

УДК 617.736-002-02:616.379-008.64:616-036.65:616.089-07.576

Значення поліморфізму rs1800629 гена TNF α у виникненні рецидивів діабетичної макулопатії після хірургічного лікування у хворих на цукровий діабет II типу

Ю. О. Панченко, канд. мед. наук, лікар

Київська міська клінічна
офтальмологічна лікарня
«Центр мікрохірургії ока»;
Київ (Україна)

Медичний центр «ЛАЗЕР Плюс»;
Львів (Україна)

E-mail: panchenko0802@gmail.com

Вступ. Значення фактору некрозу пухлин-альфа (TNF α) для розвитку цукрового діабету II типу (ЦД II) полягає в індуванні інсулінорезистентності. Промоторний поліморфізм rs1800629 (-308G/A) гена TNF α має асоціацію з ЦД II та його ускладненнями, зокрема, – діабетичною ретинопатією (ДР) та діабетичною макулопатією (ДМП), оскільки сприяє експресії гена TNF α .

Мета: дослідити значення поліморфізму rs1800629 гена TNF α у виникненні рецидивів діабетичної макулопатії після хірургічного лікування у хворих на цукровий діабет II типу в українській етнічній групі.

Матеріал і методи. У дослідження залучено 313 хворих на ЦД II (313 очей) з української етнічної групи з ДМП при початковій (n=40), помірній або тяжкій непроліферативній (n=92) та проліферативній ДР (n=181). Усім хворим виконували закрити субтотальну вітректомію (ЗСВ) (n=78), ЗСВ з пілінгом внутрішньої пограничної мембрани (ВПМ) (n=85), ЗСВ з пілінгом ВПМ та етапом панретинальної лазеркоагуляції (ПРЛК) (n=81), ЗСВ з пілінгом ВПМ, етапом ПРЛК та факоемульсифікацією катаракти (ФЕК) (n=69). Рівень TNF α визначали у крові до початку хірургічного лікування імуноферментним методом, поліморфізм rs1800629 – методом полімеразної ланцюгової реакції. Для статистичної обробки даних застосовували програму Statistica 10 (StatSoft, Inc., USA).

Результати. У хворих з ДМП поліморфізм rs1800629 гена TNF α був пов'язаний з її розвитком і рецидивами після хірургічного лікування: у 96,9% носіїв генотипу A/A розвивалися рецидиви ДМП; у носіїв гетерозиготи G/A ризик рецидиву був підвищений (ВШ 3,76; 95% ВІ 2,27-6,27), тоді як предкова гомозигота G/G такий ризик зменшувала (ВШ 0,02; 95% ВІ 0,01-0,06). Носійство алелі А асоційоване з макулярним набряком: центральна товщина сітківки у носіїв алелі А була більшою як до, так і після лікування, а протягом спостереження – не знижувалася.

Висновки. Встановлено, що фактором, який сприяє рецидивам ДМП після хірургічного лікування, був високий вміст у крові TNF α у носіїв ризикової мінорної алелі А поліморфізму rs1800629 гена TNF α .

Ключові слова:

діабетична макулопатія, цукровий діабет II типу, хірургічне лікування, рецидиви, TNF α , rs1800629

Актуальність. Одним з основних ускладнень при цукровому діабеті II типу (ЦД II) є ураження органа зору, зокрема – діабетична ретинопатія (ДР) та діабетична макулопатія (ДМП) [1-3]. Причому, ДМП розвивається не у всіх випадках ДР: частота ДМП збільшується відповідно до тяжкості ДР. Так, при непроліферативній ДР (НПДР) розвиток ДМП відбувається у 3-38% пацієнтів, при препроліферативній – у 20-63%, а при проліферативній ДР (ПДР) – у понад 70%.

Із літератури відомо значення прозапальних цитокінів і, особливо, фактора некрозу пухлин-альфа (TNF α) для формування інсулінорезистентності [4]. Молекулярною основою цього ефекту є роль TNF α у передачі сигналу з інсулінового рецептора, а саме – гальмування фосфорилування субстрату інсулінового рецептора (IRS-1) і, відповідно, фосфорилування тирозину, що запобігає подальшій активації шляхів PI3K/Akt- і Erk/MAP-кіназ та поглинанню глюкози [5, 6]. Отже, пере-

хід IRS-1 в неактивний стан під дією TNF α є одним з механізмів розвитку інсулінорезистентності [7]. Крім того, за допомогою комп'ютерного аналізу мережі внутрішньоклітинних білків-посередників TNF α було визначено три нових білка – BIRC2, BIRC3 і RIPK1, які через свої асоціації активують інші сигнальні шляхи: рецепторів TNF, NF κ B, Toll-подібного рецептору, апоптозу, а, отже, також мають вплив на розвиток інсулінорезистентності [8].

Генетичні фактори, зокрема – поліморфний стан генів – відіграють роль чинників, що сприяють виникненню ЦД II та його ускладнень [8-13]. Так, мета-аналізом, проведеним у китайській популяції Хан, до якого увійшло 10 досліджень (1425 хворих на ЦД II та 1116 контрольних), була встановлена асоціація мінорної алелі А поліморфізму rs1800629 гена TNF α

(ВШ=1,63; 95 % ВІ 1,17-2,25) та генотипів за домінантною моделлю успадкування (ВШ=1,47; 95 % ВІ 1,17-1,85) [9]. У бразильському дослідженні (745 хворих на ЦД II, у тому числі – 331 особа без ДР, 246 – з НПДР і 168 – з ПДР) показано, що частота алелі А поліморфізму rs1800629 гена TNF α була суттєво вище у хворих з ПДР, ніж в інших групах хворих ($p=0,035$), та мала асоціацію з її розвитком за домінантною моделлю успадкування (ВШ=1,82; 95% ВІ 1,11-2,98) [10]. У індійських дослідженнях встановлена асоціація поліморфізму rs1800629 гена TNF α з розвитком ЦД II та його ускладненнями, що супроводжувалось приростом рівнів у крові TNF α , IL-6 і хемокину SDF-1 [11, 12].

Системний огляд публікацій з 2000 по 2016 роки, зроблений G.I. Luna та співав. (2016), привернув увагу до суперечливості результатів визначення асоціації поліморфізму rs1800629 гена TNF α з ЦД II у різних популяціях, що, на думку авторів, пов'язане з їх етнічними відмінностями, та обґрунтувало необхідність проведення таких досліджень у кожній популяції окремо [13].

Таким чином, наведені дані вказували на асоціацію промоторного поліморфізму rs1800629 (-308G/A) гена TNF α з ЦД II та його ускладненнями, зокрема, – ДР та ДМП, і свідчили про необхідність вивчення можливого зв'язку цього поліморфізму з виникненням рецидивів ДМП після хірургічного лікування у хворих з ЦД II з української етнічної групи.

Мета: дослідити значення поліморфізму rs1800629 гена TNF α у виникненні рецидивів діабетичної макулопатії після хірургічного лікування у хворих на цукровий діабет II типу в українській етнічній групі.

Матеріал та методи

Під спостереженням перебували 313 хворих на ЦД II (313 очей) з ДМП та початковою (1 група; $n=40$), помірною або тяжкою НПДР (2 група; $n=92$) та ПДР (3 група; $n=181$). У якості контролю було залучено 95 осіб відповідної статі та віку без патології зору. Пацієнти не мали між собою родинних зв'язків та були етнічними українцями.

Усім хворим проведено загальноприйнятті офтальмологічні дослідження, що включали візометрію, статичну периметрію Humphrey, рефрактометрію, тонометрію, біомікроскопію, гоніоскопію, офтальмоскопію за допомогою асферичної лінзи Volk SuperField (NC USA) і контактної тридзеркальної лінзи Гольдмана. Хворим виконували спектрально-доменну оптичну когерентну томографію (ОКТ) на приладі Optopoltechnology, SOCT, Copernicus REVO (протокол Retina3D, RetinaRaster) і ОКТ в режимі «Ангіо» (протокол RetinaAngio, wide 6x6 mm). Також проводили дослідження очного дна на фундус-камері з його фотографуванням в 7 стандартних полях відповідно до модифікованої ETDRS системи клінічних ознак AirleHouse.

Рівень тяжкості ДР і ДМП встановлювали відповідно з Інтернаціональною клінічною шкалою тяжко-

сті діабетичної ретинопатії і діабетичної макулопатії (Американська академія офтальмології (2002 р.)) [3].

Показами для проведення хірургічного втручання були прогресуюче зниження гостроти зору, зміни поля зору в центральних і парацентральных відділах, зміни якості зору на тлі НПДР з рефрактерним макулярним набряком або макулярним набряком з наявністю тангенціальних тракцій, які з'явилися внаслідок неповного відшарування задньої гіалоїдної мембрани скловидного тіла, а також ПДР з рефрактерним макулярним набряком, наявністю епіретинальних мембран та тангенціальних та осевих тракцій сітківки із загрозою тракційного відшарування сітківки, а також з наявністю гемофтальма, преретинальних та субгілоїдальних крововиливів [14].

Усім хворим виконували закрити субтотальну вітректомію (ЗСВ) ($n=78$), ЗСВ з пілінгом внутрішньої пограничної мембрани (ВПМ) ($n=85$), ЗСВ з пілінгом ВПМ та етапом панретинальної лазеркоагуляції (ПРЛК) ($n=81$), ЗСВ з пілінгом ВПМ та етапом ПРЛК і факоемульсифікацією катаракти (ФЕК) ($n=69$).

Усіх хворих обстежували через 1, 3, 6 місяців і 1 рік після операції.

До початку хірургічного лікування у крові хворих імуноферментним методом визначали вміст TNF α (реактиви Bender Medsystems, Австрія). Інтенсивність забарвлення продукту ферментативної реакції кількісно вимірювали на фотометрі Multiscan EX, Thermo Electron Corp. (Фінляндія).

Аналіз поліморфізму rs1800629 гена TNF α (SNP у промоторному регіоні -308G/A; генна локалізація 6p21.33) проведено методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) у реальному часі (контекстна послідовність GAGGCAATAGGTTTTGAGGGGCATG[A/G] GGACGGGGTTCAGCCTCCAGGGTCC) в автоматичному ампліфікаторі Gene Amp® PCR System 7500 (Applied Biosystems, США). На першому етапі дослідження проводили виділення геномної ДНК з цільної венозної крові з використанням стандартних реактивів PureLink® Genomic DNA Kit For Purification of Genomic DNA; виробник INVITROGEN (США). Аналіз поліморфізму здійснено за допомогою уніфікованих тест-систем TaqMan Mutation Detection Assays Life-Technology (США).

Усі процедури виконували відповідно до етичних стандартів Гельсінкської декларації (1964 р. з поправками) та з дозволу Комітету з біоетики НМАПО імені П.Л. Шупіка. Усі пацієнти дали інформовану згоду на участь у дослідженні.

Визначали частоту рецидивів ДМП після різних видів хірургічного лікування та їх зв'язок з поліморфізмом rs1800629 гена TNF α .

Для статистичної обробки отриманих даних використовували програму Statistica 10 (StatSoft, Inc., USA). Після проведення тестів Колмогорова-Смірнова, Андерсона-Дарлінга і χ -квадрат був встановлений відмінний від нормального характер розподілу варіа-

ційних рядів ($p < 0,05$), відповідно, для описової статистики кількісних даних використовували медіану (Me) та перший і третій квартилі (Q1; Q3). Незалежні вибірки порівнювали із застосуванням критеріїв Kruskal-Wallis (H) і Mann-Whitney (U). Для порівняння категоріальних змінних використовували таблиці сполучення і непараметричні критерії ксі-квадрат (χ^2) Пірсона у модифікації Йейтса. У всіх випадках статистичного оцінювання значущість відмінностей враховували при значенні $p < 0,05$.

Результати

На першому етапі був проаналізований розподіл генотипів і алелей у всіх хворих на ДМП, що увійшли до цього дослідження, в порівнянні з контрольною групою (рис. 1).

У групі хворих було відмічено значуще зменшення частоти предкового гомозиготного генотипу G/G (у 1,3 рази; $p = 0,005$) у порівнянні з контролем. Збільшення частот гетерозиготного генотипу G/A та мінорного генотипу A/A (у 1,4 та 2,4 рази, відповідно) у порівнянні з контролем було статистично не значущим ($p = 0,068$ та $0,096$, відповідно). Також у хворих відмічено статистично значуще зменшення частоти предкової алелі G (у 1,16 рази; $p = 0,002$) та збільшення частоти мінорної алелі A (у 1,61 рази; $p = 0,002$) у порівнянні з контролем.

Отже, розподіл частот генотипу G/G і обох алелей rs1800629 у хворих з ДМП та контрольної групи значуще відрізнявся. Виходячи з цього, було розраховано вплив розподілу частот генотипів та алелей на розвиток ДМП і ступінь їх асоціації з захворюванням. Це відображає табл. 1. Тест Харді-Вайнберга для контролів та випадків відповідав випадковому характеру успадкування генотипів (відповідно, $\chi^2 = 0,28$; $df = 1$; $p = 0,597$ та $\chi^2 = 1,40$; $df = 1$; $p = 0,237$).

Аналіз впливу генотипів за загальною моделлю успадкування (таблиця спряженості 3×3) показав наявність зв'язку з ДМП ($\chi^2 = 8,87$; $p = 0,0012$). При цьому мінорний генотип A/A у 2,6 рази збільшував шанси розвитку ДМП (ВШ=2,59; 95% ВІ 0,89-7,52). Гетерозигота (G/A) також збільшувала

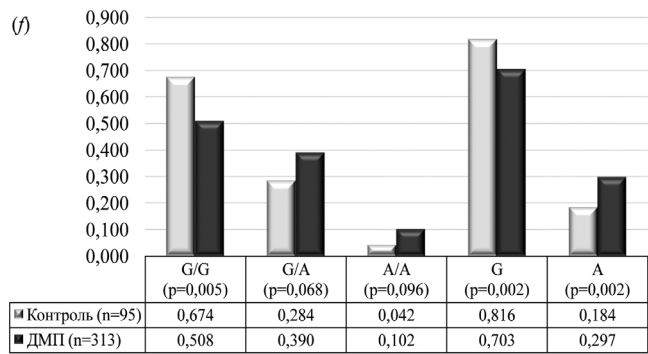


Рис. 1. Розподіл частот генотипів і алелей (f) rs1800629 гена TNF α між контрольною групою і всіма хворими з ДМП; p – статистична значущість розбіжностей частот показників між групами за двостороннім точним методом Фішера; на рисунку: за вертикальною віссю – частоти (f), за горизонтальною – генотипи (загальна модель успадкування) і алелі (мультиплікативна модель успадкування)

шанси розвитку ДМП (ВШ=1,61; 95% ВІ 0,98-2,65). Таким чином, і дикий генотип, і гетерозигота поліморфізму rs1800629 гена TNF α були генотипами ризику. Предковий генотип G/G у 2,0 рази зменшував шанси розвитку ДМП (ВШ=0,50; 95% ВІ 0,31-0,81), а, отже, міг вважатися протективним.

Порівняння частот алелей за мультиплікативною моделлю успадкування (таблиця спряженості 2×2) показало наявність асоціації з розвитком ДМП ($\chi^2 = 9,40$; $p = 0,002$). Мінорна алель A у 1,9 рази збільшувала шанси розвитку ДМП (ВШ=1,87; 95% ВІ 1,25-2,81), тоді як предкова алель G такі шанси у 1,9 рази зменшувала (ВШ=0,53; 95% ВІ 0,36-0,80).

Порівняння домінантної та рецесивної моделей успадкування показало, що розподіл генотипів за домінантною моделлю (G/G проти G/A+A/A) мав статистичну значущість за критерієм χ^2 Пірсона ($\chi^2 = 8,05$; $p = 0,004$), що підтвердило наявність асоціації rs1800629 з ДМП саме за умов наявності у генотипі мінорної алелі A: для генотипів (G/A+A/A) ВШ=2,0; 95% ВІ 1,23-3,24, що співпадало з даними літератури [9, 10].

Таблиця 1. Вплив розподілу частот rs1800629 гена TNF α на розвиток ДМП і ступінь асоціації з захворюванням

Генотипи Алелі	ДМП, n (f)	Контроль (n=95), n (f)	χ^2	p	ВШ	95% ВІ
G/G	159 (0,508)	64 (0,674)	8,87	0,012	0,50	0,31-0,81
G/A	122 (0,390)	27 (0,284)			1,61	0,98-2,65
A/A	32 (0,102)	4 (0,042)			2,59	0,89-7,52
G	440 (0,703)	155 (0,816)	9,40	0,002	0,53	0,36-0,80
A	186 (0,297)	35 (0,184)			1,87	1,25-2,81

Примітки: n – кількість; f – частота; χ^2 – критерій Пірсона; p – статистична значущість розбіжностей між групами; ВШ – відношення шансів; 95% ВІ – 95% вірогідний інтервал для ВШ

У даному дослідженні не було виявлено суттєвої різниці між частотами генотипів і алелів в залежності від застосованої технології ЗСВ, що свідчило про генетичну однорідність хворих до хірургічного втручання ($p > 0,05$).

По групах розподіл генотипів і алелів у хворих також суттєво не відрізнявся ($p = 0,975$ і $p = 0,870$, відповідно). У багатьох дослідженнях виявлено, що частота мінорного генотипу А/А і алелі А збільшувалась більш суттєво у хворих з ПДР [4, 9, 10]. Отже, наш результат у цьому сенсі міг би здаватися парадоксальним. Але необхідно враховувати, що у хворих всіх груп були покази для проведення хірургічного лікування – прогресуюче зниження гостроти зору, зміни поля зору в центральних і парацентральных відділах, зміни якості зору, рефрактерний макулярний набряк, а також гемофтальм, преретинальні та субгілоїдальні крово- виливи. Отже, без залежності від стадії ДР, усі хворі до початку лікування вже мали виражений патологічний процес, що, можливо, було пов'язане з наявністю сприятливих факторів, у тому числі, й генетичного походження. Про це опосередковано свідчить й розподіл хворих по групах – хворі з початковою НПДР (1 група) склали лише 12,8% (40 осіб), тоді як хворі з помірною або тяжкою НПДР (2 група) – 29,4% (92 особи), а хворі з ПДР (3 група) – 57,8% (181 особа). Іншими словами, у це дослідження увійшли хворі з швидким прогресуванням ДМП, яким було необхідне хірургічне лікування, що й привело до такого вимушеного відбору найгірших за клінічним перебігом варіантів ДР.

На нашу думку, такою особливістю пояснюється й високий загальний відсоток рецидивів ДМП – частота рецидивів протягом року після операції загалом складала 29,7% (93 ока), а також відсутність істотної різниці між цим показником у групах ($p = 0,18$): частота рецидивів у 1 групі складала 27,5% (11 очей), у 2 – 22,8% (21 око) і у 3 – 33,7% (61 око).

Саме такі передумови й обумовили основну задачу дослідження – визначити зв'язок поліморфізму rs1800629 гена TNFα з розвитком рецидивів ДМП після хірургічного лікування (табл. 2). Виявилось, що у хворих з рецидивами частота предкового генотипу G/G була значно нижчою, ніж у хворих без рецидивів ($p < 0,001$). При цьому, частота ризикових варіантів поліморфізму rs1800629 гена TNFα (гетерозиготи G/A і мінорної гомозиготи A/A) в умовах рецидиву була суттєво збільшена ($p < 0,001$).

Також звертав увагу дуже цікавий факт: всього серед дослідженої когорти хворих носіїв мінорного генотипу А/А було 32 (10,2%; табл. 1), і майже всі вони (31 особа; 96,9%) в післяопераційному періоді мали рецидиви ДМП. Це прямо вказувало на визначальне значення мінорного генотипу А/А поліморфізму rs1800629 гена TNFα у розвитку рецидивів ДМП. Ризик розвитку рецидивів ДМП у носіїв гетерозиготи G/A (табл. 2) був у 3,8 рази збільшений (ВШ 3,76; 95% ВІ 2,27-6,27); у носіїв проєктивної предкової гомозиготи G/G такий ризик був суттєво зменшений – у 50 разів (ВШ 0,02; 95% ВІ 0,01-0,06).

Така ж сама тенденція виявилась і при аналізі частоти генотипів за термінами спостереження: на всіх термінах частота ризикових варіантів поліморфізму rs1800629 гена TNFα була вірогідно більшою у хворих з розвитком рецидивів ДМП після хірургічного лікування, ніж без рецидивів ($p < 0,001$).

Таким чином, отримані результати прямо свідчили про важливу роль поліморфізму rs1800629 гена TNFα для формування рецидивів ДМП після хірургічного лікування незалежно від тяжкості ДР, застосованих технологій ЗСВ і термінів спостереження.

Згідно з даними літератури, у хворих на ЦД II мало місце збільшення рівня у крові TNFα, що відповідає тяжкості перебігу захворювання та його ускладнень, зокрема – ДР [11]. За нашими даними рівень у крові цитокіну до початку хірургічного лікування збільшувався в міру прогресування стадії ДР (табл. 3).

У 1 групі хворих вміст TNFα перевищував контрольний у 1,2 рази ($p = 0,005$). У 2 та 3 групах вміст цитокіну був більшим у порівнянні з контролем у 2,0 і 3,4 рази, відповідно ($p < 0,001$). Максимальний рівень TNFα був відмічений у хворих 3 групи, які мали ПДР, мінімальний – у хворих 1 групи – при початковій НПДР.

При розподілі цих показників за генотипами ситуація виглядала таким чином (табл. 4).

По-перше, необхідно зазначити, що вміст TNFα був більшим у хворих-носіїв різних генотипів, ніж у контролі у 2,4-2,6 рази ($p < 0,001$). По-друге, і в контролі, і у хворих з ДМП носії ризикового генотипу А/А і алелі А мали більший вміст TNFα у порівнянні з іншими генотипами, що набувало статистичної значущості для хворих з ДМП. При порівнянні значень у хворих за тим чи іншим генотипом різниця виявилася значущою і для генотипів ($p = 0,004$), і для алелів ($p = 0,002$).

Таблиця 2. Вплив розподілу частоти генотипів і алелів rs1800629 гена TNFα на розвиток рецидивів ДМП

Примітки: n (f) – кількість і частота; χ^2 – критерій хі-квадрат Пірсона; p – вірогідність міжгрупових порівнянь за критерієм χ^2 (приймається при $p < 0,05$)

Генотипи	Наявність рецидивів, n (f)		χ^2	p	ВШ	95% ДІ
	+	–				
G/G	5 (0,054)	154 (0,700)	139,7	<0,001	0,02	0,01-0,06
G/A	57 (0,613)	65 (0,295)			3,76	2,27-6,27
A/A	31 (0,333)	1 (0,005)			109,50	14,65-818,23

Таблиця 3. Вміст TNF α у контролі та групах хворих; Me (Q1;Q3)

Примітки: Н – міжгрупові відмінності за критерієм Kruskal-Wallis (множинні порівняння); р – вірогідність відмінностей міжгрупових порівнянь (приймається, якщо $p < 0,05$)

Маркер	Контроль, n=95	1-а, n=40	2-а, n=92	3-я, n=181
TNF α , пкг/мл	15,95 (9,95; 21,54)	19,52 (16,30; 22,61)	31,20 (25,39; 37,01)	53,99 (42,31; 66,27)
H=315,79; $p < 0,001$				

Таблиця 4. Вміст TNF α у контрольній групі та хворих на ДМП в залежності від генотипів і алелей поліморфізму rs1800629 гена TNF α

Примітки: Формат відображення даних – Me (Q1; Q3); Н; р – критерій Kruskal-Wallis і вірогідність множинних порівнянь; U; р – критерій Mann-Whitney і вірогідність парних порівнянь; вірогідність приймається при $p < 0,05$

Показники	TNF α , пкг/мл	
	Контроль	ДМП
G/G	16,03 (11,04; 21,72)	38,70 (26,05; 56,51)
G/A	16,62 (7,16; 19,9)	43,28 (29,61; 60,15)
A/A	20,77 (12,09; 25,68)	51,91 (40,11; 69,23)
H; p	2,04; 0,340	11,26; 0,004
G	16,06 (10,00; 21,55)	39,15 (27,63; 56,51)
A	16,82 (7,77; 21,42)	42,27 (33,76; 65,59)
U; p	2706; 0,681	34428; 0,002

При ДМП, крім судинних проявів, суттєве значення має макулярний набряк (ДМН), який у наших дослідженнях спостерігався при збільшенні центральної товщини сітківки (ЦТС) понад 250 мкм [15]. Було встановлено, що частота ДМН при рецидивах ДМП зростала за строками спостереження і не залежала від технології хірургічного втручання. Якщо через 1 місяць при різних методах вона коливалася від 30,4 до 53,3%, то через 3 місяці – від 73,3 до 86,7%, а через 1 рік – від 68,4 до 100,0% серед очей з рецидивом ДМП.

До операції ЦТС становила від 195 до 880 мкм і в середньому склала $358,09 \pm 6,96$ мкм. У групах хворих статистичні величини ЦТС до лікування фактично не відрізнялися, що узгоджувалося з думкою про визначальну роль клінічно значущого макулярного набряку, який розвивався у хворих до операції, призводив до зниження гостроти зору та був одним з показів для проведення хірургічного втручання [3]. Після операції у всіх групах ЦТС зменшувалася (на 113-118 мкм

і досягала нормальних значень ($p < 0,001$). Різниця між групами ні на одному терміні спостереження не виявлено ($p > 0,2$).

Також представляло певний інтерес з'ясування зв'язку між поліморфізмом rs1800629 гена TNF α і початковими значеннями ЦТС (ЦТС0) і ступенем тяжкості ДР, яку встановлювали за шкалою ETDRS (табл. 5) [16].

Значення ЦТС0 у носіїв гетерозиготи (G/A) і мінорної гомозиготи (A/A) були вищими за такі у носіїв предкової гомозиготи (G/G; $p = 0,013$), а також і у носіїв алелі А, ніж у носіїв предкової алелі G ($p = 0,003$). Кількість балів ETDRS за умов такого розподілу суттєво не відрізнялася ($p > 0,1$). Отже, носійство мінорної алелі А поліморфізму rs1800629 гена TNF α співпало з більшою ЦТС до хірургічного втручання у хворих на ДМП.

За термінами спостереження величина ЦТС (рис. 2А) була завжди вищою у носіїв мінорної гомозиготи

Таблиця 5. Вплив генотипів і алелей rs1800629 гена TNF α на показники ЦТС0 і ETDRS

Примітки: Формат відображення даних – Me (Q1; Q3); Н; р – критерій Kruskal-Wallis і вірогідність множинних порівнянь; U; р – критерій Mann-Whitney і вірогідність парних порівнянь; вірогідність приймається при $p < 0,05$

Показники	ЦТС0	Ступінь тяжкості ДР
	мкм	ETDRS, бали
G/G	315,0 (280,0; 385,0)	68,0 (38,0; 76,0)
G/A	322,5 (290,0; 420,0)	68,0 (50,0; 76,0)
A/A	356,5 (315,0; 453,0)	74,0 (60,5; 76,5)
H; p	8,64; 0,013	2,13; 0,344
G	317,5 (280,0; 392,0)	68,0 (49,0; 76,0)
A	345,0 (392,0; 431,0)	68,5 (53,0; 76,0)
U; p	34732; 0,003	38070; 0,168

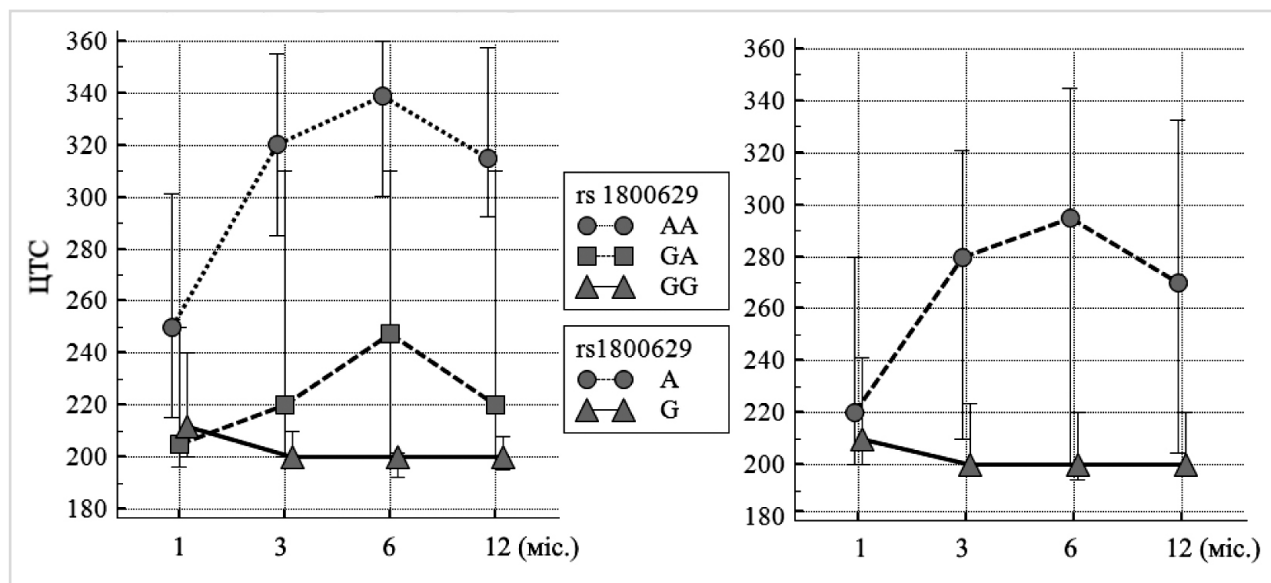


Рис. 2. Вплив генотипів і алелів rs1800629 гена TNF α на ЦТС по термінам спостереження; міжгрупові порівняння для повторних вимірювань за критерієм Фрідмана вірогідні для генотипів (А; $\chi^2=8,04$; $p<0,001$) і алелів (Б; $\chi^2=16,09$; $p<0,001$)

ти А/А ($p<0,001$). Крім того, у таких хворих медіана ЦТС в динаміці спостереження дещо збільшувалася у порівнянні з показниками першого місяця ($p<0,001$). Також і у носіїв мінорної алелі А (рис. 2Б) за термінами спостереження величина ЦТС була завжди вищою за носіїв предкової алелі G – у 1,1-1,5 рази ($p<0,001$).

Отже, при лікуванні ДМП, ЦТС була вірогідно вищою у носіїв ризикового генотипу А/А і ризикової алелі А, причому протягом спостереження у таких хворих ЦТС не знижувалася. Це підтверджувало патогенетичну роль поліморфізму rs1800629 гена TNF α у розвитку ДМН при рецидивах ДМП після хірургічного лікування.

Для доказу наявності впливу поліморфізму rs1800629 гена TNF α на рецидиви ДМП, розвиток ДМН, рівень TNF α , показники ЦТС і відповідно – на тяжкість ДР за шкалою ETDRS було побудовано серію однофакторних логістичних моделей регресії. Проведений аналіз показав, що поліморфізм rs1800629 гена TNF α мав значущий вплив на рецидиви ДМП ($p<0,001$) і розвиток ДМН ($p\leq 0,001$) за всіма строками спостереження, а також на збільшення рівня у крові TNF α ($p=0,002$) та на ЦТС до лікування ($p=0,008$) через 1 місяць ($p=0,006$) та на всіх інших термінах спостереження ($p<0,001$). Отже, такі результати доводили патогенетичний вплив цього поліморфізму на розвиток рецидивів ДМП після хірургічного лікування.

Обговорення результатів

У плані обговорення отриманих даних, можна зазначити, що виявленню зв'язку поліморфізмів генів прозапальних цитокінів (TNF α , IL-6 і IL-1 β) з ЦД II та розвитком його ускладнень присвячено низку досліджень, які об'єднані у мета-аналізі [17]. Було встановлено, що серед вивчених поліморфізмів найбільш

значний зв'язок з ЦД II та діабетичною нефропатією мав поліморфізм rs1800629 гена TNF α : для генотипу А/А ВШ=2,75 (95% ВІ 1,64-4,59; $p=0,001$) [18]. Автори пов'язували це із збільшенням експресії гену TNF α більш ніж у 4 рази ($n\text{-fold}=4,43\pm 1,11$), що супроводжувалося суттєвим збільшенням рівня у крові TNF α у хворих на ЦД II-носіїв мінорного генотипу А/А [18]. Ще в одному дослідженні було встановлено, що мінорний генотип А/А і алель А rs1800629 значно підвищували рівень у крові TNF α , що було більш виражено у хворих з ускладненнями ЦД II [19]. Отже, можна було встановити загальну патогенетичну закономірність: носійство мінорної алелі А є патогенетичним фактором розвитку як ЦД II, так і його ускладнень, що реалізувалось завдяки надлишковій експресії гену TNF α , яке призводило до надмірного синтезу цього цитокіну.

Відповідно до отриманих нами результатів, можна визначити, що поліморфізм rs1800629 гена TNF α мав зв'язок не тільки з розвитком ДМП при ЦД II, але і з розвитком її рецидивів після хірургічного лікування. Це можна пояснити більшим вмістом у крові TNF α у носіїв алелі А.

Висновки

1. В українській когорті хворих з ДР, ДМП і ЦД II розподіл генотипів і алелів rs1800629 гена TNF α був пов'язаний з розвитком захворювання ($p=0,012$ та $p=0,002$, відповідно). Генотипи, що мали мінорну алель А, підвищували ризик розвитку ДМП у 2,0 рази (за домінують моделлю успадкування ВШ=2,00; ВІ 1,23-3,24; $p=0,004$).

2. Мінорний генотип А/А поліморфізму rs1800629 гена TNF α визначав розвиток рецидивів ДМП: у 96,9% носіїв цього генотипу в післяопераційному періоді були рецидиви. У носіїв гетерозиготи G/A ризик роз-

витку рецидивів ДМП був підвищений (ВШ 3,76; 95% ВІ 2,27-6,27), тоді як у носіїв предкової гомозиготи G/G – зменшений (ВШ 0,02; 95% ВІ 0,01-0,06). Частота рецидивів ДМП не залежала від стадії ДР, технології хірургічних втручань і термінів спостереження.

3. Носійство мінорної алелі А поліморфізму rs1800629 гена TNF α було асоційоване з більшою ЦТС як до хірургічного втручання, так і протягом 1 року після: у носіїв мінорної алелі А ЦТС була завжди вищою, ніж у носіїв предкової алелі G (у 1,1-1,5 рази; $p < 0,001$), причому протягом спостереження у носіїв алелі А показник ЦТС не знижувався.

4. Отримані нами результати та аналіз даних сучасної літератури дозволяє стверджувати, що патогенетичним фактором, що сприяє рецидивам ДМП після хірургічного лікування, був високий вміст у крові TNF α у носіїв ризикової мінорної алелі А поліморфізму rs1800629 гена TNF α .

Література

1. **Pankiv VI.** Diabetes mellitus: diagnostic criteria, etiology and pathogenesis. International Endocrinology Journal. 2013; 8(56):53-64.
2. Type 2 Diabetes Complications. Web-resource: <https://www.endocrineweb.com/conditions/type-2-diabetes/type-2-diabetes-complications>
3. **Balashevich LI & Izmailov AS.** [Diabetic ophthalmopathy]. Spb.: Man, 2012:396. [in Russian]
4. **Liu C, Feng X, Li Q, Wang Y, Li Q, Hua M.** Adiponectin, TNF- α and inflammatory cytokines and risk of type 2 diabetes: A systematic review and meta-analysis. Cytokine. 2016 Oct;86:100-109.
5. IRS1 – Insulin receptor substrate 1 – Homo sapiens (Human) – IRS1 gene & protein". www.uniprot.org. Retrieved 2016-04-21.
6. **Takaguri A.** [Elucidation of a new mechanism of onset of insulin resistance: effects of statins and tumor necrosis factor- α on insulin signal transduction]. Yakugaku Zasshi. 2018;138(11):1329-1334.
7. **Copps KD, White MF.** Regulation of insulin sensitivity by serine/threonine phosphorylation of insulin receptor substrate proteins IRS1 and IRS2. Diabetologia. 2012;55(10):2565-82.
8. **Jamil K, Jayaraman A, Ahmad J, Joshi S, Yerra SK.** TNF-alpha -308G/A and -238G/A polymorphisms and its protein network associated with type 2 diabetes mellitus // Saudi J Biol Sci. 2017 Sep;24(6):1195-1203.
9. **Liu ZH, Ding YL, Xiu LC, Pan HY, Liang Y, Zhong SQ, Liu WW, Rao SQ, Kong DL.** A meta-analysis of the association between TNF- α -308G>A polymorphism and type 2 diabetes mellitus in Han Chinese population. PLoS One. 2013;8(3):e59421.
10. **Sesti LF, Crispim D, Canani LH, Polina ER et al.** The -308G>A polymorphism of the TNF gene is associated with proliferative diabetic retinopathy in Caucasian Brazilians with type 2 diabetes. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2015 Jan 29;56(2):1184-90.
11. **Dhamodharan U, Viswanathan V, Krishnamoorthy E, Rajaram R, Aravindhan V.** Genetic association of IL-6, TNF- α and SDF-1 polymorphisms with serum cytokine levels in diabetic foot ulcer. Gene. 2015 Jul 1;565(1):62-7.
12. **Doody NE, Doweiko MM, Akam EC, Cox NJ, Bhatti JS, Singh P, Mastana SS.** The role of TLR4, TNF- α and IL-1 β in type 2 diabetes mellitus development within a North Indian population // Ann Hum Genet. 2017 Jul;81(4):141-146.
13. **Luna GI, da Silva IC, Sanchez MN.** Association between -308G/A TNFA Polymorphism and Susceptibility to Type 2 Diabetes Mellitus: A Systematic Review // J Diabetes Res. 2016;2016:6309484.
14. **Mogilevskyy Slu, Panchenko IuA.** [Features of diabetic maculopathy in patients with type 2 diabetes mellitus]. Arch of Ophthalmol (Ukraine). 2018;6(2 (11)): 28-32. [in Russian]
15. **Mogilevskyy Slu, Panchenko IuO, Ziabytsev SV.** Predicting the risk of diabetic retinopathy-associated macular edema in patients with type 2 diabetes mellitus. Journal of Ophthalmology (Ukraine). 2019;3(488):3-8.
16. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research design and baseline patient characteristics. ETDRS, report number 7. Ophthalmology. 1991; 98(5) Suppl.:741-56.
17. **Zhao Y, Li Z, Zhang L, Zhang Y, Yang Y, Tang Y, Fu P.** The TNF-alpha -308G/A polymorphism is associated with type 2 diabetes mellitus: an updated meta-analysis // Mol Biol Rep. 2014 Jan;41(1):73-83.
18. **Hameed I, Masoodi SR, Malik PA, Mir SA, Ghazanfar K, Ganai BA.** Genetic variations in key inflammatory cytokines exacerbates the risk of diabetic nephropathy by influencing the gene expression. Gene. 2018 Jun 30;661:51-59.
19. **Umapathy D, Krishnamoorthy E, Mariappanadar V, Viswanathan V, Ramkumar KM.** Increased levels of circulating (TNF- α) is associated with (-308G/A) promoter polymorphism of TNF- α gene in Diabetic Nephropathy. Int J Biol Macromol. 2018 Feb;107(Pt B):2113-2121.

Автори засвідчують про відсутність конфлікту інтересів, які б могли вплинути на їх думку стосовно предмету чи матеріалів, описаних та обговорених в даному рукопису.

Поступила 17.09.2019

Значение полиморфизма rs1800629 гена TNF α в возникновении рецидивов диабетической макулопатии после хирургического лечения у больных сахарным диабетом II типа

Панченко Ю. А.

Киевская городская клиническая офтальмологическая больница «Центр микрохирургии глаза»; Киев (Украина)

Медицинский центр «ЛАЗЕР Плюс»; Львов (Украина)

Актуальность. Значение фактора некроза опухолей-альфа (TNF α) для развития сахарного диабета II типа (СД II) заключается в индукции инсулинорезистентности. Промоторный полиморфизм rs1800629 (-308G/A) гена TNF α имеет ассоциацию с СД II и его осложнениями, в частности – диабетической ретинопатией (ДР) и диабетической макулопатией (ДМП), поскольку способствует экспрессии гена TNF α .

Цель: исследовать значение полиморфизма rs1800629 гена TNF α в возникновении рецидивов диабетической макулопатии после хирургического лечения у больных сахарным диабетом II типа в украинской этнической группе.

Материал и методы. В исследование было включено 313 больных СД II (313 глаз) украинской этнической группы с ДМП при начальной (n=40), умеренной или тяжелой неproлиферативной (n=92) и пролиферативной ДР (n=181). Всем больным выполняли закрытую субтотальную витрэктомию (ЗСВ) (n = 78), ЗСВ с пилингом внутренней пограничной мембраны (ВПМ) (n = 85), ЗСВ с пилингом ВПМ и этапом панретинальной лазеркоагуляции (ПРЛК) (n = 81), ЗСВ с пилингом ВПМ, этапом ПРЛК и факоемульсификацией катарак-

ты (ФЭК) (n = 69). Уровень TNF α в крови до начала хирургического лечения определяли иммуноферментным методом, полиморфизм rs1800629 – методом полимеразной цепной реакции. Для статистической обработки данных применяли программу Statistica 10 (StatSoft, Inc., USA).

Результаты. У больных ДМП полиморфизм rs1800629 гена TNF α был связан с ее развитием и рецидивами после хирургического лечения: у 96,9% носителей генотипа A/A развивались рецидивы; у носителей гетерозиготы G/A риск рецидива был повышен (ОШ 3,76; 95% ДИ 2,27-6,27), тогда как наличие предковой гомозиготы G/G такой риск уменьшала (ОШ 0,02; 95% ДИ 0,01-0,06). Носительство аллели A ассоциировано с макулярным отеком: центральная толщина сетчатки у носителей аллели A была больше как до, так и после лечения, а в течение наблюдения – не снижалась.

Вывод. Установлено, что фактором, способствующим рецидивам ДМП после хирургического лечения, было высокое содержание в крови TNF α у носителей рисковой минорной аллели A полиморфизма rs1800629 гена TNF α .

Ключевые слова: диабетическая макулопатия, сахарный диабет II типа, хирургическое лечение, рецидивы, TNF α , rs1800629