновані, фактори ризику розвитку і прогресування різних стадій ДР у пацієнтів із ЦД2, а саме роль поліморфних алелей і генотипів *rs759853* та *rs9640883* гена *AKR1B1*.

2. Розроблені логістичні моделі регресії встановили, що ризик розвитку ДР у п'ять разів менший у носіїв генотипів G/G і G/A порівняно з носіями генотипу A/A поліморфізму *rs759853* ($p < 0,001$). Встановлено, що ризик у два рази більший ($p = 0,01$) у носіїв генотипу G/G *rs9640883* порівняно з генотипами A/A + G/A. Ризик розвитку ПДР у 3,3 раза менший у носіїв генотипу G/G та у 2,5 раза — у носіїв генотипу G/A порівняно з носіями генотипу A/A *rs759853*.

Конфлікт інтересів. Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів при підготовці даної статті.

Список літератури

1. Ametov A.S., Karpova E.V. Rol' tanakana v lechenii pozdnih oslozhenij saharnogo diabeta. *Russkij medicinskij zhurnal*. 2007. T. 15. № 27(308). S. 2088-2092. [in Russian]
2. Balabolkin M.I., Klebanova E.M., Kreminskaya V.M. Lechenie saharnogo diabeta i ego oslozhenij: Rukovodstvo dlya vrachej. M.: Medicina, 2005. 512 s. [in Russian]

3. Bezdetko P.A., Gorbacheva E.V. Epidemiologiya i chastota saharnogo diabeta i diabeticheskoy retinopatii. *Mezhdunarodnyj endokrinologicheskij zhurnal*. 2006. № 4(6). S. 76-80. [in Russian]
4. Vlasenko M.V. Cukrovij diabet: diagnostika i monitoring. Liki Ukraїni. 2013. № 9–10. S. 17-18. [in Ukrainian]
5. Dorogoj A.P. Trivalist' zhittya, potencijni vtrati trudovogo potencialu j povikova smertnist' pri cukrovomu diabete: Dinamika pokaznikiv. *Mizhnarodnij endokrinologichnij zhurnal*. 2007. № 3(9). S. 14-19. [in Russian]
6. Naumenko V.A. Sistemnyj podhod k rannej diagnostike diabeticheskoy retinopatii. *Problemi ekologichnoi ta medicnoi genetiki i klinichnoi imunologii*. 2010. Vip. 1. S. 425-434. [in Russian]
7. Suplotova L.A., Bel'chikova L.N., Rozhnova N.A. Epidemiologicheskie aspekty saharnogo diabeta 2 tipa s manifestaciej zabolevaniya v molodom vozraste. *Saharnyj diabet*. 2011. № 1. S. 11-13. [in Russian]
8. Scanlon P.H., Aldington S.J., Stratton I.M. Epidemiological issues in diabetic retinopathy. *Middle East Afr. J. Ophthalmol*. 2013. Vol. 20. № 4. P. 293-300.
9. Ametov A.S., Kurochkin I.O., Zubkov A.A. Saharnyj diabet i serdechno-sosudistye zabolevaniya. *Russkij medicinskij zhurnal*. 2014. № 13. S. 954-959. [in Russian] [Elektronnyj resurs]
10. Vorob'eva I.V., Repkina M.Yu. Prakticheskie rekomendacii o nablyudenii bol'nyh s diabeticheskoy retinopatiej. *Russkij medicinskij zhurnal*. 2009. № 24. Rezhim dostupa: http://www.rmj.ru/articles_6912.htm [in Russian] [Elektronnyj resurs]
11. Dedov I.I., Shestakova M.V., Milen'kaya T.M. Saharnyj diabet: retinopatiya, nefropatiya. M.: Medicina, 2001. 176 s. [in Russian]
12. Komisarenko Yu.I. Korekciya vitaminom D₃ porushen' metabolichnih procesiv u pacientiv iz cukrovim diabetom 1-go ta 2-go tipiv. *Ukraїns'kij biohimichnij zhurnal*. 2014. T. 86. № 1. S. 111-116. [in Ukrainian]
13. Bel'gov A.Yu. Hronicheskie oslozheniya saharnogo diabeta. Chast' 1. *Sosudistye oslozheniya saharnogo diabeta. Novye Sankt-Peterburgskie vrachebnye vedomosti*. 2013. T. 63. № 1. S. 13-20. [in Russian]
14. Gendeleka G.F. Preventivnaya diabetologiya. Odessa: VMV, 2013. 608 s. [in Russian]
15. Golivec T.P., Kuz'mina O.A., Dmitrieva T.V. Hronicheskie sosudistye oslozheniya saharnogo diabeta (patogenez, diagnostika, lechenie, mediko-social'naya ekspertiza i rehabilitaciya): ucheb. posobie dlya samostoyat. Podgotovki. Belgorod: IPK NIU "BelGU", 2011. 60 s. [in Russian]
16. Ivanova N.V., Yarosheva L.M., Yarosheva N.A. Konservativnoe lechenie diabeticheskoy retinopatii. *Oftal'mologiya. Vostochnaya Evropa*. 2014. № 1. S. 141-151. [in Russian]
17. Skripnik N.V., Grib V.A., Didushko O.M. Osoblivosti patogenezu ta likuvannya diabetichnoi avtonomnoi nejropatii (oglyad literaturi). *Liki Ukraїni*. 2012. № 2. S. 6-14. [in Ukrainian]
18. Tron'ko M.D., Pan'kiv V.I. Klinichna efektnist' ta organizaciya programi skriningu cukrovogo diabeta v Kolomijs'komu rajoni Ivano-Frankivs'koї oblasti. *Endokrinologiya*. 2005. T. 10. № 1. S. 5-13. [in Ukrainian]
19. Zhaboedov G.D., Sidorova M.V., Skripnik R.L. Nekotorye aspekty patogeneza diabeticheskoy retinopatii. *Mezhdunarodnyj zhurnal*. 2000. № 1. S. 46-49. [in Russian]
20. Naumenko V.A. Integral'naya sistema rannej diagnostiki neproliferativnoj diabeticheskoy retinopatii. *Eksperimental'na ta klinichna fiziologiya i biohimiya*. 2010. № 2. S. 98-103. [in Russian]
21. Abhary S., Hewitt A.W., Burdon K.P., Craid J.E. A systematic meta-analysis of genetic association studies for diabetic retinopathy. *Diabetes*. 2009. Vol. 58. № 9. P. 2137-2147.

22. Buraczynska M., Ksiazek P., Baranowicz-Gaszczyk I., Jozwiak L. Association of the VEGF gene polymorphism with diabetic retinopathy in type 2 diabetes patients. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2007. Vol. 22. № 3. P. 827-32.
23. Kuo J.Z., Wong T.Y., Rotter J.I. Challenges in elucidating the genetics of diabetic retinopathy. *JAMA Ophthalmol.* 2014. Vol. 132. № 1. P. 96-107.
24. Yau J.W., Rogers S.L., Kawasaki R. [et al.]. Global prevalence and major risk factors of diabetic retinopathy. *Diabetes Care.* 2012. Vol. 35. № 3. P. 556-564.
25. Tarr J.M., Kaul K., Chopra M. [et al.]. Pathophysiology of diabetic retinopathy. *ISRN Ophthalmol.* 2013. e343560.
26. Velichko P.B., Osmanov E.M. Sovremennye metodicheskie podhody k lecheniyu diabeticheskoy retinopatii. *Vestnik TGU.* 2013. T. 18. Vyp. 6. S. 3248-3249. [in Russian]
27. Mohort T.V. Diabeticheskaya retinopatiya: tochka zreniya endokrinologa, osnovannaya na rezul'tatah mnogocentrovyyh issledovaniy. *Oftal'mologiya. Vostochnaya Evropa.* 2012. № 4. S. 102-118. [in Russian]
28. Li Q., Verna A., Han P.Y. [et al.]. Diabetic eNOS-knockout mice develop accelerated retinopathy. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2012. Vol. 51. № 10. P. 5240-6.
29. Wong T.Y., Klein R., Klein B.E. [et al.]. Retinal microvascular abnormalities and their relationship with hypertension, cardiovascular disease, and mortality. *Surv. Ophthalmol.* 2001. Vol. 46. P. 59-80.
30. Sladek R., Rocheleau G., Rung J. [et al.]. A genome-wide association study identifies novel risk loci for type 2 diabetes. *Nature.* 2007. Vol. 445. P. 881-885.
31. Abhary S., Burdon K.P., Laurie K.J. [et al.]. Aldose reductase gene polymorphisms and diabetic retinopathy susceptibility. *Diabetes Care.* 2010. Vol. 33. № 8. P. 1834-6.
32. Balasubbu S., Sundaresan P., Rajedran A. [et al.]. Association of nine candidate gene polymorphisms in Indian patients with type 2 diabetic retinopathy. *BMC Med. Genet.* 2012. Vol. 10. № 11. P. 158.
33. Kaidonis G., Abhary S., Daniell M. [et al.]. Genetic study of diabetic retinopathy: recruitment methodology and analysis of baseline characteristics. *Clin. Experiment. Ophthalmol.* 2014. Vol. 42. № 5. P. 486-93.
34. Hietala K., Forsblom C., Summanen P., Groop P.H. Heritability of proliferative diabetic retinopathy. *Diabetes.* 2008. Vol. 57. P. 2176-2180.
35. Arar N.H., Freedman B.I., Adler S.G. [et al.]. Heritability of the severity of diabetic retinopathy the FIND-Eye study. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2008. Vol. 49. P. 3839-3845.
36. Ma Z.J., Chen R., Ren H.Z. [et al.]. Association between eNOS 4b/a polymorphism and the risk of diabetic retinopathy in type 2 diabetes mellitus: a meta-analysis. *J. Diabetes Res.* 2014. [Electronic resource]. Access mode: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4033540/>
37. Cooke J.N., Ng M.C.Y., Palmer N.D. [et al.]. Genetic risk assessment of type 2 diabetes-associated polymorphisms in african americans. *Diabetes Care.* 2012. Vol. 35. № 2. P. 287-292.

Отримано/Received 03.11.2021

Рецензовано/Revised 18.11.2021

Прийнято до друку/Accepted 22.11.2021 ■

S.Yu. Mogilevskyy¹, A.S. Hudz², Yu.O. Panchenko¹, O.V. Bushuyeva², G.E. Zakharevych²¹ Shupyk National Healthcare University of Ukraine, Kyiv, Ukraine² Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Lviv, Ukraine

New genetically determined risk factors of diabetic retinopathy in type 2 diabetes mellitus: final report

Abstract. Background. According to the International Diabetes Federation, the number of people with diabetes mellitus is going to increase from 366 to 552 million by 2030. More than 1.5 million patients with diabetes are registered in Ukraine, of which 84–95 % have type 2 diabetes. Diabetic retinopathy (DR) is one of the common diabetes complications, being one of the leading causes of blindness and low vision, in particular in people of occupational age. Metabolic disorders, including activation of the polyol pathway of glucose utilization, play an important role in the pathogenesis of DR, with aldose reductase playing a key role, the activity of which is associated with the polymorphism of its gene, *AKR1B1*. The study of new metabolic and genetic mechanisms for the development and progression of DR in type 2 diabetes mellitus in patients from the Ukrainian population is an actual task of modern ophthalmology. Purpose: to investigate and generalize new genetically determined risk factors for diabetic retinopathy in type 2 diabetes mellitus. **Materials and methods.** The study involved 409 participants, who were divided into four groups: 1 — comparison cohort (98 people without diabetes mellitus type 2); 2 — 76 patients (stage I DR, without fundus changes); 3 — 64 individuals with non-proliferative DR; 4 — 64 patients with proliferative DR; control group for genetic researches included 107 ophthalmologically healthy individuals. All patients underwent blood sampling for molecular genetic research by puncture of the ulnar vein and aspiration of 2.5 ml of blood through a 23G 5.0 ml disposable syringe (Hemoplast, Etalon+, Ukraine), followed by a release into a 3.0 ml container (Vacuette K3E K3EDTA, Greiner Bio-One, Austria). Distribution of polymorphic alleles and genotypes of *rs759853* and *rs9640883* aldose reductase gene (*AKR1B1*) in patients

with non-proliferative DR, proliferative DR and in the control group and their association with disease and effects on the occurrence, mechanisms of development and progression of DR were studied. Based on the conducted researches, a model of DR development prognosis was developed by construction of multiple regression with sufficient reliability of degree of influence of independent variables on a calculated indicator. **Results.** As a result of our research, we identified new genetically determined risk factors for the development and progression of the different stages of DR in patients with diabetes mellitus type 2, namely the role of polymorphic alleles and genotypes *rs759853* and *rs9640883* of the *AKR1B1* gene. The developed logistic regression models found that the risk of DR incidence is five times lower in carriers of the G/G and G/A genotypes compared to carriers of the A/A genotype *rs759853* polymorphism ($p < 0.001$). It was found that the risk is twice as high ($p = 0.01$) for carriers of the G/G genotype *rs9640883* compared to the A/A + G/A genotypes. The risk of developing proliferative DR is 3.3 times lower in carriers of the G/G genotype and 2.5 times lower in carriers of the G/A genotype compared to carriers of the A/A genotype *rs759853*. **Conclusions.** Therefore, on the basis of our clinical, ophthalmological, molecular genetic and statistical studies we have identified new risk factors for the development and progression of different stages of DR in patients with diabetes mellitus type 2. Mathematical models of development and progression of different stages of DR in patients with diabetes type 2 were built.

Keywords: diabetic retinopathy; type 2 diabetes mellitus; risk factors; polymorphisms of alleles and genotypes *rs759853* and *rs9640883* of the *AKR1B1* gene