

## АНОТАЦІЯ

*Бушусва О.В.* Оптимізація прогнозування та діагностики діабетичної ретинопатії у хворих на цукровий діабет 2 типу. - Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 222 – «Медицина» (22 – Охорона здоров'я). – Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького МОЗ України, Львів, 2020.

Дисертація присвячена теоретичному узагальненню і вирішенню актуального наукового завдання – підвищенню ефективності прогнозування та діагностики діабетичної ретинопатії на підставі комплексного вивчення клініко-лабораторних даних та поліморфних варіантів гена альдозоредуктази rs759853 і rs9640883 при цукровому діабеті 2 типу.

В Україні зареєстровано понад 1,5 мільйони хворих на цукровий діабет (ЦД), який є третьою причиною смертності у світі після серцево-судинних і онкологічних захворювань. ЦД 1 типу складає близько 5-16 %, тоді як 84-95 % хворих страждають на ЦД 2 типу (ЦД2Т), який можна назвати пандемією ХХІ століття. У зв'язку з відсутністю своєчасного звернення пацієнтів та пізньою діагностикою ЦД2Т, на час встановлення діагнозу до 50 % хворих уже мають ускладнення, пов'язані з розвитком мікро- та макроагніопатій. Діабетична ретинопатія (ДР) була й залишається одним з вагомих ускладнень ЦД та є однією з першочергових причин сліпоти у осіб працездатного віку. Понад 90 мільйонів людей страждають на ДР і серед них близько 17 мільйонів мають проліферативну форму.

Механізм розвитку ДР багатокомпонентний і включає порушення обміну речовин: вуглеводного, ліпідного, білкового та електролітного. Гіперглікемія активує поліоловий шлях метаболізму глюкози, внаслідок чого накопичуються сорбітол та фруктоза. Перетворення глюкози на сорбітол не перевищує 1 % за відсутності гіперглікемії, але при ЦД цей відсоток збільшується до 7-8 %. Ключовий фермент поліолового шляху – альдозоредуктаза, який перетворює глюкозу на сорбітол, який майже не проникає через клітинну мембрану та

накопичується в клітинах. Поліморфізми гена альдозоредуктази суттєво впливають на активність ферменту та можуть визначати генетичну схильність до розвитку уражень сітківки за умов стійкої гіперглікемії. Водночас, виявлення пацієнтів схильних до розвитку ДР, сприятиме розробці індивідуального підходу до впровадження профілактичних заходів та лікування. Отримані результати генетичних досліджень дозволять розробити алгоритм для раннього виявлення пацієнтів з високим ризиком розвитку ДР. В Україні не було проведено дослідження щодо визначення найбільш значимих поліморфізмів альдозоредуктази для розвитку ДР. Отже, обґрунтування нових методів прогнозування, діагностики та прогресування ДР повинно базуватися на комплексному визначенні клініко-лабораторних проявів захворювання та поліморфізмів основного гена, що є ключовим регулятором поліолового шляху – альдозоредуктази.

Завдання дослідження:

1. Вивчити частоту і характер розвитку та прогресування непроліферативної (ДНПР) і проліферативної ДР (ДПР) при ЦД2Т, особливості тривалості захворювання та клініко-лабораторних показників, що відображають перебіг захворювання.
2. Дослідити вплив на розвиток та прогресуванням ДР у хворих на ЦД 2 типу оксидантного стресу та порушень ензиматичної антиоксидантної системи у внутрішньоочній рідині (рівень дієнових кон'югатів та активність каталази).
3. Вивчити розподіл поліморфних алелей і генотипів rs759853 гена AKR1B1 у хворих з ЦД2Т, ДНПР, ДПР та у контрольній групі.
4. Вивчити розподіл поліморфних алелей і генотипів rs9640883 гена AKR1B1 у хворих з ЦД2Т, ДНПР, ДПР та у контрольній групі.
5. Визначити асоціацію з захворюванням та вплив поліморфізмів rs759853 та rs9640883 гена AKR1B1 на виникнення, механізми розвитку і прогресування ДР.
6. Проаналізувати розподіл гаплотипів поліморфізмів rs759853 та rs9640883 гена AKR1B1 та їх асоціацію з захворюванням.
7. Визначити зв'язок поліморфізмів rs759853 та rs9640883 гена AKR1B1

з показниками оксидантних порушень у внутрішньоочній рідині (рівнем дієнових кон'югатів та активністю каталази).

8. Шляхом математичного аналізу визначити порівняльний ризик розвитку ДР у носіїв різних генотипів поліморфізмів rs759853 та rs9640883 гена AKR1B1. На підставі визначення діагностичної значущості поліморфних варіантів гена альдозоредуктази розробити модель прогнозування розвитку та прогресування ДР.

Об'єкт дослідження: діабетична ретинопатія при цукровому діабеті 2 типу.

Предмет дослідження: прогнозування розвитку, рання діагностика, прогресування діабетичної ретинопатії при цукровому діабеті 2 типу, поліморфізми rs759853 і rs9640883 гена альдозоредуктази (AKR1B1).

Методи дослідження: загальноклінічні, офтальмологічні, біохімічні, молекулярно-генетичні, статистичні.

Наукова новизна. Вперше в пацієнтів з української популяції проведена оцінка розподілу генотипів поліморфізму rs759853 гена AKR1B1. Показано зниження частоти предкового генотипу G/G на тлі збільшення частоти гетерозиготи G/A при ЦД2Т (у 1,9 рази). При ДР (у 3,3 рази при непроліферативній та у 3,9 рази при проліферативній) збільшувалася частота мутантної гомозиготи A/A. При прогресуванні ДР – зниження частоти предкової алелі G (у 1,7 рази) та збільшення мутантної алелі A (у 1,9 рази за умов проліферативної ДР у порівнянні з контролем;  $P_{(\chi^2)} < 0,001$  для всіх перелічених випадків).

Доповнено наукові дані про вплив оксидантного стресу та порушень ензиматичної антиоксидантної системи на розвиток та прогресування ДР у хворих на ЦД 2 типу: при збільшенні тяжкості ДР рівень дієнових кон'югатів суттєво зростає, тоді як активність каталази – зменшувалася.

Вперше проведена оцінка розподілу генотипів поліморфізму rs9640883 гена AKR1B1. Показано збільшення частоти предкового генотипу G/G при ЦД2Т (у 1,4-1,6 рази) на тлі зменшення частоти гетерозиготи G/A (у 1,4-1,9 рази;  $P_{(\chi^2)} < 0,001$  для обох генотипів у порівнянні з контролем). ДР супроводжувалася відсутністю мінорної гомозиготи A/A rs9640883 у всіх

хворих, що вказує на протективний вплив гомозиготи А/А. При прогресуванні ДР відмічено збільшення частоти предкової алелі G (у 1,2 рази) та зменшення мінорної алелі А (у 1,9 рази при проліферативній ДР у порівнянні з контролем;  $P_{(\chi^2)} < 0,001$  для обох алелей).

Встановлено, що з розвитком ДР асоційована наявність у поліморфізмі rs759853 ( $P_{(\chi^2)} < 0,001$ ) алелі А та генотипу А/А, а у поліморфізмі rs9640883 ( $P_{(\chi^2)} < 0,001$ ) – алелі G та генотипу G/G. Наявність у поліморфізмі rs759853 алелі А ( $P_{(\chi^2)} = 0,047$ ) підвищувала шанси розвитку ДР, а генотип А/А ( $P_{(\chi^2)} < 0,001$ ) збільшував такий ризик у 11 разів; наявність гомозиготи G/G поліморфізму rs9640883 ( $P_{(\chi^2)} = 0,02$ ) також збільшувала ризик розвитку ДР.

Вперше доведена роль у розвитку ДР хворих на ЦД 2 типу гаплотипу обох поліморфізмів: гаплотипом ризику є (А/А rs759853\*G/G rs9640883), який зустрічався при ДР у 71,4% випадків. Асоціацію з ДР мали гаплотипи з поєднанням алелі А поліморфізму rs759853 з предковою гомозиготою G/G поліморфізму rs9640883; гаплотипи (G/A rs759853\*G/G rs9640883) та (А/А rs759853\* G/G rs9640883) були маркерами наявності ДР у порівнянні з контрольною групою ( $P_{(\chi^2)} < 0,001$ ). Наявність гаплотипу (А/А rs759853\* G/A rs9640883) визначало розвиток проліферативної ДР ( $P_{(\chi^2)} = 0,003$ ).

Вперше доведена залежність інтенсивності перекисного окиснення ліпідів при ДР від поліморфізму гена AKR1B1: вона значущо ( $p < 0,05$ ) наростала за наявності мутантного генотипу А/А поліморфізму rs759853 та предкового генотипу G/G поліморфізму rs9640883; розвиток ДР супроводжувався зниженням активності каталази, особливо за умов проліферативної ДР та наявності вказаних генотипів ризику.

Практична значимість отриманих результатів. Вперше обґрунтована діагностична роль поліморфізмів rs759853 і rs9640883 гена AKR1B1: шляхом побудови логістичних моделей регресії показано, що ризик розвитку ДР менший у п'ять разів у носіїв генотипів G/G і G/A у порівнянні з носіями генотипу А/А поліморфізму rs759853 ( $p < 0,001$ ). Також ризик у два рази більший ( $p = 0,01$ ) для носіїв генотипу G/G поліморфізму rs9640883 у порівнянні з генотипами А/А+G/A. Ризик розвитку проліферативної ДР у 3,3 рази менший

для носіїв генотипу G/G ( $p=0,01$ ) та у 2,5 рази – для носіїв генотипу G/A у порівнянні з генотипом A/A поліморфізму rs759853.

Розроблена модель прогнозування розвитку ДР: найбільша ймовірність розвитку ДР була відмічена для гаплотипів (A/A rs759853\*G/G rs9640883), (G/A rs759853\*G/G rs9640883) та (A/A rs759853\*G/A rs9640883). Найменша ймовірність розвитку ДР була визначена для протективного гаплотипу (G/G rs759853\*A/A rs9640883).

Діагностична роль поліморфізмів гена AKR1B1 полягає і у визначенні швидкості розвитку ДР: у носіїв гаплотипу G/G rs759853\*G/A rs9640883 непроліферативна ДР розвивається на 2,5 роки раніше, ніж в середньому по цій групі пацієнтів, а проліферативна ДР – на 7,2 роки раніше. Затримує розвиток ДР наявність гаплотипу G/A rs759853\*G/G rs9640883, а розвиток проліферативної ДР – ще й гаплотип A/A rs759853\*G/A rs9640883.

Публікації: за темою дисертації опубліковано 15 наукових праць, з яких 8 – статті. 5 статей опубліковано в журналах і збірниках відповідно «Переліку наукових фахових видань України, в яких можуть публікуватися результати дисертаційних робіт на здобуття наукових ступенів доктора наук, кандидата наук та ступеня доктора філософії»; 2 статті у закордонних виданнях, з наукового напрямку, за якого підготовлено дисертацію, в тому числі 1 – у періодичному науковому виданні держави, яка входить до Європейського Союзу; 3 статті опубліковані у виданнях, що входять до наукової бази Scopus. 7 робіт опубліковано у матеріалах науково-практичних конференцій, у тому числі з міжнародною участю, що засвідчують апробацію матеріалів дисертації.

**Ключові слова:** діабетична ретинопатія, прогнозування, діагностика, дієнові кон'югати, каталаза, поліморфізм гена альдозоредуктази rs759853, rs9640883.

## СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

**Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:**

1. **Bushuyeva OV.** New factors of diabetic retinopathy progression in type 2 diabetes mellitus patients. East European Scientific Journal. 2019;12(52):54–57.

URL:<https://eesa-journal.com/2020/01/09/new-factors-of-diabetic-retinopathy-progression-in-type-2-diabetes-mellitus-patients-54-57/>

2. Могилевский СЮ., Зяблицев СВ., **Бушуева ОВ.** Связь полиморфизмов rs759853 и rs9640883 гена AKR1B1 с клинико-лабораторными показателями при диабетической ретинопатии. Офтальмология. Восточная Европа. 2017;7(1):8–17. (Scopus). URL: [http://recipe.by/ru/magazine/glaz/?editions=2017-tom-7-n12&group\\_id=item\\_0&article\\_id=line\\_0](http://recipe.by/ru/magazine/glaz/?editions=2017-tom-7-n12&group_id=item_0&article_id=line_0) (*Особистий внесок – дисертантом проведено клініко-лабораторні та молекулярно-генетичні дослідження, статистичний аналіз, підготовлена стаття до друку*).

3. Могілевський СЮ., **Бушуєва ОВ.** Прогнозування розвитку діабетичної ретинопатії на основі визначення поліморфних локусів rs759853 і rs9640883 гена AKR1B1. Офтальмологічний журнал. 2017;4:3–8. (Scopus). URL: <http://www.ozhurnal.com/ru/archive/2017/4/1-abstract> (*Особистий внесок – здобувачем проведено збір клінічного та біологічного матеріалу, лабораторні та молекулярно-генетичні дослідження, статистична обробка результатів, аналіз отриманих даних та підготовлено статтю до друку*).

4. Могілевський СЮ., **Бушуєва ОВ.**, Натрус ЛВ. Особливості діабетичної ретинопатії у хворих на цукровий діабет 2 типу. Архів офтальмології України: науково-практичний медичний журнал. 2017;5(1):37–43. URL: [https://docs.wixstatic.com/ugd/680f24\\_a580d576eafc4807a1ca82ea4f0cbb34.pdf](https://docs.wixstatic.com/ugd/680f24_a580d576eafc4807a1ca82ea4f0cbb34.pdf) (*Особистий внесок – дисертантом проведено клініко-лабораторні дослідження, статистичний аналіз та підготовлено матеріали до друку*).

5. Могілевський СЮ., **Бушуєва ОВ.**, Зяблицев СВ., Натрус ЛВ. Зв'язок поліморфізмів rs759853 та rs9640883 гена AKR1B1 з розвитком діабетичної

ретинопатії. Офтальмологічний журнал. 2017;2:3–7. (Scopus).  
URL:<http://www.ozhurnal.com/ru/archive/2017/2/1-abstract> (Особистий внесок – дисертантом проведено клініко-лабораторні та генетичні дослідження, статистична обробка результатів, проаналізовано отримані дані та підготовлено статтю до друку).

6. Могілевський СЮ., Бушуєва ОВ. Розподіл генотипів та алелів поліморфізмів rs759853 і rs9640883 гена AKR1B1 у хворих на діабетичну ретинопатію, катаракту і цукровий діабет 2 типу. Архів офтальмології України: науково-практичний медичний журнал. 2016;4(2):44–49.

URL:[https://docs.wixstatic.com/ugd/680f24\\_a19a6f92e46f43a18fbc0e48caf089b7.pdf](https://docs.wixstatic.com/ugd/680f24_a19a6f92e46f43a18fbc0e48caf089b7.pdf) (Особистий внесок – дисертантом проведено збір клінічного та біологічного матеріалу, лабораторні та молекулярно-генетичні дослідження, статистична обробка результатів, аналіз отриманих даних і підготовлено матеріал до друку).

7. Могілевський СЮ., Денисюк ЛІ., Бушуєва ОВ. Значення поліморфних варіантів гена AKR1B1 rs759853 та rs9640883 при діабетичній ретинопатії. Архів офтальмології України. 2015;3(1):32–35.

URL:[https://docs.wixstatic.com/ugd/680f24\\_9794608df9ca4a8ab46a0d07465c63ab.pdf](https://docs.wixstatic.com/ugd/680f24_9794608df9ca4a8ab46a0d07465c63ab.pdf) (Особистий внесок – дисертантом проведено огляд літератури, клініко-лабораторні дослідження, статистична обробка та аналіз результатів, підготовлено матеріали до друку).

#### **Наукові праці, які додатково відображають наукові результати дисертації:**

8. Могілевський СЮ., Бушуєва ОВ. Зв'язок генетичного поліморфізму RS759853 гена AKR1B1 з оксидативним стресом при діабетичній ретинопатії. Сучасні аспекти військової медицини: збірник наукових праць Національного військово-медичного клінічного центру «ГВКГ» МО України. 2016;23:61–63. (Особистий внесок – здобувачем проведено збір клінічного та біологічного матеріалу, лабораторні дослідження, статистичну обробку результатів, аналіз отриманих даних та підготовлено статтю до друку).

## **Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:**

9. Могілевський СЮ., **Бушуєва ОВ.** Зв'язок поліморфізмів гена альдозоредуктази з виникненням діабетичної ретинопатії при цукровому діабеті 2 типу. Матеріали науково-практичної конференції «Шевальовські читання '19»; 2019 Черв. 20–21; Запоріжжя, 2019. С. 30–31. *(Особистий внесок – дисертантом проведено клініко-лабораторні та молекулярно-генетичні дослідження, статистичний аналіз та підготовлено матеріали до друку).*

10. Могілевський СЮ., **Бушуєва ОВ.** Моделювання прогнозу діабетичної ретинопатії на основі визначення поліморфних локусів гена альдозоредуктази. Матеріали XIV з'їзду офтальмологів України; 2018 Трав. 23–25; Одеса, 2018. С. 175–176. *(Особистий внесок – дисертантом проведено клінічні, лабораторні та молекулярно-генетичні дослідження, статистичний аналіз та підготовлено матеріали до друку).*

11. Могілевський СЮ., **Бушуєва ОВ.** Зв'язок гаплотипу поліморфізмів rs759853 та rs9640883 гена AKR1B1 з розвитком діабетичної ретинопатії при цукровому діабеті 2 типу. Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю «Філатовські читання – 2017»; 2017 Трав. 25–26; Одеса, 2017. С. 146–147. *(Особистий внесок – дисертантом проведено клініко-лабораторні та молекулярно-генетичні дослідження, статистичний аналіз та підготовлено матеріали до друку).*

12. Могілевський СЮ., **Бушуєва ОВ.** Зв'язок поліморфізму гена AKR1B1 з віком та тривалістю цукрового діабету при діабетичній ретинопатії. Матеріали науково-практичної конференції офтальмологів Полтавської, Кіровоградської, Сумської, Черкаської, Чернігівської, Харківської областей України «Актуальні питання офтальмології»; 2016 Жовт. 5–6; Полтава, 2016. С. 117–118. *(Особистий внесок – дисертантом проведено клінічні та молекулярно-генетичні дослідження, статистичний аналіз та підготовлено матеріали до друку).*

13. Могілевський СЮ., **Бушуєва ОВ.** Розподіл поліморфних варіантів rs759853



та rs9640883 гену AKR1B1 при діабетичній ретинопатії. Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю «Сучасні методи діагностики та лікування вітреоретинальної патології»; 2016 Черв. 16–17; Львів, 2016. С. 71–72. *(Особистий внесок – дисертантом проведено клініко-лабораторні та молекулярно-генетичні дослідження, статистичний аналіз та підготовлено матеріали до друк).*

14. Могілевський СЮ., **Бушуєва ОВ.** Генетичний та алельний поліморфізм rs759853 гена альдозоредуктази у хворих на цукровий діабет II типу, ускладнений діабетичною ретинопатією. Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю «Філатовські читання – 2016», присвяченої 80-річчю з дня заснування Інституту очних хвороб і тканинної терапії ім. В.П. Філатова НАМН України та XIV конгресу офтальмологічного товариства країн Причорномор'я; 2016 Трав. 19–20; Одеса, 2016. С. 139–140. *(Особистий внесок – дисертантом проведено клінічні та молекулярно-генетичні дослідження, статистичний аналіз та підготовлено матеріали до друку).*

15. Могилевский СЮ., Зяблицев СВ., **Бушуева ОВ.** Влияние однонуклеотидного полиморфизма rs759853 гена AKR1B1 на течение диабетической ретинопатии. Матеріали науково-практичної конференції офтальмологів Запорізької, Херсонської та Дніпропетровської областей України «Актуальні питання офтальмології»; 2015 Жовт. 7–8; Запоріжжя, 2015. С.166–168. *(Особистий внесок – дисертантом проведено клінічні, лабораторні та молекулярно-генетичні дослідження, статистична обробка результатів та підготовлено матеріали до друку).*