

Гудзь А.С.¹, Максимців М.Л.¹, Могілевський С.Ю.²,
Панченко Ю.О.², Бушуєва О.В.¹, Захаревич Г.Є.¹

¹ Національний медичний університет імені Данила Галицького МОЗ України, м. Львів, Україна

² Національний університет охорони здоров'я України імені П.Л. Шупика, м. Київ, Україна

Роль порушень функціонального стану тромбоцитів у розвитку діабетичної ретинопатії при цукровому діабеті 2-го типу: заключне повідомлення

Резюме. Актуальність. На сьогодні не до кінця встановлені всі фактори, що визначають швидкість і характер розвитку й прогресування діабетичної ретинопатії (ДР) при цукровому діабеті 2-го типу (ЦД2). Актуальною є розробка інформативних методів діагностики й прогнозування перебігу порушення інтра-ретинальної мікроциркуляції при ДР. Важливим чинником розвитку геморагій сітківки ока при цукровому діабеті вважаються тромбоцити (Тц). **Мета:** дослідити роль порушень функціонального стану тромбоцитів у розвитку діабетичної ретинопатії при цукровому діабеті 2-го типу. **Матеріали та методи.** Спостереження проводилося за 100 пацієнтами (100 очей) із ЦД2 і різними стадіями ДР. Дослідження пацієнтів було проведено на момент звернення пацієнта по спеціалізовану медичну допомогу, до початку лікування. У дослідженні використали наступні агоністи (індуктори агрегації): аденозиндифосфат (АДФ); адреналін; колаген; ангіотензин-2; фактор активації Тц (ФАТ). Статистичний аналіз проводили за допомогою пакета програм MedStat, MedCalc v. 17 і пакета побудови й аналізу нейромережкових моделей Statistica Neural Networks v.4.0 В. **Результати.** У результаті досліджень встановлено, що при ДР у пацієнтів неоднозначно змінюється відповідь Тц на агоністи — адреналін, колаген, ангіотензин-2, ФАТ і АДФ, яка обумовлена наявністю різних кластерів функціональної активності рецепторів. У пацієнтів з непроліферативною ДР виявлено протромбогенний (гіперадренореактивний) фенотип тромбоцитів, який може створювати умови для прогресування захворювання при дії колагену, ангіотензину-2 і ФАТ. У пацієнтів з проліферативною ДР прогресування геморагій, розвиток запалення й неоваскуляризація відбуваються за участю протромбогенного (гіперангіотензинового) фенотипу Тц, який характеризується високою реакцією на АДФ і ФАТ. На основі отриманих даних розроблена й впроваджена в практику нейромережева модель прогнозування розвитку стадій ДР. **Висновки.** 1. У пацієнтів із ДР уперше встановлено підвищення функціональної активності GPVI-рецепторів до колагену, α_2 -адрено- і АТ1-рецепторів, пуринових (P2Y1 P2Y12) і ФАТ-рецепторів тромбоцитів, що проявлялося різними фенотипами і кластерами рецепторів. Даний феномен відображав індивідуальну реактивність пацієнтів стосовно впливу патогенетичних факторів ЦД (експозиції колагену стінки судин, активації симпатоадреналової і ренін-ангіотензинової систем, автокринної стимуляції тромбоцитів і розвитку запалення) на тромбогенез. 2. Встановлено збільшення вмісту прозапального цитокіну ІЛ-1 β у сироватці крові пацієнтів із ЦД2 без змін на очному дні у два рази ($p < 0,001$) порівняно з контролем. Висока кореляція значень адреналін- ($r = 0,805$; $p < 0,001$) і ФАТ-індукованої ($r = 0,604$; $p < 0,01$) агрегації тромбоцитів з рівнем ІЛ-1 β свідчила про зв'язок між реактивністю Тц і системною запальною реакцією. 3. На підставі отриманих результатів дослідження вперше була розроблена й впроваджена в практику нейромережева модель прогнозування стадій ДР. Лінійна модель прогнозування стадій захворювання заснована на аналізі двох факторних ознак — агрегації тромбоцитів, що індукована колагеном і АДФ; точність прогнозу становила 81,8 % (95% ДІ 73,5–88,8 %).

Ключові слова: діабетична ретинопатія; цукровий діабет 2-го типу; порушення агрегації Тц; прогнозування

Вступ

Оцінка національного, регіонального й глобального впливу цукрового діабету (ЦД) за даними дослідження Міжнародної федерації діабету (IDF), проведеного в 111 країнах світу, показала, що у 2015 році було 415 млн (інтервал невизначеності: 340–536 млн) осіб з діабетом віком 20–79 років і 5 млн смертей, пов'язаних з діабетом, а загальні глобальні витрати на охорону здоров'я через діабет оцінювалися в 673 млрд доларів США. При цьому 75 % хворих на діабет проживали в країнах з низьким і середнім рівнем доходу. Прогнозується, що до 2040 року кількість людей з діабетом віком 20–79 років зросте до 642 млн (інтервал невизначеності: 521–829 млн) [1, 12, 14].

Є дані, що у 25,8 % пацієнтів із ЦД наявна діабетична ретинопатія (ДР): у 20,2 % — непроліферативна, у 4,7 % — проліферативна, у 0,7 % — не класифікована, а 0,1 % — сліпі внаслідок ДР. Поширеність ДР залежно від тривалості діабету становить 1,1 % при встановленні діагнозу, 6,6 % — через 0–5 років, 12 % — через 5–10 років, 24 % — через 10–15 років, 39,9 % — через 15–20 років, 52,7 % — через 20–25 років, 58,7 % — через 25–30 років і 63 % — при стажі діабету понад 30 років [6, 18–20].

На сьогодні немає чіткої концепції щодо сутності й механізмів дисфункції мікроциркуляторного русла ока за умов ДР і, головне, невідомі фактори, що визначають швидкість і характер розвитку ретинальних геморагій. У цьому контексті актуальною є розробка інформативних методів діагностики й прогнозування перебігу порушення інтратретинальної мікроциркуляції при ДР [16, 17]. Також невідомі фактори, що визначають швидкість і характер розвитку ретинальних геморагій. Важливим чинником розвитку геморагій сітківки ока при ЦД вважаються тромбоцити (Тц), які є першим і провідним елементом реакції системи крові на ушкодження ендотелію стінки судин. Однак до цього часу керування тромбоцитарною ланкою гемостазу й запальною реакцією при ДР має суто емпіричний характер, хоча очевидна необхідність аналізу функціональної відповіді Тц на системні й паракринні регулятори, що відіграють ключову роль у патогенезі ускладнень ЦД [2, 7, 9, 11, 15, 21].

Ми раніше повідомляли про основні етапи дослідження ролі порушень агрегації Тц (АТц) у розвитку й прогресуванні ДР і діабетичної макулопатії в пацієнтів із ЦД2 [4, 5, 10, 13].

У зв'язку з цим з'ясування молекулярних механізмів порушення функції тромбоцитів за умови прогресування ДР і розробка інформативних методів оцінки тромбогенезу, розвитку ретинальних геморагій і запального процесу в судинній оболонці ока є актуальним завданням сучасної офтальмології.

Мета роботи: дослідити роль порушень функціонального стану тромбоцитів у розвитку діабетичної ретинопатії при цукровому діабеті 2-го типу.

Матеріали та методи

Усі дослідження проведені з дотриманням основних біоетичних норм і вимог Гельсінської декларації, прийнятої Генеральною асамблеєю Всесвітньої

медичної асоціації, Конвенції Ради Європи про права людини та біомедицину (1977 р.), відповідного положення ВООЗ, Міжнародної ради медичних наукових товариств, Міжнародного кодексу медичної етики (1983 р.) і Наказу МОЗ України № 690 від 23.09.2009. Усі пацієнти, які брали участь у дослідженні, підписували інформовану згоду.

Спостереження проводилося за 100 пацієнтами (100 очей) із ЦД2 і різними стадіями ДР. Групу пацієнтів із ДР без змін на очному дні ($n = 38$) становили 27 (71 %) жінок і 11 (29 %) чоловіків. Середній вік жінок — $67,3 \pm 1,4$ року статистично значуще не відрізнявся від такого в пацієнтів чоловічої статі — $68,9 \pm 2,3$ року. До групи пацієнтів із непроліферативною ДР (НПДР) ($n = 31$) були включені 19 (61,3 %) жінок і 12 (38,7 %) чоловіків. Вік жінок $73,0 \pm 2,9$ року не відрізнявся від показника в пацієнтів чоловічої статі — $66,5 \pm 1,9$ року ($p > 0,05$). Міжгрупові зіставлення показали, що вік пацієнтів з ДР без змін на очному дні і хворих з НПДР статистично значуще не відрізнявся ($p > 0,05$). За результатами офтальмологічних, клінічних і лабораторних обстежень легка стадія НПДР була в 19 пацієнтів, середній вік — $69,7 \pm 2,1$ року; помірна стадія НПДР — у 12 пацієнтів, середній вік — $67,2 \pm 2,2$ року. Серед пацієнтів з проліферативною ДР (ПДР) ($n = 31$) було 23 (74,2 %) жінки, вік яких становив $69,0 \pm 3,2$ року, і 8 (25,8 %) чоловіків віком $63,5 \pm 1,3$ року.

Група контролю включала 10 здорових осіб, які проходили діагностичне обстеження і не мали клінічних і лабораторних ознак цереброваскулярної та кардіальної патології. Контрольна група була порівнянна за віком із пацієнтами із ЦД 2-го типу і ДР без змін на очному дні.

Дослідження пацієнтів було проведено на момент їх звернення по спеціалізовану медичну допомогу, до початку лікування. Усі пацієнти обстежувалися в ендокринолога для визначення типу ЦД і призначення консервативної терапії, за необхідності — у нефролога й хірурга. Також збирали анамнез захворювання і анамнез життя. Особливу увагу приділяли відомостям про тривалість ЦД і наявність у близьких родичів (батька, матері, рідних братів і сестер) діабетичної ангіопатії.

Усім пацієнтам виконували загальний аналіз крові, дослідження рівня глюкози, венозної плазми крові натще й глікозильованого гемоглобіну, коагулограму, аналіз сечі, біохімічне дослідження крові, оцінку водно-електролітного балансу, визначення рівня ІЛ-1 β у сироватці крові, а також електрокардіографію і флюорографію. При аналізі гемограми визначали кількість формених елементів, лейкоцитарну формулу й абсолютну кількість різних видів лейкоцитів, оцінювали швидкість осідання еритроцитів.

Також досліджували агрегацію Тц турбідиметричним методом відповідно до стандарту Європейських рекомендацій щодо стандартизації агрегометрії. У дослідженні ми використали наступні агоністи (індуктори агрегації): АДФ, який вивільняється з щільних гранул Тц для ініціації автокринної стимуляції Тц після активації пуринових P2-рецепторів;

адреналін, який індукує АТц унаслідок активації α_2 -адренорецептора; колаген — системний чинник, рівень якого зростає внаслідок ремоделювання базальної мембрани судин, що супроводжується стимуляцією Тц унаслідок активації їх GРVI-рецепторів; ангіотензин-2 — гуморальний чинник, який відображає активацію ренин-ангіотензинової системи; зв'язується з АТ2-рецептором, асоційованим з Gq-білком, наслідком чого є зростання внутрішньоклітинного вмісту Ca^{2+} ; ФАТ (фактор активації Тц) зв'язується з ФАТ-рецептором, асоційованим з Gq-білком; агоніст модулює *in vitro* взаємодію лейкоцитів і Тц при запальній реакції. На Тц здорових волонтерів (контрольна група) реєстрували агрегацію при зростаючій концентрації агоністів, що дозволило визначити EC_{50} (ефективну концентрацію агоніста на рівні $50,0 \pm 5,0$ %). Визначення такої концентрації дозволяє зазначити рівень нормореактивності Тц. EC_{50} для АДФ становила 5,0 мкМ, адреналіну — 5,0 мкМ, колагену — 2,0 мг/мл, ФАТ — 150,0 мкМ і ангіотензину-2 — 2,0 мкМ.

Офтальмологічні дослідження включали візометрію, рефрактометрію, тонометрію, гоніоскопію, біомікроскопію, фотографування очного дна в 7 ділянках згідно з протоколами дослідження ETDRS на фундус-камері, вимірювання центральної товщини сітківки й центрального об'єму сітківки методом оптичної когерентної томографії (протокол Cross-Line і EMM5: вимірювання найменшої товщини й об'єму сітківки в проекції фовеа в режимі Cross Line).

Діагноз ДР встановлювали при відповідності захворювання наступним критеріям: наявність ЦД2, факторів ризику виникнення діабетичної ангіопатії (артеріальна гіпертензія, гіперліпідемія, підвищений індекс маси тіла) та об'єктивно виявлених змін на очному дні (за даними офтальмоскопії, флюоресцентної ангіографії та комп'ютерної томографії).

Вираженість ДР оцінювали за шкалою ETDRS [3]. При цьому враховували загальну кількість балів, набрану кожним окремим пацієнтом. Відповідно до чинної класифікації [8] і залежно від кількості нарахованих балів у досліджених пацієнтів виявлені наступні стадії ДР: ДР без змін на очному дні (немає ДР, рівень тяжкості 10); легка й помірна стадії НПДР; виражена стадія ПДР.

Статистичний аналіз результатів клінічних досліджень проводили за допомогою пакета програм MedStat (Лях Ю.Є., Гур'янов В.Г., 2004–2012), MedCalc v. 17.6 (MedCalc Software bvba, 1993–2017) і пакета побудови й аналізу нейронних мереж Statistica Neural Networks v.4.0 B (StatSoft Inc., 1999).

Для проведення точкової оцінки кількісних показників величин розраховувалися середнє арифметичне ознаки (\bar{x}) або її медіана (Me) і відповідна стандартна похибка (m). Для якісних характеристик використовували показник частоти ознаки (%) і його стандартну похибку (m %). При аналізі міжгрупових розбіжностей у випадку двох груп застосовували критерій Стьюдента (для нормального закону розподілу кількісних характеристик), критерій Віл-

коксона (у випадку відмінності закону розподілу від нормального), метод кутового перетворення Фішера (у випадку порівняння частоти якісних ознак). У всіх випадках відмінність вважалася статистично значущою при $p < 0,05$.

Для виявлення зв'язку між ознаками застосовували кореляційний аналіз: розраховували коефіцієнт кореляції Пірсона R (у випадку нормального закону розподілу) або показник рангової кореляції Спірмена (у випадку відмінності закону розподілу від нормального).

Кількісна оцінка величини ефекту для якісних ознак проводилася за показником співвідношення шансів (Odds Ratio), для узагальнення отриманих результатів розраховувався також 95% довірчий інтервал (95% ДІ; 95% Confidence Interval).

Для аналізу факторів, пов'язаних з ризиками розвитку патологічних процесів, були залучені методи побудови математичних моделей: моделей множинної регресії, однофакторних і багатофакторних моделей логістичної регресії. Для побудови й аналізу нелінійних моделей використані методи нейронного моделювання. Визначення факторних ознак, пов'язаних з прогнозованим ризиком, проводилося з використанням методу покрокового відкидання (Backward).

Для оцінки адекватності моделей використовувався метод аналізу кривих операційних характеристик (ROC — Receiver Operating Characteristic curve analysis), при цьому розраховувалася площа під ROC-кривою (AUC — Area under the ROC curve). Модель вважалася адекватною при статистично значущій відмінності величини AUC від 0,5. Метод аналізу ROC-кривих було використано для вибору оптимального порогу тестів (математичних моделей). Для оцінки прогностичних характеристик моделей розраховувалися їх чутливість, специфічність, прогностичність позитивного й негативного результату тестів і відповідні 95% ДІ.

Результати та обговорення

За результатами проведених нами офтальмологічних, клінічних і лабораторних обстежень було встановлено, що ДР без змін на очному дні визначена в 38 пацієнтів (38 %, 38 очей); середній вік становив $67,9 \pm 1,5$ року. У досліджених осіб встановлена тенденція ($p > 0,05$) до зростання внутрішньоочного тиску, товщини в центральній зоні й об'єму макулярної сітківки при збільшенні тривалості ЦД2. Також у пацієнтів із ДР без змін на очному дні виявлено протромбогенний фенотип Тц, для якого характерна домінуюча активність GРVI-рецепторів (1-й кластер) чи α_2 -адренорецепторів (2-й кластер). Нами було доведено, що зростання концентрації катехоламінів і/або експозиції колагену в пацієнтів із ЦД2 було фактором ризику тромбозу й порушення мікроциркуляції сітківки. Вивчення механізмів тромбозу також продемонструвало, що послідовне введення в суспензію Тц адреналіну і ФАТ у субпорогових концентраціях супроводжувалося зростанням агрегації, яке

перевищувало ізольований ефект кожного агоніста ($p < 0,001$). Тим самим уперше встановлена можливість посилення протромбогенної активності Тц у ситуації, коли присутні два патогенетичних фактора ЦД — активація симпатoadреналової системи (САС) і запалення. У контексті визначення ролі запалення в розвитку ДР було встановлено, що рівень прозапального цитокіну ІЛ-1 β у сироватці крові варіював залежно від адренореактивності організму; більше того, наявність високої кореляції ($r = 0,805$; $p < 0,001$) між значеннями адреналін-індукованої АТц і рівнем цитокіну ІЛ-1 β свідчила про зв'язок між адренореактивністю організму й системною запальною реакцією. Виявлений кореляційний зв'язок ($r = 0,604$; $p < 0,01$) між рівнем ІЛ-1 β у сироватці крові і ФАТ-індукованою агрегацією підтверджував участь Тц у розвитку запалення шляхом формування тромбоцитарно-лейкоцитарних агрегатів і значущість ФАТ у тесті з Тц для експрес-моніторингу запалення в пацієнтів із ДР і ЦД2.

Легка стадія НПДР (2-га група) була визначена в 19 пацієнтів (19 %, 19 очей), середній вік — $69,7 \pm 2,1$ року. Зіставлення результатів дослідження пацієнтів з легкою стадією НПДР (2-га група) і ДР без змін на очному дні (1-ша група) не виявило статистично значущої різниці основних показників функціонального й морфологічного стану ока. При порівнянні підгрупи без діабетичного макулярного набряку виявлялися зміни, які підтверджували прогресування ДР; зокрема, товщина в центральній зоні й об'єм макулярної сітківки в пацієнтів 2-ї групи були більше ($p < 0,001$), ніж у пацієнтів 1-ї групи. Виявлений протромбогенний (гіперадренореактивний) фенотип Тц характеризувався 3-м і 4-м кластерами функціонального стану рецепторів, які відрізнялися за ступенем індукуючого впливу колагену.

Помірна стадія НПДР (3-тя група) була визначена у 12 пацієнтів (12 %, 12 очей), середній вік — $67,2 \pm 2,2$ року. Зіставлення морфофункціонального стану ока в пацієнтів з легкою і помірною стадіями НПДР виявило зниження корегованої гостроти зору ($p = 0,004$), зростання товщини центральної зони сітківки ($p = 0,019$) і об'єму макулярної сітківки ($p = 0,009$) при прогресуванні ДР. У 3-й групі була гіперреактивність Тц (АТц > 55 %) стосовно чотирьох агоністів: адреналіну, ангіотензину-2, колагену і ФАТ. Однак провідним фактором індукції агрегації був адреналін, стосовно якого ефект колагену, ангіотензину-2, АДФ і ФАТ був менше ($p < 0,01$). Отже, при прогресуванні НПДР зберігався протромбогенний (гіперадренореактивний) фенотип Тц. 5-й кластер рецепторів відбивав зростання активності РАС, а 6-й кластер — запалення. Наведені факти, на нашу думку, відображали зростання реактивності Тц за рахунок активації САС і РАС і формування лейкоцитарно-тромбоцитарних агрегатів при реалізації запалення.

ПДР (4-та група) була діагностована в 31 пацієнта (31 %, 31 око), середній вік становив $61,2 \pm 2,4$ року. У цього контингенту пацієнтів при даному об'ємі дослідження не була виявлена залежність морфофунк-

ціонального стану ока від тривалості ЦД2 і стадії компенсації захворювання. Встановлено статистично значуще зниження максимально корегованої гостроти зору, зростання товщини й об'єму макулярної сітківки ($p < 0,05$) порівняно з відповідними показниками пацієнтів із НПДР. Нами було виявлено, що в пацієнтів із ПДР був наявний протромбогенний (ангіотензин-реактивний) фенотип, який характеризується 7-м і 8-м кластерами функціонального стану рецепторів. У 7-му кластері реактивність Тц стосовно ФАТ перевищувала таку у 8-му кластері ($p < 0,001$), тоді як у 8-му кластері реакція Тц на АДФ була більше, ніж у 7-му кластері ($p < 0,001$). Для визначення провідних детермінант розвитку стадій ДР проведено математичний аналіз з використанням методів побудови багатофакторних нейромережових і логістичних регресійних моделей. Прогнозування стадії ДР у двофакторній лінійній нейромережовій моделі ґрунтувалося на АТц, індукованій АДФ (X1) і колагеном (X2) *in vitro*, тобто на аналізі проагрегантного статусу Тц; точність прогнозу становила 81,8 % (95% ДІ 73,5–88,8 %).

Для виявлення наявності більш складних нелінійних зв'язків між основними агоністами агрегації Тц і стадією ДР нами була зроблена спроба створити нелінійну нейромережову модель. Завдання було виконане на тих же цифрових даних дослідження пацієнтів із ДР після відбору найбільш значущих ознак, такими були визнані 4 факторні ознаки: стимулюючий вплив ангіотензину-2, АДФ, адреналіну й колагену на Тц *in vitro*. На цих чотирьох ознаках була побудована нейромережова модель (типу багат шаровий перцептрон — MLP) з одним прихованим шаром (2 нейрони в прихованому шарі), архітектура якої подана на рис. 1.

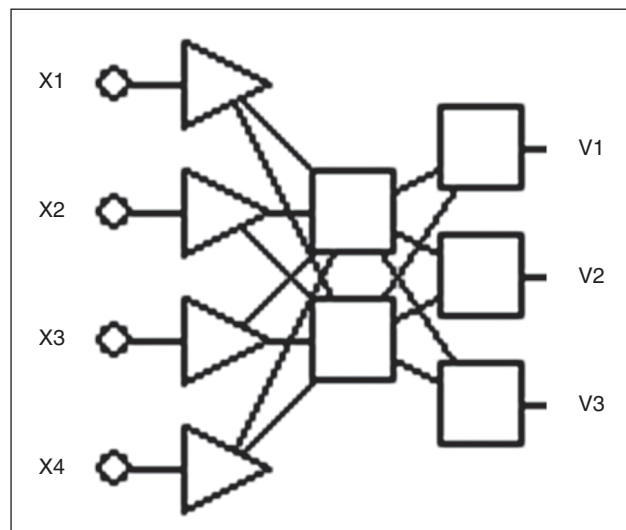


Рисунок 1. Архітектура чотирифакторної нелінійної нейромережової MLP моделі (з одним прихованим шаром) прогнозування стадії ДР. X1, X2, X3, X4 — АТц, що індукована, відповідно, ангіотензином-2 (1,0 мкМ), АДФ (2,5 мкМ), адреналіном (2,5 мкМ) і колагеном (1,0 мг/мл). Значення вихідних ознак V1, V2, V3 можуть бути інтерпретовані як імовірність ДР без змін на очному дні, НПДР і ПДР відповідно

Висновки

1. У пацієнтів із ДР уперше встановлено підвищення функціональної активності GPVI-рецепторів до колагену, $\alpha 2$ -адрено- і АТ1-рецепторів, пуринових (P2Y1 P2Y12) і ФАТ-рецепторів тромбоцитів, що проявлялося різними фенотипами й кластерами рецепторів. Даний феномен відображав індивідуальну реактивність пацієнтів стосовно впливу патогенетичних факторів ЦД (експозиції колагену стінки судин, активації симпатoadреналової і ренін-ангіотензинової систем, автокринної стимуляції тромбоцитів і розвитку запалення) на тромбогенез.

2. Встановлено збільшення вмісту прозапально-го цитокіну ІЛ-1 β у сироватці крові пацієнтів із ЦД2 без змін на очному дні у два рази ($p < 0,001$) порівняно з контролем. Висока кореляція значень адреналін- ($r = 0,805$; $p < 0,001$) і ФАТ-індукованої ($r = 0,604$; $p < 0,01$) агрегації тромбоцитів з рівнем ІЛ-1 β свідчила про зв'язок між реактивністю Тц і системною запальною реакцією.

3. На підставі отриманих результатів дослідження вперше була розроблена й впроваджена в практику нейромережева модель прогнозування стадій ДР. Лінійна модель прогнозування стадій захворювання заснована на аналізі двох факторних ознак — агрегації тромбоцитів, що індукована колагеном і АДФ; точність прогнозу становила 81,8 % (95% ДІ 73,5–88,8 %).

Конфлікт інтересів. Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів і власної фінансової зацікавленості при підготовці даної статті.

Список літератури

1. Baxter M., Hudson R., Mahon J., Bartlett C., Samyshkin Y., Alexiou D. et al. Estimating the impact of better management of glycaemic control in adults with Type 1 and Type 2 diabetes on the number of clinical complications and the associated financial benefit. *Diabetic medicine*. 2016. 33. 1575–81.
2. Buch A., Kaur S., Nair R., Jain A. Platelet volume indices as predictive biomarkers for diabetic complications in type 2 diabetic patients. *JLab. Physicians*. 2017. 9. 84–8. doi: 10.4103/0974-2727.199625.
3. Chew E.Y., Klein M.L., Ferris F.L. Association of elevated serum lipid levels with retinal hard exudate in diabetic retinopathy. *Early treatment diabetic retinopathy study (ETDRS) Report 22*. *Arch. Ophthalmol*. 1996. 114(9). 1079–084.
4. Гудзь А.С., Максимців М.Л. Дослідження тромбоцитів *in vitro*: пошук лабораторних показників прогресування непроліферативної діабетичної ретинопатії. *Архів офтальмології України*. 2017. 5(1). 21–7.
5. Гудзь А.С., Могілевський С.Ю., Максимців М.Л. Функціональний стан тромбоцитів у хворих на цукровий діабет II типу при відсутності діабетичних змін на очному дні. *Офтальмологічний журнал*. 2017. 1. 10–4.
6. Jehanzeb M., Khan N.U., Hussain M., Subrina J., Ayub S., Mustafa A. Association of candidate genes (ALR2, RAGE, and VEGF) polymorphisms with diabetic retinopathy in type 2 diabetic patients of Khyber Pakhtunkhwa, Pakistan. *Mol. Biol. Rep*. 2022. doi: 10.1007/s11033-022-08057-x.

7. Ji S.F., Ning X.N., Zhang J. Neutrophil to lymphocyte ratio for diagnosis of diabetic retinopathy: a meta-analysis. *Ophthalmol. China*. 2018. 27. 442–6.

8. Kohner E.M. Diabetic retinopathy: preventing blindness in the 1990's. *Diabetologia*. 1991. 34(11). 844–5.

9. Li S., Cao W., Sun X. Role of platelet parameters on neovascular glaucoma. A retrospective case — control study in China. *PLoS ONE*. 2016. 11. e166893.

10. Могілевський С.Ю., Панченко Ю.О., Зяблицев С.В. Роль порушень реактивності тромбоцитів в прогресуванні діабетичної макулопатії та виникненні діабетичного макулярного набряку при цукровому діабеті 2 типу. *Вісник проблем біології і медицини*. 2018. 4(1). 107–11.

11. Müberra A., Yasemin U.B., Kagan H. The association of hematologic inflammatory markers with atherogenic index in type 2 diabetic retinopathy patients. *Clin. Ophthalmol*. 2016. 10. 1797–1801. doi: 10.2147/OPTH.S110749.

12. Ogurtsova K., Rocha Fernandes J.D., Huang Y., Cavan D., Shaw J.E., Makaroff L.E. IDF diabetes atlas: Global estimates for the prevalence of diabetes for 2015 and 2040. *Diabetes research and clinical practice*. 2017. 128. 40–50.

13. Panchenko I. Role of platelet reactivity disorders in development of diabetic macular edema in non-proliferative diabetic retinopathy. *European Society of Ophthalmology*. 2019 June 13–16. Nice, France; 2019. P. 151.

14. Sabanayagam C., Banu R., Chee M.L. et al. Incidence and progression of diabetic retinopathy: a systematic review. *Lancet diabetes endocrinology*. 2019. 7. 140–9. doi:10.1016/S2213-8587(18)30128-1.

15. ShuaiFei Ji, Jie Zhang, XiuDe Fan, XiQiang Wang, XiaoNa Ning, BaBo Zhang et al. The relationship between mean platelet volume and diabetic retinopathy: a systematic review and meta-analysis. *Diabetology & Metabolic Syndrome*. 2019. 11. 25. doi: 10.1186/s13098-019-0420-3.

16. Silambarasan M., Tan J.R., Karolina D.S. MicroRNAs in hyperglycemia induced endothelial cell dysfunction. *Int. J. Mol. Sci*. 2016. 17(4). 518.

17. Tangjai P., Chingchana P., Taweerutchana R. Glycated haemoglobin and diabeticretinopathyin type 2 diabetic patients in HRH Princess Maha Chakri Sirindhorn medical center. *J. Med. Assoc. Thai*. 2015. 98(10). 135–42.

18. Voigt M., Schmidt S., Lehmann T., Köhler B., Kloos C., Voigt U. et al. Prevalence and Progression rate of diabetic retinopathy in type 2 diabetes patients in correlation with the duration of diabetes. *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes*. 2018. 126(9). 570–576. doi: 10.1055/s-0043-120570.

19. Wang X.L., Cai F.R., Gao Y.X., Zhang J., Zhang M. Changes and significance of retinal blood oxygen saturation and oxidative stress indexes in patients with diabetic retinopathy. *World J. Diabetes*. 2022. 13(5). 408–16. doi: 10.4239/wjd.v13.i5.408.

20. Zabadi H., Taha I., Zagha R.J. Clinical and molecular characteristics of diabetic retinopathy and its severity complications among diabetic patients: a multicenter cross-sectional study. *Clin. Med*. 2022. 11(14). 3945. doi: 10.3390/jcm11143945.

21. Zhou X.Y., Liu Q., Bai H.L., Liang L. Clinical significance of mean platelet volume and neutrophil-to-lymphocyte ratio in patients with diabetic retinopathy. *Int. Eye Sci*. 2016. 16. 981–3.

Отримано/Received 14.11.2022

Рецензовано/Revised 29.11.2022

Прийнято до друку/Accepted 02.12.2022 ■

A.S. Hudz¹, M.L. Maksimtsiv¹, S.Yu. Mogilevskyy², Yu.O. Panchenko², O.V. Bushueva¹, G.E. Zakharevych¹

¹ Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Lviv, Ukraine

² Shupyk National Healthcare University of Ukraine, Kyiv, Ukraine

The role of platelet function disorders in the development of diabetic retinopathy in type 2 diabetes: a final report

Abstract. Background. To date, all the factors that determine the speed and nature of the development and progression of diabetic retinopathy (DR) in type 2 diabetes mellitus (T2DM) have not been fully established. The development of informative methods to diagnose and predict the course of intraretinal microcirculation disorders in DR is relevant. Platelets are considered an important factor in the development of retinal hemorrhages in diabetes. Purpose: to investigate the role of platelet function disorders in the development of diabetic retinopathy in type 2 diabetes. **Materials and methods.** Observation involved 100 patients (100 eyes) with T2DM and various stages of DR. Examination was carried out at the time of the patient's application for specialized medical care before the start of treatment. The following agonists (aggregation inducers) were used in the study: adenosine diphosphate (ADP); adrenalin; collagen; angiotensin II; platelet-activating factor (PAT). Statistical analysis was performed using the MedStat, MedCalc v. 17 and the package for building and analyzing neural network models Statistica Neural Networks v. 4.0B. **Results.** The research has found that in patients with DR, platelet response to agonists such as adrenaline, collagen, angiotensin II, PAT, and ADP changes ambiguously, which is due to the presence of different clusters of receptor functional activity. In patients with non-proliferative DR, a prothrombogenic (hyperadrenoreactive) phenotype of platelets was found, which can create conditions for the progression of the disease under the influence of collagen, angiotensin II and PAT. In patients with proliferative DR, the progression of hemorrhages, the development of inflammation, and neovascularization occur with the participation

of prothrombogenic (hyperangiotensin) phenotype of platelets, which is characterized by a high response to ADP and PAT. Based on the obtained data, a neural network model for predicting the development of DR stages was developed and put into practice.

Conclusions. 1. An increase in the functional activity of glycoprotein VI receptors to collagen, α_2 adrenergic and angiotensin I receptors, purinergic (P2Y1 P2Y12) and PAT receptors of platelets was detected for the first time in patients with DR, it manifested by different phenotypes and receptor clusters. This phenomenon reflected the individual reactivity of patients to the influence of pathogenetic factors of DM (exposure of vascular wall collagen, activation of the sympathoadrenal and renin-angiotensin systems, autocrine stimulation of platelets and the development of inflammation) on thrombogenesis. 2. A two-fold increase was found in the serum content of the pro-inflammatory cytokine interleukin-1 β without changes in the fundus ($p < 0.001$) in patients with T2DM compared to controls. A high correlation of adrenaline- ($r = 0.805$; $p < 0.001$) and PAT-induced ($r = 0.604$; $p < 0.01$) platelet aggregation with the level of interleukin-1 β testified to the relationship between platelet reactivity and systemic inflammatory response. 3. Based on the research results, a neural network model for predicting the stages of DR was developed and put into practice for the first time. The linear model for predicting disease stages is based on the analysis of two factors: platelet aggregation induced by collagen, and ADP; the prediction accuracy was 81.8 % (95% CI 73.5–88.8 %).

Keywords: diabetic retinopathy; type 2 diabetes; disorders of platelet aggregation; prediction