

ЗНАЧЕННЯ ПОЛІМОРФНИХ ВАРІАНТІВ ГЕНА AKR1B1 rs759853 та rs9640883 ПРИ ДІАБЕТИЧНІЙ РЕТИНОПАТІЇ

С. Ю. Могілевський¹, Л. І. Денисюк², О. В. Бушуєва³

¹ Національна медична академія післядипломної освіти імені П.Л. Шупика МОЗ України,

² Київська міська клінічна офтальмологічна лікарня "Центр мікрохірургії ока" МОЗ України
– м. Київ, Україна,

³ Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького МОЗ України
– м. Львів, Україна

Мета дослідження: вивчення значення поліморфних варіантів гена AKR1B1 rs759853 та rs9640883 при діабетичній ретинопатії.

Матеріали та методи. У 39 пацієнтів з цукровим діабетом (ЦД) 2 типу та діабетичною ретинопатією визначали поліморфні варіанти гена AKR1B1 методом полімеразної ланцюгової реакції в режимі реального часу.

Результати та їх обговорення. Показано, що обидва поліморфізми мали відношення до компенсації ЦД. Наявність мінорного генотипу AA поліморфізму rs759853 сприяла більшій центральній товщині сітківки, що могло вказувати на посилення макулярного набряку внаслідок більшого внутрішньоклітинного накопичення сорбітолу.

Висновок. Носії мінорної алелі А поліморфізму rs9640883 (генотипи GA і AA) у середньому на шість років раніше оперувалися з приводу катаракти, що вказувало на більше прогресування патологічного процесу в сітківці за умов наявності мінорної алелі А.

Ключові слова: цукровий діабет 2 типу, діабетична ретинопатія, поліморфізм гена AKR1B1, rs759853, rs964088.

Активация полиолового або сорбітного шляху утилізації глюкози розглядають як зв'язок між гіперглікемією та розвитком ускладнень цукрового діабету (ЦД) [3-7]. Альдозоредуктаза (ALD) – фермент, який перетворює глюкозу на сорбітол в NADPH-залежній реакції [9, 10]. Внутрішньоклітинне накопичення сорбітолу є наслідком гіперглікемії, призводить до порушення осмотичного гомеостазу та грає есенціальну роль у розвитку діабетичної ретинопатії (ДР), катаракти та інших ускладнень ЦД з боку органа зору [8].

Ген, що кодує синтез ALD – AKR1B1, локалізується на 7-й хромосомі (7q35) і має 10 екзонів довжиною 18 тисяч пар нуклеотидів [1]. За даними літератури, ряд поліморфізмів гена AKR1B1 має асоціацію з розвитком ДР, у тому числі промотер SNP rs759853 та SNP rs9640883 [2], за даними яких алель Т промотера SNP має протективну роль. Для SNP rs9640883 визначено асоціацію із віком пацієнтів, тривалістю ЦД та ризиком виникнення ДР [1, 2].

Мета дослідження: вивчення значення поліморфних варіантів гена AKR1B1 rs759853 та rs9640883 при діабетичній ретинопатії.

Матеріали та методи. Під нашим наглядом було 39 пацієнтів з ЦД 2 типу та катарактою і ДР. Всім хворим було виконано оперативне втручання – факоемульсифікація з імплантацією штучного кришталика. Оперативне лікування хворих проводили на базі Київської міської клінічної офтальмологічної лікарні «Центр мікрохірургії ока» та клінічних баз

Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького. Серед пацієнтів було 13 (33,3 %) чоловіків та 26 (66,7 %) жінок. Вік склав від 27 до 76 років, у середньому 61,4±1,8 року.

Поліморфні варіанти гену AKR1B1 визначали методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) в режимі реального часу з використанням реактивів TaqMan® SNP Genotyping Assay, Life-technologies (США) на аналізаторі DTLite (Росія). Визначали частоту розподілу алелей та генотипів, а також їхній зв'язок з клінічними, інструментальними та лабораторними показниками: тривалість ЦД, проліферативна або непроліферативна форми ДР, наявність або відсутність макулярного набряку, неоваскуляризації сітківки та скловидного тіла, гемофтальма; рівнями глікемії та глікованого гемоглобіну; максимальної гостроти зору з корекцією, величиною внутрішньоочного тиску. Методом оптичної когерентної томографії (ОКТ) визначали центральну товщину та об'єм сітківки (використовували апарат «Stratus» фірми Carl Zeiss (Німеччина). Статистичні дані обробляли за допомогою програми Med Calc v.15.11.0 (Med Calc Software bvba, 1993–2015 pp.).

Результати та їх обговорення. При розподілі пацієнтів згідно до генотипів поліморфізму rs759853 гена AKR1B1 виявилось, що 10 осіб (25,6 %) мали «дикий» генотип GG; 21 особа (53,8 %) мала гетерозиготний генотип GA та 8 осіб (20,6 %) мали гомозиготний генотип за мінорною алеллю (AA). Відповід-

но «дика» алель G зустрічалась у 41 особи (52,6 %), а мінорна алель А – у 37 осіб (47,4 %).

За даними всесвітнього ресурсу MAF Source: 1000 Genomes (<http://www.1000genomes.org/node/506>), «дикою» алеллю цього поліморфізму є алель G, мінорною – алель А, загальна частота якої в популяції складає $A=0,2768/1386$. В наших дослідженнях частота виявлення мінорної алелі А була значно вищою, що узгоджується з даними літератури [2] та дозволяє допустити наявність асоціації мінорної алелі з розвитком ДР. Невелика кількість досліджень поки що не дозволяє робити остаточних висновків та диктує необхідність подальшого набору матеріалу для отримання достовірних результатів.

При розподілі даних обстеження згідно до генотипів було виявлено таке (табл. 1).

Статистично значимої різниці за показниками віку та тривалості ЦД не виявлено. Пацієнти були у віці від 27 до 76 років та мали стаж захворювання від 2 до 20 років. За рівнем глікемії різниці також не виявлено, рівень глюкози у крові становив від 5,0 ммоль/л до 15,5 ммоль/л.

Проліферативну ДР було виявлено у 21 пацієнта (53,8 %), тоді як у решти 18 – непроліферативна ДР (46,2 %). Розподіл генотипів був майже рівним, що могло вказувати на відсутність зв'язку типу ДР із даним поліморфізмом гена AKR1B1.

Компенсований перебіг ЦД був відмічений у 12 пацієнтів (30,8 %), у решти 27 (69,2 %) перебіг ЦД був некомпенсованим. При некомпенсованому ЦД значно частіше виявлялися гомозиготи – GG (90,0±9,5 %) та AA (87,5±11,7 %) – відмінність статистично значуща за критерієм хі-квадрат ($p=0,048$). Частоти визначення гетерозиготи GA були майже рівними. Ці дані потребують подальшого вивчення для з'ясування того, з якими саме патогенетичними механізмами ДР були пов'язані гомозиготні генотипи.

За показниками максимальної гостроти зору з корекцією та внутрішньоочного тиску пацієнти за наявністю різних генотипів також не розрізнялися. Була виявлена тенденція до більшої величини внутрішньоочного тиску за умов наявності мінорного генотипу AA, але при даній кількості обстеження вона не набула статистичної значущості.

Таблиця 1

Показники ЦД та ДР у носіїв різних генотипів поліморфізму rs759853 гена AKR1B1

Показник		Генотипи			P
		GG абс. (%±m%) (n=10)	GA абс. (%±m%) (n=21)	AA абс. (%±m%) (n=8)	
Вік, років		64,1±2,4	60,6±2,8	60,3±4,5	0,87
Давність ЦД, років		8,4±1,6	12,3±1,8	11,4±3,3	0,47
Глікемія, ммоль/л		8,6±0,6	9,1±0,7	9,2±0,8	0,85
Тип ДР	проліферативна	5 (50,0±4,5%)	12 (57,1±9,9%)	4 (50,0±4,5%)	0,48
	непроліферативна	5 (50,0±4,5%)	9 (42,9±9,9%)	4 (50,0±4,5%)	
Компенсація ЦД	компенсований	1 (10,0±9,5)	10 (47,6±10,9)	1 (12,5±11,7)	0,048**
	некомпенсований	9 (90,0±9,5)	11 (52,4±10,9)	7 (87,5±11,7)	
Максимальна гострота зору з корекцією, Од		0,45±0,12	0,54±0,07	0,47±0,12	0,74
Внутрішньоочний тиск, мм рт.ст.		16,9±1,0	17,4±0,9	18,0±1,1	0,73
Макулярний набряк	наявний	8 (80,0±12,6)	12 (57,1±10,8)	7 (87,5±11,7)	0,20
	відсутній	2 (20,0±12,6)	9 (42,9±10,8)	1 (12,5±11,7)	
Центральна товщина сітківки, мкм		288±15	319±19	336±17	0,046*
Центральний об'єм сітківки, мм ³		7,13±0,24	7,67±0,41	7,96±0,36	0,22
Неоваскуляризація диску зорового нерва	наявна	2 (20,0±12,6)	7 (33,3±10,3)	2 (25,0±15,3)	0,72
	відсутня	8 (80,0±12,6)	14 (66,7±10,3)	6 (75,0±15,3)	
Неоваскуляризація в інших ділянках сітківки	наявна	4 (40,0±15,5)	7 (33,3±10,3)	4 (50,0±17,7)	0,71
	відсутня	6 (60,0±12,6)	14 (66,7±10,3)	4 (50,0±17,7)	
Гемофтальм	наявний	3 (30,0±14,5)	6 (28,6±9,9)	1 (12,5±11,7)	0,63
	відсутній	7 (70,0±14,5)	15 (71,4±9,9)	7 (87,5±11,7)	

Примітки: * – різниця між генотипами статистично значима (критерій Крускала-Уолліса); ** – різниця між генотипами статистично значима (критерій хі-квадрат); $p<0,05$.

Макулярний набряк був наявний у 27 пацієнтів (69,2 %). Мала місце тенденція до збільшення частот спостереження гомозиготних генотипів GG та AA за умов наявності макулярного набряку, відповідно – $80,0 \pm 12,6$ % та $87,5 \pm 11,7$ % проти $20,0 \pm 12,6$ % та $12,5 \pm 11,7$ %, але ця різниця не набула статистичної значущості ($p=0,20$).

За умов наявності мінорного генотипу AA у пацієнтів з ДР мала місце більша товщина сітківки (у 1,1–1,2 рази в порівнянні з іншими генотипами, що було статистично значущим ($p=0,046$ за критерієм Крускала-Уолліса). Це могло відображати тенденцію до більшої частоти зустрічаємості мінорної гомозиготи AA за наявності макулярного набряку. Центральний об'єм сітківки також був дещо більшим за наявності мінорної гомозиготи AA, але ця тенденція не мала статистичної значущості.

У 11 з досліджених пацієнтів (28,2 %) було виявлено неоваскуляризацію диску зорового нерва. Неоваскуляризація в інших ділянках сітківки була виявлена у 15 пацієнтів (38,5 %). У 10 пацієнтів (25,6 %) був виявлений гемофтальм. Розподіл генотипів поліморфізму rs759853 гена AKR1B1 за умов наявності або відсутності неоваскуляризації або гемофтальму суттєво не відрізнявся.

При аналізі розподілу генотипів поліморфізму rs9640883 гена AKR1B1 у пацієнтів з ДР було встановлено, що «дикий» генотип GG виявлявся у 23 (59,0 %), генотип GA – у 14 (35,9 %) осіб. Мінорна гомозигота A була присутня у двох пацієнтів (5,1 %). Відповідно алель G зустрічалася у 60 пацієнтів (76,9 %), тоді як алель A – у 18 пацієнтів (23,1 %).

Згідно до даних MAF Source: 1000 Genomes (<http://www.1000genomes.org/node/506>) «дикою» алеллю цього поліморфізму є алель G, мінорною – алель A, загальна частота якої в популяції складає $A=0,2853/1429$. Виходячи з малої кількості мінорних гомозигот AA (всього дві), для подальшого аналізу було обрано домінуючу модель: у даному випадку – генотип GG проти GA+AA (табл. 2).

Як і при аналізі розподілу генотипів у попередньому випадку, для більшості показників не було отримано статистично значимої різниці. Але ж особливу увагу привертає статистично значуща різниця у розподілі генотипу за віком пацієнтів та ступенем компенсації ЦД. Так, носії мінорної алелі A поліморфізму rs9640883 гена AKR1B1 (генотипи GA і AA) мали менший вік – на шість років ($p=0,048$ за критерієм W-Вілкоксона). Цей факт показував, що такі пацієнти примушені були оперувати катаракту у більш молодому віці, тобто мінорна алель A сприяла більш ранньому розвитку змін органа зору у пацієнтів з ЦД. Крім того, як і для поліморфізму rs759853, для поліморфізму rs9640883 гена AKR1B1 був характерний зв'язок із компенсацією ЦД.

Розподіл генотипів не відрізнявся за умов наявності або відсутності макулярного набряку, а величини центральної товщини та об'єму сітківки суттєво не відрізнялися за умов наявності різних генотипів поліморфізму rs9640883 гена AKR1B1, що диктує необхідність подальших поглиблених досліджень.

Таким чином, на даному етапі дослідження можна було встановити, що поліморфізми rs759853 і rs9640883 гена AKR1B1 мали відношення до компенсації ЦД у пацієнтів з ДР і катарактою. Наявність мінорного генотипу AA поліморфізму rs759853 сприяла більшій центральній товщині сітківки, що могло вказувати на посилення макулярного набряку внаслідок більшого внутрішньоклітинного накопичення сорбітолу та порушення осмотичного гомеостазу нейронів сітківки. Носії мінорної алелі A поліморфізму rs9640883 гена AKR1B1 (генотипи GA і AA) оперувалися у середньому на шість років раніше, що вказувало на більше прогресування патологічного процесу органа зору за умов наявності мінорної алелі A.

Література

1. Щулькин А.В. Генетические маркеры развития диабетической ретинопатии / А.В. Щулькин, А.В. Колесников, О.И. Баренина, А.А. Ни-

Таблиця 2

Показники ЦД та ДР у носіїв різних генотипів поліморфізму rs9640883 гена AKR1B1

Показник	Генотипи		P
	G/G абс. (% \pm m%) (n=23)	G/A + A/A, абс. (% \pm m%) (n=16)	
Вік, років	$63,9 \pm 2,3$	$57,9 \pm 2,9$	0,048*
Компенсація	наявна 19 ($82,6 \pm 7,9$)	8 ($50,0 \pm 12,5$)	0,04**
	відсутня 4 ($17,4 \pm 7,9$)	8 ($50,0 \pm 12,5$)	
Макулярний набряк	наявний 17 ($73,9 \pm 9,2$)	10 ($62,5 \pm 12,1$)	0,50
	відсутній 6 ($26,1 \pm 9,2$)	6 ($37,5 \pm 12,1$)	
Центральна товщина сітківки, мкм	323 ± 22	303 ± 26	0,28
Центральний об'єм сітківки, мм ³	$7,85 \pm 0,33$	$7,23 \pm 0,24$	0,56

Примітки: * – різниця між генотипами статистично значима (критерій W-Вілкоксона); ** – різниця між генотипами статистично значима (критерій χ^2 -квадрат); $p < 0,05$.

- кифоров // Фундаментальные исследования. – 2014. – № 4–2. – С. 411–414.
2. *Abhary S.* A systematic meta-analysis of genetic association studies for diabetic retinopathy // *S. Abhary, A.W. Hewitt, K.P. Burdon, J.E. Craig // Diabetes.* – 2009. – Vol. 58. – P. 2137–2147.
 3. *Abhary S.* Aldose reductase gene polymorphisms and diabetic retinopathy susceptibility / *S. Abhary, K.P. Burdon, K.J. Laurie et al. // Diabetes Care.* – 2010. – Vol. 33(8). – P. 834–836.
 4. *Asnaghi V.* A role for the polyol pathway in the early neuroretinal apoptosis and glial changes induced by diabetes in the rat / *V. Asnaghi, C. Gerhardinger, T. Hoehn et al. // Diabetes.* – 2003. – Vol. 52(2). P. 506–511.
 5. *Chung S.S.* Aldose reductase in diabetic microvascular complications / *S.S. Chung, S.K. Chung // Curr Drug Targets.* 2005 Jun;6(4):475–86.
 6. *Dagher Z.* Studies of rat and human retinas predict a role for the polyol pathway in human diabetic retinopathy / *Z. Dagher, Y.S. Park, V. Asnaghi et al. // Diabetes.* – 2004. – Vol. 53(9). – P. 2404–2411.
 7. *Jane Z. Kuo.* Challenges in elucidating the genetics of diabetic retinopathy / *Jane Z. Kuo, Tien Y. Wong, Jerome I. Rotter // JAMA. Ophthalmol.* – 2014. – Vol. 132(1). – P. 96–107.
 8. *Joanna M. Tarr.* Pathophysiology of diabetic retinopathy / *Joanna M. Tarr, Kirti Kaul, Mohit Chopra et al. // ISRN Ophthalmol.* – 2013. – 2013. – P. 343–560.
 9. *Lorenzi M.* The polyol pathway as a mechanism for diabetic retinopathy: attractive, elusive and resilient / *M. Lorenzi // Exp Diabetes Res.* 2007;2007:61038. doi: 10.1155/2007/61038.
 10. *Obrosova I.G.* Aldose reductase polyol inhibitors for diabetic retinopathy / *I.G. Obrosova, P.F. Kador // Curr Pharm Biotechnol.* – 2011. – Vol. 12(3). – P. 373–385.

ЗНАЧЕНИЕ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНА AKR1B1 rs759853 и rs9640883 ПРИ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ РЕТИНОПАТИИ

С.Ю. Могилевский, Л.И. Денисюк, О.В. Бушуева

Целью данного исследования стало определение значения полиморфных вариантов гена AKR1B1 rs759853 и rs9640883 при диабетической ретинопатии. У 39 пациентов с сахарным диабетом 2 типа и диабетической ретинопатией определяли полиморфные варианты гена AKR1B1 методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени. Показано, что оба вида полиморфизма были связаны с характером компенсации сахарного диабета. Наличие минорного генотипа AA полиморфизма rs759853 способствовала большей центральной толщине сетчатки, что могло указывать на усиление макулярного отека вследствие большего внутриклеточного накопления сорбитола. Носители минорной аллели А полиморфизма rs9640883 (генотипы GA и AA) в среднем на шесть лет раньше оперировались по поводу диабетической ретинопатии, что указывает на большее прогрессирование патологического процесса в сетчатке при условии наличия минорной аллели А.

Ключевые слова: сахарный диабет 2 типа, диабетическая ретинопатия, полиморфизм гена AKR1B1, rs759853, rs9640883.

VALUE OF POLYMORPHISMS rs759853 and rs9640883 AKR1B1 GENE AT THE DIABETIC RETINOPATHY

S. Yu. Mogilevskiy¹, L.I. Denysyuk², O.V. Bushueva³

¹ National Medical Academy of Postgraduate Education named after P.L. Shupyk of the Ministry of Public Health of Ukraine;

² Kyiv City Clinical Ophthalmological Hospital “Eye Microsurgery Center” of the Ministry of Public Health of Ukraine
Kyiv, Ukraine

³ Lviv National Medical University named after Danylo Halytskyi of the Ministry of Public Health of Ukraine
Lviv, Ukraine

Determination of the importance of AKR1B1 gene polymorphisms rs759853 and rs9640883 at the diabetic retinopathy became an object of this research. In 39 patients with diabetes mellitus 2 types and diabetic retinopathy it was determined gene polymorphisms by method of polymerase chain reaction in real time. It was shown that both polymorphisms were connected with compensation status of diabetes. Existence of the minor genotype AA of rs759853 promoted the bigger retina central thickness that could point to strengthening of macular edema owing to bigger intracellular sorbitol accumulation. Carriers of the minor allele A rs9640883 (genotypes GA and AA) were operated earlier on the average of six years. This points to bigger progressing of retina pathological process in cases with allele A presence.

Key words: diabetes mellitus 2 types, diabetic retinopathy, gene AKR1B1 polymorphism, rs759853, rs9640883.

Рецензент – Венгер Л.В., д.мед.н., професор
Стаття надійшла до редакції 08.09.2015 р.