

УДК 617.735-007.17:617.751]-053.8/.9-092-07:575.191:577.21

¹Риков С. О., ¹Шаргородська І. В., ¹Лаврик Н. С., ^{1,2}Фролова С. С.

ЗВ'ЯЗОК ПОЛІМОРФІЗМІВ ГЕНІВ ARMS2 (rs10490924), CFH (rs800292), VEGFA (rs2010963 та rs699947) З НАЯВНІСТЮ «ВОЛОГОЇ» ФОРМИ ВМД У ХВОРИХ УКРАЇНСЬКОЇ ПОПУЛЯЦІЇ

¹Національна медична академія післядипломної освіти імені П.Л. Шупика (м. Київ)

²Державна наукова установа «Науково-практичний центр профілактичної та клінічної медицини» Державного управління справами (м. Київ)

ishargorodskamd@hotmail.com

Робота була виконана в рамках НДР кафедри офтальмології НМАПО імені П.Л. Шупика «Клінічне та експериментальне обґрунтування діагностики, лікування і профілактики рефракційних, дистрофічних, травматичних і запальних захворювань органу зору» (№ державної реєстрації 0116U002821, дати виконання 2016-2020 роки).

Вступ. Слід зазначити, що останні десятиріччя ознаменовані інтенсивним пошуком в галузі новітніх технологій щодо доклінічної індивідуальної діагностики вікової макулярної дегенерації (ВМД). За даними світової літератури [6, 14] ВМД є однією з найчастіших причин зниження зору у осіб після 50 років в розвинених країнах, вражаючи близько 14 мільйонів людей в усьому світі. Особливу тривогу викликає ситуація з щорічним приростом поширеності та рівнів захворюваності на ВМД як у світі, так і на Україні [3,7]. Так, за останні 10 років щорічна кількість пацієнтів з цією патологією, вперше визнаних інвалідами по зору, збільшилася на Україні в 2,5 рази [2]. Крім того, останнім часом це захворювання значно «помолодшало» і стало діагностуватися не тільки в літньому, а й у людей середнього віку, що призводить до первинної інвалідності в 11% випадків у осіб працездатного віку, та в 28% випадків у літніх людей [3]. На сьогоднішній день описано ряд методів і кілька різних підходів до вирішення цієї проблеми, які свідчать про те, що для діагностики ВМД, як мультифакторіального захворювання, основні патогенетичні ланки розвитку якого ще до кінця не вивчені, використовуються наступні методи: інструментальні, біохімічні, імунологічні, генетичні. Накоплені останніми роками знання про патогенез ВМД свідчать про значну участь генетичних факторів в формуванні і розвитку дистрофічних процесів при цьому захворюванні [5]. Отримані результати досліджень відкривають нові перспективи та напрямки пізнання патогенезу ВМД, які допоможуть вирішити суперечливі питання та розробити індивідуальний доклінічний підхід в діагностиці та лікуванні дистрофії сітківки. У зв'язку з цим, особливо складним і неоднозначним є визначення переліку генетичних мутацій, які потрібно визначати в першу чергу. Фенотипічна неоднорідність ВМД, відсутність єдиної, признаної та узгодженої класифікації захворювання – основні, але не останні колізійні питання, що потребують першочергового вирішення. У генетичних дослідженнях неможливо однозначно встановити конкретний ген або групу генів, якщо в аналіз вклю-

чені всі форми ВМД. До теперішнього часу відомо, що за розвиток вікової макулярної дегенерації можуть відповідати близько 50 генів. Однак високо вірогідна асоціація з розвитком і прогресуванням захворювання встановлена лише у кількох з них [1], а результати щодо наявності асоціації поліморфізмів деяких генів з розвитком ВМД досить суперечливі [12]. Безумовно, розвиток і перебіг ВМД залежить від поєднання певних генів і мутацій, що відбуваються в них. Виявлення нових генів, що впливають на розвиток центральної дистрофії сітківки та основних її форм («сухої» і «вологої»), триває і в наші дні.

Мета дослідження – визначення зв'язку поліморфізму генів ARMS2 (rs10490924), CFH (rs800292) та VEGFA (rs2010963 та rs699947) з розвитком «вологої» форми ВМД у пацієнтів в українській популяції.

Об'єкт і методи дослідження. Обстежено 182 пацієнта (364 ока). Всі пацієнти пройшли комплексне офтальмологічне обстеження і були обізнані про характер дослідження. Дослідження було схвалене етичним комітетом Національної медичної академії післядипломної освіти імені П.Л. Шупика. Протягом обстеження пацієнти були розподілені на дві групи: основну та групу порівняння. В основну групу були включені 144 пацієнта (288 очей) з встановленим діагнозом ВМД. Групу порівняння склали 38 пацієнтів (76 очей) без ВМД. Обидві групи були порівняні за віком і статтю. Із 288 очей, які досліджували в основній групі, міопічна рефракція була на 195 очах (67,71%) і на 93 очах (32,29%) відзначалася гіперметропічна рефракція. Гострота зору до 0,1 у пацієнтів основної групи відзначалася в 14,48% випадків, від 0,1 до 0,4 в 36,26% випадків і вище 0,5 — у 49,26% пацієнтів. Протягом проведення первинного скринінгу було визначено, що серед пацієнтів основної групи «сухої» форму ВМД було діагностовано на 128 очах (44,45%), «вологу форму» – в 55,55% випадків (160 очей).

При обстеженні пацієнтів групи порівняння без ВМД відзначено, що із 76 очей міопічну рефракцію було діагностовано на 22 очах (28,95%), гіперметропічну – 46 очах (60,52%) і на 8 очах (10,53%) – еметропічну рефракцію. Проводячи первинний скринінг пацієнтів цієї групи, особливу увагу звертали на відсутність супутньої очної патології.

Спочатку пацієнтам обох груп проводили вихідне стандартне комплексне офтальмологічне обстеження. Необхідно зазначити, що критеріями включення пацієнтів в дослідження були наступні: вік пацієнта

45 років і більше, наявність підтвердженої вікової макулярної дегенерації (основна група) або її відсутність (група порівняння). До критеріїв не включення входили наступні: вік пацієнтів – менше 45 років, значне помутніння оптичних середовищ, що унеможливило проведення офтальмоскопії і ОСТ, наявність глаукоми або інших супутніх офтальмологічних захворювань, які могли істотно знижувати гостроту зору, опероване відшарування сітківки, вітреоретинальні або інші операції на очах протягом останніх 3 місяців, системні захворювання (цукровий діабет, ревматизм тощо), наявність психічних захворювань і розладів, які заважали розумінню пацієнтами умов участі в дослідженні. Комплексне офтальмологічне обстеження пацієнтів обох груп включало: збір скарг та анамнезу захворювання, візометрію, біомікроскопію (SL-3C, Topcon Corporation, Japan), тонометрію (СТ-80, Topcon Corporation, Japan), кераторефрактометрію (RM-8800, Topcon Corporation, Japan), периметрію (Humphrey, Zeiss), офтальмоскопію (SL-3C, Topcon Corporation, Japan; Ocular MaxField® 78D, USA); вимірювання центральної товщини сітківки (ЦТС); визначення центрального об'єму сітківки (ЦОС) (3D-OCT-1000, Topcon Corporation, Japan). При розподілі пацієнтів по групах була використана клінічна класифікація Н.В. Пасечнікової (2010) [3]. В кінці обстеження всі результати фіксували в статистичній карті обстеження пацієнта.

При виконанні генетичних досліджень дотримувались наступного алгоритму: під час основного візиту після стандартного офтальмологічного обстеження проводили забір крові з кубітальної вени в кількості 2,5 мл в вакутайнери («Sarstedt», Німеччина) з фіолетовою кришечкою, які в якості антикоагулянта містили калієву сіль етилендіамінтетраоцтової кислоти (EDTA, 11,7 мМ). Після чого визначали поліморфні варіанти ДНК-локусів ARMS2, rs 10490924; CFH, rs800292; VEGF, rs2010963 і rs6921438 методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) в режимі реального часу з використанням реактивів TaqMan® SNP Genotyping Assay, Life-technologies (США) застосовуючи автоматичний ампліфікатор Real-Time PCR System 7500 (Applied Biosystems, США). Наступним кроком була фіксація частоти розподілу генотипів і алелей та розрахунок критерію Уолліса і значення F з використанням однофакторного дисперсійного аналізу із занесенням результатів в статистичну карту обстеження пацієнта. Отримані результати обробляли статистично, застосовуючи програми Microsoft Office Excel 2010, програмне забезпечення SPSS 11.0, MedStat (2004-2012).

Результати дослідження та їх обговорення. Отримані результати представлені в таблицях 1-4 та на рисунках 1-4.

Як показують результати (рис. 1), розподіл генотипів та алелей поліморфізму rs10490924 гена ARMS2 при зіставленні основної та групи порівняння відбувався наступним чином: розподіл предкової

гомозиготи G/G та гетерозиготи G/T, на відміну від мутантної гомозиготи T/T статистично значуще розрізнявся в обох групах.

В основній групі генотип G/G зустрічався у 2,1 рази рідше, ніж у групі порівняння (42,1% проти 20,0% відповідно; $p_{Fet}=0,01$). В той же час, генотип G/T зустрічався у 1,3 рази частіше (73% проти 58% відповідно). Крім того, мінорна гомозигота була виявлена у 6 хворих з 80 (7,5%) основної групи, які мали «вологої» форму ВМД. Таким чином, при розвитку «вологої» форми ВМД рівновага розподілу генотипів зсувалася у бік гетерозиготи та мінорної гомозиготи T/T. Про це свідчила більша частота мутантної алелі T (рис. 1), яка, збільшувалася у 1,5 рази і була статистично значуща ($p_{Fet}=0,03$). В той же час частота предкової алелі G зменшувалася у

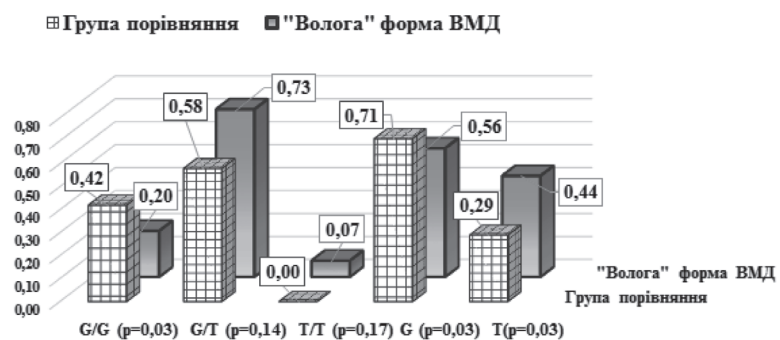


Рис. 1. Результати розподілу генотипів та алелей поліморфізму rs10490924 гена ARMS2 в основній групі і групі порівняння.

1,3 рази ($p_{Fet}=0,03$). Результати аналізу показали, що відмінності між групами за генотипами G/G і за алелями були статистично значущі (за двостороннім точним методом Фішера $P_{Fet}=0,03$) у обох випадках.

Протягом дослідження, нами було проаналізовано ступінь асоціації генотипів поліморфізму rs10490924 гена ARMS2 із розвитком «вологої» форми ВМД між пацієнтами основної групи та групи порівняння використовуючи побудову таблиць спряженості при вірогідному інтервалі 95% (табл. 1).

Результати дослідження показали (табл. 1), що гетерозиготний генотип G/T поліморфізму rs10490924 гена ARMS2 мав вірогідний зв'язок із розвитком «вологої» форми ВМД ($p_{(2)}=0,02$) та у 1,9 рази збільшував шанси її розвитку (OR=1,92; 95% ВІ 0,85-4,31). Мінорний гомозиготний генотип T/T також збільшував шанси розвитку ВМД у 6,7 рази (OR=6,72; 95% ВІ 0,37-122,42). При цьому дика гомозигота G/G зменшувала шанси розвитку «вологої» форми ВМД у 2,9 рази (OR=0,34; 95% ВІ 0,15-0,80).

Як свідчив аналіз таблиці спряженості (2x2), відзначався статистично значущий зв'язок алельного поліморфізму з розвитком захворювання ($p_{(2)}=0,03$). При цьому мінорна алель T збільшувала (OR=1,91; 95% ВІ 1,06-3,43), а предкова алель G зменшувала ризик розвитку ВМД (OR=0,52; 95% ВІ 0,29-0,94).

Таким чином, отримані результати свідчили про те, що дика гомозигота G/G та алель G мали проєктивні властивості у відношенні до розвитку «вологої» форми ВМД, тоді як генотипи з наявністю мінорної гомозиготи T та вона сама були лише факторами ри-

Таблиця 1. Результати аналізу ступеню асоціації генотипів поліморфізму rs10490924 гена ARMS2 між пацієнтами основної групи та групи порівняння із розвитком «вологої» форми ВМД, n= 236

Фактори, між якими проводили аналіз	Генотипи			Алелі		
	G/G	G/T	T/T	G	T	
Основна група, n=80 (160)	16	58	6	90	70	
Група порівняння, n=38 (76)	16	22	0	54	22	
χ^2	8,30			4,75		
p	0,02			0,03		
OR	значення	0,34	1,92	6,72	0,52	1,91
	95% ВІ	0,15 – 0,80	0,85 – 4,31	0,37 – 122,42	0,29 – 0,94	1,06 – 3,43

зика, що узгоджується із результатами відомого світового дослідження [8], яке було проведене у 7 країнах Європи та включало 4750 пацієнтів у віці старше ніж 65 років. Вченими було доведено, що наявність мінорної гомозиготи Т/Т більш ніж у 10 разів підвищує ризик розвитку пізньої ВМД ($P < 3 \cdot 10^{-20}$).

Отже, результати нашого дослідження є свідченням того, що в українській популяції при стратифікації ризиків за формою ВМД («суха»/«волога») відзначається висока сила зв'язку з ВМД та наявність асоціації поліморфізму rs10490924 гена ARMS2 з «вологою» формою захворювання.

Крім того, протягом нашого дослідження у пацієнтів обох груп ми також визначали взаємозв'язок гену CFH (rs800292) з розвитком «вологої» форми ВМД. Отримані нами дані по розподілу генотипів та алелей цього поліморфізму наведені на **рисунку 2**.

Аналіз результатів (**рис. 2**) визначив статистично значущі відмінності між основною групою і групою порівняння як за генотипами G/G, A/A, так і за алелями (за двостороннім точним методом Фішера $P_{Fet}=0,01$; $P_{Fet}=0,01$; $P_{Fet}<0,001$ відповідно). За іншими генотипами результати були не достовірні ($P_{Fet}>0,05$). Відзначалося зниження частоти предкового генотипу G/G у 2,0 рази ($P_{Fet}=0,01$) та відповідне збільшення частоти гетерозиготи G/A у 1,2 рази ($P_{Fet}=0,43$) і мінорної гомозиготи A/A у 5,0 рази ($P_{Fet}=0,01$). Дані розподілу по групам алелей також були статистично значущі: частота предкової алелі G була у 1,5 рази меншою ($P_{Fet}<0,001$), а частота мінорної алелі A – у 2,0 рази більшою ($P_{Fet}<0,001$). Такі результати свідчили про наявність зв'язку поліморфізму гену CFH (rs800292) з виникненням «вологої» форми ВМД.

Таким чином, як і для гена ARMS2, розподіл генотипів гену CFH (rs800292) у хворих української попу-

ляції, які мали «вологу» форми ВМД (**табл. 2**), суттєво відрізнявся від пацієнтів із групи порівняння ($p_{\chi^2}=0,003$).

Аналіз результатів побудови таблиць спряженості (**табл. 2**) вказував на збільшення у 1,5 разів шансів розвитку «вологої» форми ВМД для гетерозиготного генотипу G/A поліморфізму rs800292 гена CFH (OR=1,48; 95% ВІ 0,67-3,26) та збільшення у 6,0 разів шансів розвитку цієї форми захворювання для гомозиготного генотипу A/A (OR=6,00; 95% ВІ 1,32-27,19). Крім того, результати розподілу алелей (**табл. 2**) також мали вірогідні відмінності по відношенню до розвитку «вологої» форми ВМД ($p_{\chi^2}<0,001$) в порівнянні

з групою пацієнтів без ВМД. Так предкова алель G знижувала шанси розвитку «вологої» форми ВМД у 3 рази (OR=0,33; 95% ВІ 0,18-0,62), тоді як мінорна алель A – навпаки, збільшувала такі шанси розвитку цієї форми захворювання у 3 рази (OR=0,33; 95% ВІ 0,18-0,62).

Таким чином, отримані нами результати були свідченням того, що в українській популяції при стратифікації ризиків за формою ВМД («суха»/«волога») крім гена ARMS2 (rs10490924) відзначалась також висока сила зв'язку із «вологою» формою захворювання та наявність асоціації для поліморфізму rs800292 гена CFH.

Подібні результати були отримані іншими науковцями [15,17], які вказували на факт посилення зв'язку поліморфізму гену CFH при «вологій» формі ВМД у порівнянні із «сухою». Дослідження показали

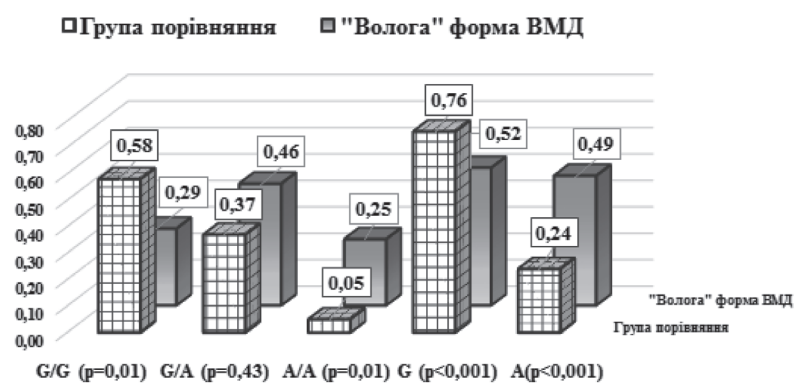


Рис. 2. Результати розподілу генотипів та алелей поліморфізму CFH (rs800292) в основній групі і групі порівняння.

[8,15,17], що найбільший ризик виникнення ВМД був притаманний поєднанню гомозигот генів ARMS2 та CFH – OR=62,3 (95% ВІ 16-242), при цьому рівень P наростав від значення 0,03 (при ранній стадії ВМД) до $1 \cdot 10^{-26}$ (при пізній стадії ВМД). Цікаві результати були отримані в іншому дослідженні [13], яке, ана-

Таблиця 2.

Результати аналізу ступеню асоціації генотипів поліморфізму rs800292 гена CFH між пацієнтами основної групи та групи порівняння із розвитком «вологої» форми ВМД, n= 236

Фактори, між якими проводили аналіз		Генотипи			Алелі	
		G/G	G/A	A/A	G	A
Основна група, n=80 (160)		23	37	20	83	77
Група порівняння, n=38 (76)		22	14	2	58	18
χ^2		11,65			11,62	
p		0,003			<0,001	
OR	значення	0,29	1,48	6,00	0,33	2,99
	95% BI	0,13 – 0,66	0,67 – 3,26	1,32 – 27,19	0,18 – 0,62	1,62 – 5,52

лізуючи Європейську генетичну базу (EGD 2006-2010) показало, що для носіїв ризикових гомозигот гена CFH «неоваскулярна» форма ВМД розвивається на 2,8 років раніше (95% BI 0,5-5,0; P=0,02), в той же час поєднання з ризиковими гомозиготами гена ARMS2 обумовлює розвиток «неоваскулярної» форми ВМД на 12,2 років раніше (95% BI 6,2- 18,3; P<0,001) ніж у пацієнтів без наявності алелей такого ризику [13].

Результати досліджень інших вчених [11] вказували на сумісний ефект поліморфізму гена ARMS2 (rs10490924) і гена CFH (rs800292), які обумовлювали високий ризик розвитку «неоваскулярної» ВМД та ретинальної ангиоматозної проліферації. Схожі результати були отримані за даними великого мета-аналізу (P<0,001) і для китайської популяції [10]. Максимальний ризик у китайській популяції був виявлений у хворих з «неоваскулярною» ВМД при поєднанні генотипів з мінорними алелями гена CFH – OR=9,76 (95% BI 4,65-20,51) [9]. Подібні дані, але для іншого поліморфізму – rs1061170 гена CFH були отримані в результаті проведення досліджень у польських хворих на «неоваскулярну» форму ВМД – OR=5,57 (95% BI 1,58-19,6; p=0,001) [16].

Для всебічного аналізу взаємозв'язку розвитку «вологої» форми ВМД у пацієнтів обох груп ми також проаналізували результати розбіжностей частоти генотипів та алелей поліморфізмів гена VEGFA. Результати представлено на **рисунках 3-4**.

Аналіз показав (**рис. 3**), розподіл генотипів та алелей поліморфізму гена VEGFA (rs2010963) в обох групах був статистично значущий як за генотипом G/G, так і за алелями (за двостороннім точним методом Фішера $P_{Fet}=0,01$; $P_{Fet}=0,005$ відповідно), в інших випадках – результати були не значущі ($P_{Fet}>0,05$).

Як видно із **рисунку 3**, у пацієнтів з «вологою» формою ВМД розподіл предкової гомозиготи G/G статистично значуще розрізнявся від групи порівняння. Генотип G/G у хворих з «вологою» формою ВМД зустрічався у 2,0 рази рідше, ніж в групі порівняння (52,6% проти 26,2% відповідно; $p_{Fet}=0,01$). Таким чином, при «вологій» формі ВМД частота предкового генотипу G/G rs2010963 суттєво зменшувалася. В той же час, частоти гетерозиготи G/C та мінорної гомозиготи C/C збільшувалися у 1,3 рази і у 3,6 разів відповідно (**рис. 3**), але їх розподіл не мав статистичної значущості відмінностей ($p_{Fet}=0,17$ та $p_{Fet}=0,09$). Аналіз розбіжності у розподілі алелей в групі хворих з «вологою» формою ВМД та в групі порівняння демонстрував статистичну значущість результату: предкова алель зустрічалася у 1,4 рази рідше (73,7% проти

54,5% відповідно; $p_{Fet}=0,005$), в той же час мінорна алель – у 1,7 рази частіше (45,6% проти 26,3% відповідно; $p_{Fet}=0,005$) (**рис. 3**).

Аналізуючи таблиці спряженості (**табл. 3**), можна зробити висновок, що між основною групою та групою порівняння поліморфізм rs2010963 гена VEGFA мав зв'язок із розвитком «вологої» форми ВМД ($p_{(2)}=0,01$). Гетерозигота G/T збільшувала шанси розвитку ВМД у 1,8 разів (OR=1,77; 95% BI 0,81-3,86), тоді як мінорна гомозигота такі шанси збільшувала у 3,8 рази (OR=3,82; 95% BI 0,82-17,74). В той же час, предкова гомозигота G/G зменшувала шанси розвитку ВМД у 3,1 рази (OR=0,32; 95% BI 0,14-0,72). Таким чином, предковий генотип можна

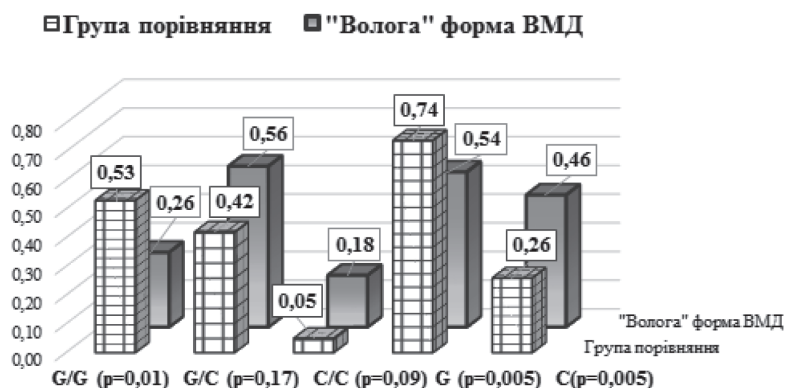


Рис. 3. Результати розподілу генотипів та алелей поліморфізму VEGFA (rs2010963) в основній групі і групі порівняння.

вважати протекторним по відношенню до розвитку «вологої» форми ВМД.

Крім того, аналіз свідчив щодо наявності статистичної значущості зв'язку алейного поліморфізму з розвитком захворювання ($p_{(2)}=0,005$) (**табл. 3**). Мутантна алель С поліморфізму rs2010963 гена VEGFA

Результати аналізу ступеню асоціації генотипів поліморфізму rs2010963 гена VEGFA між пацієнтами основної групи та групи порівняння із розвитком «вологої» форми ВМД, n=236

Фактори, між якими проводили аналіз	Генотипи			Алелі		
	G/G	G/C	C/C	G	C	
Основна група, n=80 (160)	21	45	14	87	73	
Група порівняння, n=38 (76)	20	16	2	56	20	
χ^2	9,00			8,05		
p	0,01			0,005		
OR	значення	0,32	1,77	3,82	0,43	2,35
	95% BI	0,14 – 0,72	0,81 – 3,86	0,82 – 17,74	0,23 – 0,77	1,29 – 4,27

мала зв'язок із розвитком ВМД та у 2,35 рази збільшувала шанси розвитку ВМД (OR=2,35; 95% BI 1,29-4,27). В той же час, дика алель G зменшувала такі шанси у 2,3 рази (OR=0,43; 95% BI 0,23-0,77).

Таким чином, як демонстрували результати наших досліджень, стратифікація за формами ВМД вказувала на високу силу зв'язку поліморфізму rs2010963 гена VEGFA з розвитком обох форм ВМД, але більшою мірою – із розвитком «вологої» форми захворювання.

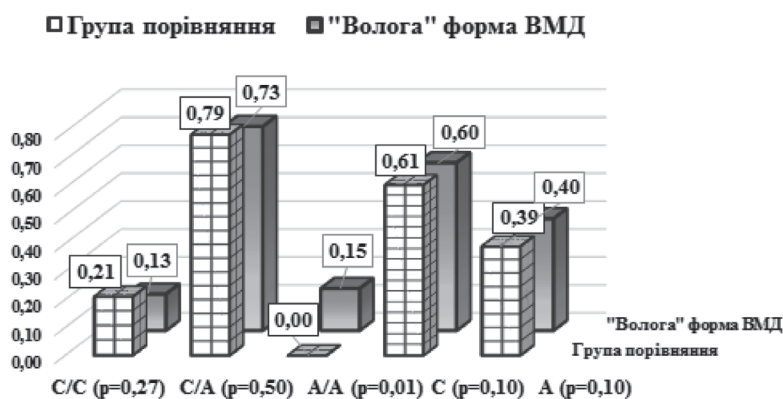


Рис. 4. Результати розподілу генотипів та алелей поліморфізму VEGFA (rs699947) в основній групі і групі порівняння.

В ході виконання роботи, ми також проаналізували розподіл генотипів та алелей іншого поліморфізму гена VEGFA — rs699947 при порівнянні обох досліджуваних груп (рис. 4).

Як свідчать отримані дані (рис. 4), розподіл генотипів та алелей поліморфізму rs699947 гена VEGFA суттєво не відрізнявся що для пацієнтів які мали «вологою» форму ВМД, так і для пацієнтів без ВМД ($P_{Fet} > 0,05$). Виняток склала мінорна гомозигота A/A.

Таблиця 3. У групі порівняння вона взагалі не зустрічалася, тоді як при наявності «вологої» форми ВМД була виявлена у 12 хворих (15,0%; за двостороннім точним методом Фішера $P_{Fet} = 0,01$).

Проаналізувавши таблиці спряженості, доведено, що загалом розподіл генотипів виявився статистично значущим ($p_{\chi^2} = 0,02$), наявність мінорного генотипу у 14,0 разів (OR=14,05; 95% BI 0,81-243,93) підвищувала шанси розвитку «вологої» форми ВМД (табл. 4).

Загалом при ВМД тільки у 14 хворих (10%) було визначено мінорний генотип A/A. При чому, у двох таких хворих була наявна «суха» форма ВМД, тоді як у 12 – «волого» форма захворювання. Такі результати були свідченням того, що поліморфізм rs699947 гена VEGFA фактично маркує виникнення «вологої» форми ВМД. Для вирішення цього питання надалі було зроблено порівняння «сухої» та «вологої» форм між собою.

Таким чином, результати проведених нами досліджень у хворих з української популяції при стратифікації за наявністю «вологої» форми ВМД сила зв'язку у порівнянні з хворими без розподілу по формі ВМД збільшувалася для поліморфізмів rs10490924 гена ARMS2 і rs800292 гена CFH. Для поліморфізму rs2010963 гена VEGFA зв'язок з «вологою» формою мав місце і для алелей і для генотипів. Мінорний генотип A/A поліморфізму rs699947 гена VEGFA виявив асоціацію тільки з «вологою» формою ВМД.

Результати проведених досліджень показали високу значимість генетичного методу для оцінки можливих факторів ризику розвитку різних форм ВМД. Така діагностика має велике перспективне значення для планування офтальмологічної допомоги на первинному та вторинному рівні надання медичної допомоги населенню України. Оскільки лікарі сімейного профілю та лікарі офтальмологи поліклінічної ланки зможуть розробляти індивідуальний менеджмент для кожного пацієнта без ВМД, розраховувати та точно визначати їх індивідуальні генетичні ризики та при необхідності планувати індивідуальну відповідь на специфічну анти VEGF терапію при розвитку ВМД.

Висновки. Генетичні методи дослідження – сучасні та перспективні способи ранньої до клінічної діагностики пацієнтів на ВМД.

Дослідження визначили, що із розвитком «вологої» форми ВМД у пацієнтів української популяції асоціація із захворюванням зберігалася для поліморфізмів rs10490924 гена ARMS2 і rs800292 гена CFH, в той же час для поліморфізму rs2010963 гена VEGFA зв'язок з «вологою» формою мав місце і для алелей і для генотипів, а для поліморфізму rs699947 гена VEGFA тільки для мінорного генотипу A/A.

Перспективи подальших досліджень. Проведений аналіз літератури свідчить про те, що рання діагностика ВМД є актуальним завданням офтальмології, і це пояснює прагнення офтальмологів до вдосконалення відомих методів і розробці нових методів діагностики і профілактики цього захворювання, особливо на доклінічних стадіях. Тому актуальним і своєчасним видається провести поглиблене дослідження визначення поліморфізмів генів ARMS2 (rs10490924), CFH(rs800292), VEGFA (rs2010963 та rs699947) з розвитком «вологої» форми ВМД у пацієнтів Української популяції і науково обґрунтувати якісно нову модель організації офтальмологічної допомоги пацієнтам з ВМД в процесі реформування галузі охорони здоров'я України.

Таблиця 4.

Результати аналізу ступеню асоціації генотипів поліморфізму rs699947 гена VEGFA між пацієнтами основної групи та групи порівняння із розвитком «вологої» форми ВМД, n=236

Фактори, між якими проводили аналіз	Генотипи			Алелі		
	C/C	C/A	A/A	C	A	
Основна група, n=80 (160)	10	58	12	78	82	
Група порівняння, n=38 (76)	8	30	0	46	30	
χ^2	7,08			2,87		
p	0,02			0,09		
OR	значення	0,54	0,70	14,05	0,62	1,61
	95% ВІ	0,19 – 1,49	0,28 – 1,77	0,81 – 243,93	0,36 – 1,08	0,93 – 2,81

Література

- Белехова С.Г. Роль генетически детерминированных факторов в патогенезе возрастной макулярной дегенерации / С.Г. Белехова, Ю.С. Астахов // Офтальмол. ведомости. – 2015. – № 4. – С. 30-39.
- Моїсеєнко Р.О. Офтальмологічна допомога в Україні за 2006-2011 роки / Р.О. Моїсеєнко, М.В. Голубчиков, Г.О. Слабкий, С.О. Риков. — Київ, 2012. – 183 с.
- Пасечникова Н.В. Клінічна класифікація і тактика лікування пацієнтів із віковою макулярною дегенерацією / Н.В. Пасечникова, А.Р. Король // Офтальмологічний журнал. – 2010. – № 2. – С. 38-41.
- Сухина Л.А. Особенности влияния окуяивайт-лютеин форте на функциональное состояние сетчатки у больных возрастной макулодистрофией / Л.А. Сухина, К.Э. Голубов, А.Ф. Смирнова, Г.В. Котлубей // Материалы XII съезда офтальмологов Украины. – 2010. – С. 171.
- Федотова Т.С. Патогенетические аспекты возрастной макулярной дегенерации сетчатки / Т.С. Федотова, В.М. Хокканен, С.В. Трофимова // Вестн. Оренбур. гос. университета. – 2014. – № 12. – С. 325-330.
- Bressler N.M. Age-related macular degeneration is the leading cause of blindness / N.M. Bressler // JAMA. – 2004. – Vol. 291, № 15. – P. 1900-1901.
- Chader G.J. Preface: The Aging Eye: Normal Changes, Age-Related Diseases, and Sight-Saving Approaches / G.J. Chader, A. Taylor // IOVS. – 2013. – Vol. 54, № 14. – P. 1-4.
- Chakravarthy U. ARMS2 increases the risk of early and late age-related macular degeneration in the European Eye Study / U. Chakravarthy, G.J. McKay, P.T. de Jong [et al.] // Ophthalmology. – 2013. – Vol. 120 (2). — P. 342-348. — doi: 10.1016/j.ophtha.2012.08.004.
- Fang K. Joint Effect of CFH and ARMS2/HTRA1 Polymorphisms on Neovascular Age-Related Macular Degeneration in Chinese Population / K. Fang, P. Gao, J. Tian [et al.] // J. Ophthalmol. – 2015. – Vol. 82. – P. 1918. — doi: 10.1155/2015/821918.
- Huang L. Different hereditary contribution of the CFH gene between polypoidal choroidal vasculopathy and age-related macular degeneration in Chinese Han people / L. Huang, Y. Li, S. Guo [et al.] // Invest. Ophthalmol. Vis Sci. – 2014. – Vol. 55 (4). – P. 2534-2538. — doi: 10.1167/iovs.13-13437.
- Jabbarpoor Bonyadi M.H. Association of ARMS2/LOC387715 A69S, CFH Y402H, and CFH I62V polymorphisms with retinal angiomas proliferation compared with typical age-related macular degeneration: a meta-analysis / M.H. Jabbarpoor Bonyadi, M. Yaseri, M. Bonyadi, M. Soheilian // Int. Ophthalmol. – 2016. – Vol. 22. — doi: 10.1007/s10792-016-0413-2.
- Klein R.J. Complement factor H polymorphism in age-related macular degeneration / R.J. Klein, C. Zeiss, E.Y. Chew [et al.] // Science. – 2005. – Vol. 308. – P. 385-389.
- Lechanteur Y.T. Association of Smoking and CFH and ARMS2 Risk Variants With Younger Age at Onset of Neovascular Age-Related Macular Degeneration / Y.T. Lechanteur, P.L. van de Camp, D. Smallhodzic [et al.] // JAMA Ophthalmol. – 2015. – Vol. 133 (5). – P. 533-541. — doi: 10.1001/jamaophthalmol.2015.18.
- Rudnicka A.R. Incidence of Late-Stage Age-Related Macular Degeneration in American Whites: Systematic Review and Meta-analysis / A.R. Rudnicka, V.V. Kapetanakis, Z. Jarrar [et al.] // Am J Ophthalmol. – 2015. – Vol. 160, № 1. – P. 85-93.
- Sardell R.J. Whole exome sequencing of extreme age-related macular degeneration phenotypes / R.J. Sardell, J.N. Bailey, M.D. Courtenay [et al.] // Mol. Vis. – 2016. – Vol. 22. – P. 1062-1076.
- Teper S.J. A69S and R38X ARMS2 and Y402H CFH gene polymorphisms as risk factors for neovascular age-related macular degeneration in Poland — a brief report / S.J. Teper, A. Nowińska, E. Wylęgała // Med. Sci. Monit. – 2012. – Vol. 18 (2). – P. 1-3.

17. Wu M. Association of Two Polymorphisms, rs1061170 and rs1410996, in Complement Factor H with Age-Related Macular Degeneration in an Asian Population: A Meta-Analysis / M. Wu, Y. Guo, Y. Ma, Z. Zheng, Q. Wang, X. Zhou // *Ophthalmic Res.* – 2016. – Vol. 55 (3). – P. 135-144. – doi: 10.1159/000442257.

УДК 617.735-007.17:617.751]-053.8/.9-092-07:575.191:577.21

ЗВ'ЯЗОК ПОЛІМОРФІЗМІВ ГЕНІВ ARMS2 (rs10490924), CFH (rs800292), VEGFA (rs2010963 та rs699947) З НАЯВНІСТЮ «ВОЛОГОЇ» ФОРМИ ВМД У ХВОРИХ УКРАЇНСЬКОЇ ПОПУЛЯЦІЇ

Риков С. О., Шаргородська І. В., Лаврик Н. С., Фролова С. С.

Резюме. Останнім часом діагностика вікової макулярної дегенерації (ВМД) набуває особливої актуальності оскільки за даними ВОЗ, серед причин, що призводять до сліпоти, ВМД займає друге місце після діабетичної ретинопатії і зустрічається у 25-40% осіб у віці 40-80 років, а до 2050 року кількість пацієнтів з ВМД збільшиться в 3 рази. Погляди сучасних вчених на патогенез ВМД та вибір оптимального методу ранньої субклінічної діагностики досить суперечливі. Все більше уваги приділяється вивченню ролі генетичного поліморфізму у розвитку вікової макулярної дегенерації (ВМД). В статті представлено аналіз дослідження зв'язку поліморфізма генів ARMS2 (rs10490924), CFH (rs800292), VEGFA (rs2010963 та rs699947) з розвитком «вологої» форми ВМД у пацієнтів української популяції. Обстежено 182 пацієнта (364 ока). Визначення поліморфних варіантів ДНК-локусів проводили методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) в режимі реального часу з використанням реактивів TaqMan®SNP Genotyping Assay, Life-technologies. Дослідження визначили, що із розвитком «вологої» форми ВМД у пацієнтів української популяції сила зв'язку із захворюванням, у порівнянні з хворими без розподілу по формі ВМД, збільшувалася для поліморфізмів rs10490924 гена ARMS2 і rs800292 гена CFH. Для поліморфізму rs2010963 гена VEGFA зв'язок з «вологою» формою мав місце і для алелів і для генотипів. Мінорний генотип А/А поліморфізму rs699947 гена VEGFA виявив асоціацію тільки з «вологою» формою ВМД. Проведені дослідження показали ефективність та безпечність використання методики дослідження генетичного поліморфізму для діагностики пацієнтів з ВМД, а також її перспективність для ранньої доклінічної діагностики пацієнтів з цією патологією.

Ключові слова: вікова макулярна дегенерація, «волога» форма ВМД, поліморфізм, алелі, гени, ARMS2, CFH і VEGFA.

УДК 617.735-007.17:617.751]-053.8/.9-092-07:575.191:577.21

СВЯЗЬ ПОЛІМОРФИЗМОВ ГЕНОВ ARMS2 (rs10490924), CFH (rs800292), VEGFA (rs2010963 и rs699947) С НАЛИЧИЕМ «ВЛАЖНОЙ» ФОРМЫ ВМД У ПАЦИЕНТОВ УКРАИНСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ

Рыков С. А., Шаргородская И. В., Лаврик Н. С., Фролова С. С.

Резюме. В последнее время диагностика возрастной макулярной дегенерации (ВМД) особенно актуальна поскольку, по данным ВОЗ, среди причин, ведущих к слепоте, ВМД занимает второе место после диабетической ретинопатии и встречается у 25-40% людей в возрасте 40-80 лет, а к 2050 году прогнозируется увеличение количества пациентов с ВМД в 3 раза. Взгляды современных ученых на патогенез ВМД и выбор оптимального метода ранней субклинической диагностики достаточно противоречивы. Все больше внимания уделяется изучению роли генетического полиморфизма в развитии ВМД. В статье представлен анализ исследования связи полиморфизма генов ARMS2 (rs10490924), CFH (rs800292), VEGFA (rs2010963 и rs699947) с развитием «влажной» формы ВМД у пациентов украинской популяции. Обследовано 182 пациента (364 глаза). Исследование полиморфных вариантов ДНК-локусов проводили методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени с использованием реактивов TaqMan®SNP Genotyping Assay, Life-technologies. Исследования определили, что с развитием «влажной» формы ВМД у пациентов украинской популяции сила связи с заболеванием, в сравнении с пациентами без распределения по форме ВМД, увеличивалась для полиморфизмов rs10490924 гена ARMS2 и rs800292 гена CFH. Для полиморфизма rs2010963 гена VEGFA связь с «влажной» формой имела место и для аллелей, и для генотипов. Минорный генотип А/А полиморфизма rs699947 гена VEGFA выявил ассоциацию только с «влажной» формой ВМД. Проведенные исследования показали эффективность и безопасность использования методики изучения генетического полиморфизма для диагностики пациентов с ВМД, а также ее перспективность для ранней доклинической диагностики пациентов с данной патологией.

Ключевые слова: возрастная макулярная дегенерация, «влажная» форма ВМД, полиморфизм, аллели, гены, ARMS2, CFH и VEGFA.

UDC 617.735-007.17:617.751]-053.8/.9-092-07:575.191:577.21

RELATIONSHIP OF ARMS2 (rs10490924), CFH (rs800292), VEGFA (rs2010963 and rs699947) GENES POLYMORPHISM WITH THE «WET» FORM OF AMD AMONG THE PATIENTS WITHIN THE UKRAINIAN POPULATION

Rykov S. O., Shargorodska I. V., Lavryk N. S., Frolova S. S.

Abstract. Recently the diagnostics of age-related macular degeneration (AMD) has been of particular relevance, because, according to WHO, AMD ranks second after the diabetic retinopathy among the reasons leading to blindness and is common among 25-40% of people aged 40-80 years, with the increase in the number of patients by 3 times projected by 2050. The attitudes of modern scientists toward the pathogenesis of AMD and the choice of the optimal method for early subclinical detection are quite controversial. Increased attention is being paid to the role of genetic polymorphism in the development of AMD, because the full description of the common, as well as that of the rare al-

leles, participating in the pathogenesis of AMD, will provide enhanced opportunities to identify precisely the individual genetic risk and define the new targets for therapeutic interference.

Aim of this study was to analyse the connection of ARMS2 (rs10490924), CFH (rs800292), VEGFA (rs2010963 and rs699947) gene polymorphism with the «wet» form of AMD within the Ukrainian population.

Object and methods. The study included 182 patients (364 eyes). Polymorphic variants of ARMS2 (rs10490924), CFH (rs800292), VEGFA (rs2010963 and rs699947) genes were determined during the polymerase chain reaction, which was conducted using such reagents as TaqMan®SNP Genotyping Assay and Life-technologies. The results of the study have proved the peculiarities of the Ukrainian population, which are demonstrated by the association of ARMS2 rs10490924 gene polymorphism with the «wet» form of AMD. A significance difference in the distribution of genotypes for CHF rs800292 gene polymorphism has been detected among the patients with the «wet» form of AMD, compared to the control group, indicating the relationship of this polymorphism genotypes with the emergence of the «wet» form of AMD: $p_{\chi^2}=0,003$. As demonstrated due to analysis of the contingency table (3x3), the G/A heterozygote genotype of CHF rs800292 gene polymorphism has increased the chances of the «wet» form of AMD development by 1,5 times (OR=1,48; 95% BI 0,67-3,26). The A/A homozygote genotype has increased the chances of the development of the «wet» form of AMD by 6,0 times (OR=6,00; 95% BI 1,32-27,19). For VEGFA rs2010963 gene polymorphism there has been detected the relationship with the «wet» form for alleles, as well as for genotypes (in case of the «dry» form – only for alleles). A/A minor genotype of VEGFA rs2010963 polymorphism has revealed the association only with the «wet» form of AMD.

Thus, the studies undertaken have demonstrated the effectiveness and safety of the genetic polymorphism training methodology for diagnostics of patients with AMD, and its potential for early pre-clinical diagnostics of patients with this pathology.

The studies have determined, that the strength of the relationship with the disease among the patients within the Ukrainian population has increased with the development of the «wet» form of AMD for ARMS2 rs10490924 and CFH rs800292 genes polymorphism, compared to the patients without the distribution by AMD form. For VEGFA rs2010963 gene polymorphism there has been detected the relationship with the «wet» form for alleles, as well as for genotypes. A/A minor genotype of VEGFA rs2010963 polymorphism has revealed the association only with the «wet» form of AMD.

Keywords: age-related macular degeneration, «wet» form of AMD polymorphism, alleles, genes, ARMS2, CFH and VEGFA.

Рецензент – проф. Безкоровайна І. М.

Стаття надійшла 25.03.2017 року

УДК 615.322

Соколенко В. М., Дуброва Є. О., Лоцько М. І., Пуденко О. Р., Міщенко І. В.

ВИКОРИСТАННЯ ЕКСТРАКТІВ РОСЛИН-САЛІЦИЛАТІВ ЯК ПРИРОДНОГО ДЖЕРЕЛА НАТРІЮ 2-ОКСИБЕНЗЕНКАРБОКСИЛАТУ В ЯКОСТІ ЗАМІННИКА 2-АЦЕТИЛОКСИБЕНЗОЙНОЇ КИСЛОТИ

Вищий навчальний державний заклад України «УМСА» (м. Полтава)

sokolenko.valentyna@yandex.ua

Дослідження виконано в рамках НДР «Розробка стратегії використання епігенетичних механізмів для профілактики та лікування хвороб, пов'язаних із системним запаленням», № державної реєстрації 0114U000784.

Вступ. Популярний знеболювальний препарат, відомий нині під назвою аспірин, був розроблений у ХХ столітті як засіб від головного болю та артриту. Ацетилсаліцилова кислота пригнічує синтез простагландинів і володіє багатьма фармакологічними властивостями, серед яких аналгетична, протизапальна та антиагрегантна дії, а також можливість профілактики онкологічних захворювань [1].

Не дивлячись на всі переваги застосування даного препарату, в останній час все частіше публікуються висновки про негативний вплив 2-ацетилксобензойної кислоти на організм людини. Тож дуже актуальним стало питання заміни цього медичного засобу іншими фармакологічними об'єктами з меншою кількістю побічних ефектів. Саме з цією метою

у практичній фітотерапії досить широко застосовуються рослини-саліцилати [8].

В останній час можна побачити багато рекомендацій з неперевіраних джерел, що пропонують замінити штучно ацетильовану форму 2-гідроксибензойної кислоти саліцилатами рослинного походження з метою профілактики тромбозів. Незважаючи на це, досі немає точних даних щодо кількісного вмісту цих сполук у рослинній сировині [7, 16].

Отже, спираючись на теоретичні дані щодо хіміко-фармакологічних властивостей похідних сполук саліцилової кислоти, ми вирішили застосувати на практиці титриметричний метод кількісного визначення натрію 2-оксибензенкарбоксилату у екстрактах рослин-саліцилатів та порівняти отримані дані із дозою ацетилсаліцилової кислоти, потрібною для профілактики утворення тромбів. Можливість обґрунтованого підтвердження чи спростування реального заміни синтетичного препарату, вживання якого може викликати багато побічних ефектів до-