

УДК 617.735-02:616.379-008.64]-056.7

## ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ РАЗВИТИЯ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ РЕТИНОПАТИИ

**Щулькин А.В., Колесников А.В., Баренина О.И., Никифоров А.А.**

*ГБОУ ВПО «Рязанский государственный медицинский университет  
им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России, Рязань, e-mail: kolyuchk@mail.ru*

В статье представлены современные данные о патогенезе пролиферативной и непролиферативной диабетической ретинопатии. На основе патогенеза выделены заинтересованные гены, которые могут лежать в основе наследственной предрасположенности к данному заболеванию. В работе описаны следующие гены: AKR1B1, кодирующий альдозоредуктазу, NOS, кодирующие NO-синтазы, ACE, кодирующий ангиотензин-превращающий фермент, VEGF, кодирующий сосудистый эндотелиальный фактор роста. Проведен обзор мета-анализов исследований по изучению ассоциации полиморфных маркеров данных генов с риском развития диабетической ретинопатии. На базе представленных данных сделан вывод о том, что полиморфизмы гена AKR1B1 ((A-C)<sub>n</sub> динуклеотидный полиморфный маркер на 5' конце гена и полиморфный маркер rs759853 в промоторе гена), кодирующего альдозоредуктазу, и гена VEGF (rs2010963), кодирующего фактор роста эндотелия сосудов, являются значимыми факторами, предрасполагающими к развитию диабетической ретинопатии.

**Ключевые слова:** диабетическая ретинопатия, полиморфизм, генетика

## GENETIC MARKERS OF DIABETIC RETINOPATHY

**Schulkin A.V., Kolesnikov A.V., Barenina O.I., Nikiforov A.A.**

*Ryazan State Medical University named after acad. I.P. Pavlov, Ryazan, e-mail: kolyuchk@mail.ru*

The current data of the pathogenesis of proliferative and non-proliferative diabetic retinopathy are presented. On the basis of the pathogenesis of diabetic retinopathy the interested genes that may underlie predisposition to this disease are allocated. The article describes the following genes: AKR1B1, aldose reductase encoding, NOS, NO-synthase encoding, ACE, encoding angiotensin converting enzyme, VEGF, encoding vascular endothelial growth factor. A review of meta-analyzes of studies on the association of polymorphic markers of these genes with the risk of developing diabetic retinopathy is carried out. On the basis of the data concluded that the gene polymorphisms AKR1B1 ((A-C)<sub>n</sub> dinucleotide polymorphic marker at the 5' end of the gene and the polymorphic marker rs759853 in the promoter of the gene), encoding aldose reductase, and VEGF gene (rs2010963), encoding vascular endothelial growth factor, are the most important factor predisposing to the development of diabetic retinopathy.

**Keywords:** diabetic retinopathy, polymorphism, genetics

Диабетическая ретинопатия является наиболее распространенным микрососудистым осложнением сахарного диабета и встречается у всех пациентов с сахарным диабетом 1 типа и у 75% пациентов с сахарным диабетом 2 типа в течение 15 лет от начала манифестации заболевания [10, 14, 18].

Морфологически диабетическая ретинопатия проявляется наличием микрососудистых поражений сетчатки. Ранние изменения включают в себя появление микроаневризм, кровоизлияний, твердых и мягких экссудатов и нарушение гемодинамики. Эти клинические признаки объединяют в непролиферативную диабетическую ретинопатию. Аномальный рост новых кровеносных сосудов, который часто приводит к преретинальным и интравитреальным кровоизлияниям, характеризуют пролиферативную диабетическую ретинопатию [13].

Длительность диабета и недостаточный гликемический контроль являются двумя наиболее важными факторами в развитии ретинопатии [16]. Однако эти факторы сами по себе не объясняют возникновение сосудистых осложнений. Кроме того, у ряда

пациентов с плохим гликемическим контролем даже за большой промежуток времени ретинопатия не развивается, в то время как у некоторых пациентов с хорошим гликемическим контролем ретинопатия развивается уже в течение нескольких лет. В этой связи предполагается важная роль генетических факторов в развитии диабетической ретинопатии [5].

Данная статья посвящена обзору мета-анализов исследований по изучению ассоциации полиморфных маркеров заинтересованных генов с риском развития диабетической ретинопатии.

### **Роль полиморфных маркеров гена AKR1B1, кодирующего альдозоредуктазу, в развитии диабетической ретинопатии**

Альдозоредуктаза представляет собой фермент, превращающий глюкозу в сорбит в НАДФН-зависимой реакции. Она находится в различных тканях, включая эндотелиальные, эпителиальные и пигментные клетки сетчатки. Сродство глюкозы к ферменту низкое, и поэтому достаточного количества сорбита не образуется

в эугликемических условиях. Однако при наличии гипергликемии, продуцируются значительные концентрации сорбита, который накапливается в клетках (поскольку он плохо диффундирует через билипидную мембрану) и вызывает их осмотическое повреждение [12]. Человеческий ген AKR1B1, кодирующий альдозоредуктазу, локализован на хромосоме 7q35 и состоит из 10 экзонов протяженностью 18 тысяч пар нуклеотидов ДНК [9].

Описаны 2 клинически значимых полиморфизма в гене AKR1B1. Первый (A-C) n динуклеотидный полиморфный маркер на 5' конце гена AKR1B1. Из 7 аллелей данного локуса клиническое значение имеет лишь аллель z-2 [2]. Второй полиморфный маркер гена AKR1B1 локализуется в промоторе (rs759853) [1].

В мета-анализе S. Abhary et al. (2009) 6 исследований по изучению динуклеотидного полиморфного маркера на 5' конце гена AKR1B1 была выявлена значительная связь z-2 аллеля с развитием любого типа диабетической ретинопатии (отношение шансов (ОШ) 2,33, 95% доверительный интервал (ДИ) 1,49–3,64,  $p = 2 \cdot 10^{-4}$ ). Субанализ данных исследований показал значимую связь между z-2 аллелем и развитием диабетической ретинопатии у пациентов с сахарным диабетом 2 типа (ОШ 2,64, 95% ДИ 1,39–5,01,  $p = 2,9 \cdot 10^{-3}$ ), а также более слабую, но все же достоверную связь у пациентов с сахарным диабетом 1 типа (ОШ 1,95, 95% ДИ 1,04–3,66,  $p = 0,04$ ). Также была найдена значимая связь в подгруппах непролиферативной и пролиферативной диабетической ретинопатии.

Достоверной связи между аллелем z и развитием диабетической ретинопатии получено не было (ОШ 1,05, 95% ДИ 0,81–1,35,  $p = 0,73$ ). Однако при проведении субанализа было показано, что аллель z защищает пациентов от развития непролиферативной диабетической ретинопатии при сахарном диабете 2 типа (ОШ 0,65, 95% ДИ 0,45–0,94,  $p = 0,02$ ). Кроме того, было обнаружено, что аллель z + 2 защищает пациентов от развития диабетической ретинопатии (ОШ 0,58, 95% ДИ 0,36–0,93,  $p = 0,02$ ).

В трех исследованиях была изучена связь второго полиморфизма гена AKR1B1 (rs759853) с диабетической ретинопатией при диабете 1 типа и в пяти исследованиях при диабете 2 типа. При проведении мета-анализа данных исследований установлено, что аллель T ассоциируется с низким риском развития диабетической ретинопатии при сахарном диабете 1 типа (ОШ 0,49, 95% ДИ 0,36–0,68,  $p < 1,00 \cdot 10^{-4}$ ). В то время как достоверной связи у пациентов с сахарным диабетом 2 типа получено не было [1].

### **Роль полиморфных маркеров генов NOS, кодирующих NO-синтазы, в развитии диабетической ретинопатии**

Показано, что при сахарном диабете снижается эндотелий-зависимая вазодилатация, наряду с увеличением вазоконстрикции. В настоящее время считается, что одной из возможных причин aberrации кровотока в сетчатке в начале диабета является дисфункция эндотелия [7]. Ретинальное кровообращение лишено внешней иннервации и поэтому полностью зависит от эндотелиальной саморегуляции, и, следовательно, эндотелиальная дисфункция у больных сахарным диабетом может оказывать существенное влияние на локальную гемодинамику в сетчатке.

Выделяют три изоформы NO-синтазы – фермента, продуцирующего оксид азота (эндотелиальный релаксирующий фактор): нейрональная (NOS1), индуцибельная (NOS2A) и эндотелиальная (NOS3). В норме NOS2A в сетчатке не экспрессируется. Однако при повышении концентрации глюкозы ретинальные сосудистые эндотелиальные клетки начинают экспрессировать NOS2A и снижают экспрессию NOS3 [4].

Ген эндотелиальной синтазы оксида азота (NOS3) расположен на хромосоме 7q35-36. Описаны три полиморфизма данного гена (rs1799983, rs41322052 и rs3138808). Наиболее изученным является полиморфизм rs3138808. При проведении мета-анализа исследований (одно исследование с сахарным диабетом 1 типа и семь исследований с диабетом 2 типа), посвященных изучению ассоциации данного полиморфизма с развитием диабетической ретинопатии, не было выявлено статистически значимой связи между rs3138808 и любыми формами диабетической ретинопатии. Кроме того, не было получено значимой связи между любой формой диабетической ретинопатии и полиморфизмами rs1799983 (ОШ 1,11, 95% ДИ 0,94–1,31,  $p = 0,23$ ) или rs41322052 (ОШ 1,06, 0,85–1,33,  $p = 0,60$ ) [1].

### **Роль полиморфных маркеров гена ACE, кодирующего ангиотензин-превращающий фермент, в развитии диабетической ретинопатии**

Ангиотензин-превращающий фермент (ACE) – эндотелиальный эктоэнзим, секретируемый в плазму и играющий ключевую роль в регуляции системной и почечной циркуляции через активацию ангиотензина I в вазоконстрикторный пептид ангиотензин II [8]. ACE кодируется геном, который локализован на хромосоме 17p23 и охватывает 21 kb ДНК [15].

Полиморфизм гена ACE, впервые описанный Rigat и др. [3], представляет собой вставку (I) или удаление (D) 287 bp последовательности в 16 интроне. Пациенты с генотипами DD имеют самый высокий уровень ACE в плазме крови, а с фенотипами II – самый низкий уровень.

При проведении мета-анализа шести исследований, изучающих данный полиморфизм гена ACE у пациентов с сахарным диабетом 1 типа, и семи исследований у пациентов с сахарным диабетом 2 типа, не было выявлено статистически значимой связи данного полиморфизма и развития любой формы диабетической ретинопатии. При проведении субанализа десяти исследований с пациентами европеоидной расы, также не было найдено ассоциации любых типов диабетической ретинопатии или ее подтипов с данным полиморфизмом [1].

В другом мета-анализе, включившем 2342 случая диабетической ретинопатии и 2048 случаев без ретинопатии (I insert/D delete), не было обнаружено существенной связи между данными генетическими вариантами и развитием изучаемой патологии. В дополнительном анализе ассоциации I/D варианта с ретинопатией также не было получено существенной связи как у пациентов с сахарным диабетом 1 типа (ОШ 1,01, 95% ДИ 0,79–1,29), так и у пациентов с сахарным диабетом 2 типа (ОШ 1,12, 95% ДИ 0,93–1,35). Однако I/D полиморфизм был связан с развитием пролиферативной ретинопатии (ОШ 1,37, 95% ДИ 1,02–1,84) [21].

В мета-анализе Fujisawa T. et al. (1998) также не было получено достоверной связи данного полиморфизма с развитием ретинопатии [11].

**Роль полиморфных маркеров гена VEGF, кодирующего сосудистый эндотелиальный фактор роста, в развитии диабетической ретинопатии**

Фактор роста эндотелия сосудов (VEGF) является специфическим ангиогенным и индуцирующим проницаемость сосудов фактором эндотелиальных клеток, который вовлечен в патогенез диабетической ретинопатии. Неоретинальная васкуляризация связана с ретинальной ишемией и гипоксией, которые индуцируют продукцию VEGF [6].

Ряд клинических исследований выявил корреляцию между развитием диабетической ретинопатии и внутриглазным уровнем VEGF. Концентрация VEGF была значительно повышена в стекловидном теле и водянистой влаге пациентов с пролиферативной диабетической ретинопатией по сравнению с показателями пациентов, не страдающих диабетом, и пациентов

с непролиферативной диабетической ретинопатией [6].

VEGF представляет собой димерный гепарин-связывающий белок с молекулярной массой приблизительно 46 кДа. Человеческий ген VEGF состоит из 8 экзонов и 7 интронов и находится на 6 хромосоме [17]. Было показано, что VEGF имеет четыре молекулярные формы, а также, что для него характерна таргетная специфичность, ограничивающаяся сосудистыми эндотелиальными клетками. Идентифицировано два тирозинкиназных рецептора VEGF (VEGF R1 и VEGF-R2) [19].

Шесть полиморфизмов гена VEGF были включены в мета-анализ по изучению их ассоциации с развитием диабетической ретинопатии, при этом полиморфизм rs2010963 изучался наиболее часто. Семь исследований, посвященных изучению этого полиморфизма при сахарном диабете 2 типа и диабетической ретинопатии, были включены в анализ. Аллель G рассматривалась как вариант риска. Были показаны значимые различия в частоте встречаемости данного аллеля у пациентов без диабетической ретинопатии и у пациентов с непролиферативной ретинопатией (ОШ 0,62, 95% ДИ 0,48–0,81,  $p = 5,0 \cdot 10^{-4}$ ), но никаких существенных различий не было найдено между пациентами с непролиферативной и пролиферативной ретинопатией. Мета-анализ также не выявил значимой связи между полиморфизмом VEGF rs25648, rs1570360, rs3095039, rs35569394 или rs699947 и риском развития любого типа диабетической ретинопатии [1].

В другом мета-анализе, в котором анализировали ассоциацию полиморфизма гена VEGF – 634G > C (rs2010963) с риском развития диабетической ретинопатии у пациентов с сахарным диабетом 2 типа, были получены следующие результаты. 1525 случаев развития диабетической ретинопатии и 1422 диабетика без ретинопатии в 9 независимых исследованиях были включены в мета-анализ. Взаимосвязи между полиморфизмом VEGF – 634G > C и диабетической ретинопатией были найдены в аллельной генетической модели (ОШ 1,13, 95% ДИ 1,01–1,25,  $p = 0,03$ ) и в рецессивной генетической модели (ОШ 1,26, 95% ДИ 1,02–1,55,  $p = 0,03$ ) [20].

**Заключение**

На основании представленных данных можно сделать вывод, что полиморфизмы гена AKR1B1 ((A-C)<sub>n</sub> и rs759853), кодирующего альдозоредуктазу, и гена VEGF (rs2010963), кодирующего фактор роста эндотелия сосудов, являются наиболее

значимыми наследственными факторами, предрасполагающими к развитию диабетической ретинопатии среди всех описанных генов. Дальнейшие исследования в данной области позволят разработать программу индивидуального скрининга пациентов на основе индивидуального генотипа для болезни, которая имеет первостепенное значение и становится все более возрастающей проблемой общественного здравоохранения

#### Список литературы

1. A Systematic Meta-Analysis of Genetic Association Studies for Diabetic Retinopathy / S. Abhary [et al.] // *Diabetes*. – 2009. – Vol. 58, Is. 9. – P. 2137–2147.

2. An (A-C)n dinucleotide repeat polymorphic marker at the 5' end of the aldose reductase gene is associated with early onset diabetic retinopathy in NIDDM patients / B.C. Ko [et al.] // *Diabetes*. – 1995. – Vol. 44. – P. 727–732.

3. An insertion/deletion polymorphism in the angiotensin-I converting enzyme gene accounting for half the variance of serum enzyme levels / B. Rigat [et al.] // *Clin. Invest.* – 1990. – Vol. 86. – P. 1343–1346.

4. Constitutive nitric oxide synthase expression in retinal vascular endothelial cells is suppressed by high glucose and advanced glycation end products / U. Chakravarthy [et al.] // *Diabetes*. – 1998. – Vol. 47. – P. 945–952.

5. DCCT Research Group. Clustering of long term complications in families with diabetes in the Diabetes Control and Complications Trial // *Diabetes*. – 1997. – Vol. 46. – P. 1829–1839.

6. Duh Elia, Aiella L.P. Vascular Endothelial growth factors and diabetes / E. Duh, L.P. Aiella // *Diabetes*. – 1999. – Vol. 48. – P. 1899–1906.

7. Endothelial dysfunction and pathogenesis of diabetic angiopathy / C.D.A. Stehouwer [et al.] // *Cardiovasc. Res.* – 1997. – Vol. 34. – P. 55–68.

8. Erelas E.G. Angiotensin I – converting enzyme and the changes in our concepts through the years / E.G. Erelas // *Hypertension*. – 1990. – Vol. 16. – P. 363–370.

9. High levels of erythrocyte aldose reductase and diabetic retinopathy in NIDDM patients / C. Nishimura [et al.] // *Diabetologia*. – 1994. – Vol. 37. – P. 328–330.

10. Khan Z.A. Growth factors in proliferative diabetic retinopathy / Z.A. Khan, S. Chakrabarti // *Exp. Diabesity. Res.* – 2003. – Vol. 4. – P. 287–301.

11. Meta-analysis of association of insertion/deletion polymorphism of angiotensin I-converting enzyme gene with diabetic nephropathy and retinopathy / T. Fujisawa [et al.] // *Diabetologia*. – 1998. – Vol. 41. – P. 47–53.

12. Mugregor L.C. Altered retinal metabolism in diabetes II measurement of sodium potassium ATPase and total sodium and potassium in individual retinal layers. / L.C. Mugregor, F.M. Matschinsky // *Bio. Chem.* – 1986. – Vol. 26. – P. 4052–4058.

13. National Health and Medical Research Council. Management of Diabetic Retinopathy: Clinical Practice Guidelines. – Canberra, NHMRC. – 2008.

14. Pathophysiology and management of diabetic retinopathy / E.A. Abu [et al.] // *Expert. Rev. Ophthalmol.* – 2009. – Vol. 4. – P. 627–647.

15. Structure of the angiotensin-I converting enzyme gene / C. Mubert [et al.] // *JBC.* – 1991. – Vol. 266. – P. 15377–15383.

16. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. The effect of intensive insulin treatment of diabetes on the development and progression of long term complications in insulin dependent diabetes mellitus // *N. Engl. J. Med.* – 1993. – Vol. 329. – P. 977–986.

17. The human gene for vascular endothelial growth factor. Multiple protein are encoded through alternative exon splicing / E. Tischer [et al.] // *Biol. Chem.* – 1991. – Vol. 266. – P. 11947–11954.

18. The Wisconsin epidemiologic study of diabetic retinopathy. III. Prevalence and risk of diabetic retinopathy when age at diagnosis is 30 or more years / R. Klein [et al.] // *Arch. Ophthalmol.* – 1984. – Vol. 102. – P. 527–532.

19. Vascular endothelial growth factor up-regulates its receptor like tyrosine kinase 1 (flt-1) and a soluble variant of flt.1 in human vascular endothelial cells / B. Barleon [et al.] // *Cancer Res.* – 1997. – Vol. 57. – P. 5421–5425.

20. VEGF –634G > C polymorphism and diabetic retinopathy risk: A meta-analysis / M. Qiu [et al.] // *Gene*. – 2013. – Vol. 518, Is. 2. – P. 310–315.

21. Zhou J.B. Angiotensin-converting enzyme gene polymorphism is associated with proliferative diabetic retinopathy: a meta-analysis / J.B. Zhou, J.K. Yang. // *Act. Diabetol.* – 2010. – Vol. 47, Suppl. 1. – P. 187–193.

#### References

1. Abhary S., Hewitt A.W., Burdon P.K., Craig J., *Diabetes*, 2009, Vol. 58, no. 9, pp. 2137–2147.

2. Ko B.C., Lam K.S., Wat N.M., Chung S.S., *Diabetes*, 1995, Vol. 44, pp. 727–732.

3. Rigat B., Hubert C., Alhene C., Gelas F., Combien F., Corval P., et al., *J. Clin. Invest.*, 1990, Vol. 86, pp. 1343–1346.

4. Chakravarthy U., Hayes R.G., Stitt A.W., McAuley E., Archer D.B., *Diabetes*, 1998, Vol. 47, pp. 945–952.

5. DCCT Research Group, *Diabetes*, 1997, Vol. 46, pp. 1829–1839.

6. Duh E., Aiella L.P., *Diabetes*, 1999, Vol. 48, pp. 1899–1906.

7. Stehouwer C.D.A., Lambert J., Donker A.J.M., van Hinsberg V.W.M., *Cardiovasc. Res.*, 1997, Vol. 34, pp. 55–68.

8. Erelas E.G., *Hypertension*, 1990, Vol. 16, pp. 363–370.

9. Nishimura C., Saito T., Ito T., Omori Y., Tamimoto T., *Diabetologia*, 1994, Vol. 37, pp. 328–330.

10. Khan Z.A., Chakrabarti S., *Exp. Diabesity. Res.*, 2003, Vol. 4, pp. 287–301.

11. Fujisawa T., Ikegami H., Kawaguchi Y., Hamada Y., Ueda H., Shintani M., Fukuda M., Ogihara T., *Diabetologia*, 1998, Vol. 41, pp. 47–53.

12. Mugregor L.C., Matschinsky F.M., *J. BioChem*, 1986, Vol. 26, pp. 4052–4058.

13. National Health and Medical Research Council. Management of Diabetic Retinopathy: Clinical Practice Guidelines. Canberra, NHMRC, 2008.

14. Abu E.A., Ahmed M.A.M., Hani S., Ola M.S., *Expert. Rev. Ophthalmol.*, 2009, Vol. 4, pp. 627–647.

15. Mubert C., Moust AM, Corrol P, Soubrier F., *JBC.*, 1991, Vol. 266, pp. 15377–15383.

16. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group, *N. Engl. J. Med.*, 1993, Vol. 329, pp. 977–986.

17. Tischer E., Mitchell R., Harlman T., Silva M., Gospodarowicz D., Fiddes J.C., et al., *J. Biol. Chem.*, 1991, Vol. 266, pp. 11947–11954.

18. Klein R., Klein B.E., Moss S.E., Davis M.D., DeMets D.L., *Arch Ophthalmol.*, 1984, Vol. 102, pp. 527–532.

19. Barleon B., Siemester G., Marting-Barong, Weindel K., Herd-zog C., Marme D., et al., *Cancer Res.*, 1997, Vol. 57, pp. 5421–5425.

20. Qiu M., Xiong W., Liao H., Li F., *Gene*, 2013, Vol. 518, Is. 2, pp. 310–315.

21. Zhou J.B., Yang J.K., *Act. Diabetol.*, 2010, Vol. 47, no. 1, pp. 187–193.

#### Рецензенты:

Кунин В.Д., д.м.н., зав. глаукомным кабинетом поликлинического отделения, ГБУ РО «КБ им. Н.А. Семашко», г. Рязань;

Узбеков М.Г., профессор, д.м.н., заведующий лабораторией патологии мозга Московского НИИ психиатрии Минздрава РФ, г. Москва.

Работа поступила в редакцию 06.03.2014.