

Національна медична академія післядипломної освіти імені П. Л. Шупика
Міністерство охорони здоров'я України

Національна медична академія післядипломної освіти імені П. Л. Шупика
Міністерство охорони здоров'я України

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

Фролова Світлана Сергіївна

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


ДИСЕРТАЦІЯ

ЕФЕКТИВНІСТЬ ВИЗНАЧЕННЯ ФАКТОРІВ РИЗИКУ РОЗВИТКУ ВІКОВОЇ ДЕГЕНЕРАЦІЇ МАКУЛИ

в галузі знань 22 Охорона здоров'я за спеціальністю
222 Медицина (спеціалізація «Офтальмологія»)

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

 С.С. Фролова
(підпис, ініціали та прізвище здобувача)

Науковий керівник: Шаргородська Ірина Василівна, доктор медичних наук,
професор

АНОТАЦІЯ

Фролова С.С. Ефективність визначення факторів ризику розвитку вікової дегенерації макули. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії в галузі знань 22 Охорона здоров'я за спеціальністю 222 Медицина (спеціалізація «Офтальмологія»). – Національна медична академія післядипломної освіти імені П. Л. Шупика МОЗ України, Національна медична академія післядипломної освіти імені П. Л. Шупика МОЗ України, Київ, 2019.

Дисертація присвячена проблемі підвищення ефективності діагностики та прогнозування розвитку вікової дегенерації макули шляхом визначення ролі факторів ризику та генетичного поліморфізму генів-кандидатів (ARMS2, CFH та VEGFA) у її виникненні та прогресуванні у пацієнтів в Україні.

Вікова дегенерація макули (ВДМ) – найчастіша причина значної та незворотної втрати центрального зору у людей після 50-ти років, при цьому частота цього захворювання з віком різко зростає [1-2, 5, 8]. За даними літератури, ВДМ в розвинених країнах світу вражає близько 14 мільйонів людей і тенденції до зниження немає [7, 11, 13].

З кожним роком в Україні ситуація з поширеністю ВДМ незмінно погіршується [11, 15, 47]. Тривалий безсимптомний перебіг, несвоєчасне діагностування та швидка втрата центрального зору призводять до слабкозорості, зниження професійної працездатності з подальшою інвалідізацією по зору, що і зумовлює соціально–медичну важливість цієї патології [49, 68]. Так, за останні 20 років щорічна кількість пацієнтів з дегенеративними захворюваннями заднього полюса ока, які вперше визнані інвалідами по зору в Україні, збільшилася в 2,5 рази [47].

Вікова дегенерація макули, за даними багатьох авторів, відноситься до мультифакторіальних захворювань [29-33, 35, 45], провідними факторами ризику розвитку якої вважають вік, стать і спадковість. Дослідження останніх років продемонстрували сімейний, спадковий характер процесу розвитку ВДМ [18, 26, 27, 50, 72], але питання патогенезу захворювання остаточно не вирішені.

Для визначення ключових чинників, що впливають на основні ланки і механізми розвитку ВДМ, найбільш доцільно провести аналіз і узагальнення відомих на сьогодні факторів ризику, використовуючи новітні технологічні підходи та сучасні діагностичні прилади і достовірні методики. Останнім часом проблема вивчення ролі генетичних чинників у розвитку основної інвалідизуючої очної патології, вікової дегенерації макули стала все більше привертати увагу дослідників [60, 61]. Існують припущення, що одна з основних ланок патогенезу ВДМ – первинні генетичні дефекти [55, 57, 73, 78, 79]. Але, враховуючи особливості розвитку ВДМ та складність виявлення генетичних мутацій, на сьогодні ще продовжуються дослідження в галузі вивчення впливу генів на розвиток захворювання.

Загалом, тактика і динаміка наукових досліджень щодо вивчення патогенезу вікової макулярної дегенерації на сучасному етапі характеризуються неоднорідністю, відсутністю систематизації і конструктивного підходу. Відкриття і вивчення нових ланок патогенезу ВДМ, враховуючі фактори ризику та генетичні чинники, визначають сучасний напрямок наукових досліджень та дозволять розробити оптимальні схеми лікування даної патології та знизити відсоток слабкості та сліпоти при ураженнях сітківки [31, 37, 55, 61, 73].

Дослідження ролі генетичних чинників в розвитку ВДМ, а саме поліморфізму генів ARMS2, rs 10490924; CFH, rs800292; VEGFA, rs2010963 та rs699947 в Україні не проводили. Тому актуальним і доцільним на сучасному етапі розвитку вітчизняної офтальмологічної науки є визначення факторів ризику розвитку вікової дегенерації макули та визначення можливих зв'язків з генетичними чинниками, обґрунтування їх діагностичної та прогностичної ролі.

Матеріалом для дослідження слугувало 182 пацієнта. Серед обстежених було 70 чоловіків (38%) і 112 жінок (62%). Вік пацієнтів від 45 до 89 років. Всі пацієнти, які проходили обстеження в рамках даної дисертаційної роботи, були розподілені на три групи. Група I – 38 пацієнтів, без вікової дегенерації макули на обох очах (група порівняння). Група II – 64 пацієнта з віковою макулопатією або віковою дегенерацією макули, сухою формою на одному чи на обох очах («суха» форма)

(основна група). Група III – 80 пацієнтів з віковою дегенерацією макули: трансудативним відшаруванням пігментного епітелію сітківки, ексудативною формою, субретинальним фіброзом на одному чи на обох очах («волога» форма) (основна група).

При виконанні даного дисертаційного дослідження основними завданнями роботи були: вивчення ролі поліморфізму генів-кандидатів (ARMS2, rs 10490924; CFH, rs800292; VEGFA, rs2010963 та rs699947) в схильності до виникнення та прогресування різних стадій вікової дегенерації макули в Україні. Крім того ми визначали зв'язок поліморфізму відібраних нами генів-кандидатів і факторів ризику, таких як: вік, стать, рефракція, тривалість хвороби, звичка до паління, наявність ожиріння (показник індексу маси тіла), рівень артеріального тиску, біохімічні показники (рівень глікемії, холестерину, тригліцеридів, фракцій ліпопротеїдів, індекс атерогенності, формені елементи крові, гемоглобін та ШОЕ) в схильності до виникнення вікової дегенерації макули. Шляхом використання отриманих результатів ми прагнули розробити математичну модель прогнозування розвитку та прогресування вікової дегенерації макули з урахуванням генетичного поліморфізму і факторів ризику, яку можливо було би включити в методику активного медичного менеджменту хворих при амбулаторно-поліклінічній допомозі з визначенням індивідуального ризику розвитку і прогресування захворювання з призначенням індивідуальних профілактичних заходів як у самих хворих, так і у членів їх сімей.

Об'єктом дослідження в роботі була вікова дегенерація макули (ВДМ), яка згідно з МКХ-10 визначалася як дегенерація макули та заднього полюса (код H35.3).

У ході дослідження були використані загальноклінічні офтальмологічні, інструментальні, клініко-лабораторні, генетичні та статистичні методи дослідження.

Завдяки проведенню даного дисертаційного дослідження вперше в Україні визначено патогенетичну значущість поліморфізмів ARMS2, rs 10490924; CFH, rs800292; VEGFA, rs2010963 та rs699947 та встановлено асоціацію з розвитком вікової дегенерації макули для поліморфних генотипів та алелей rs10490924 гена ARMS2, rs800292 гена CFH та rs2010963 гена VEGFA ($p_{(x^2)} < 0,04$), тоді як генотипи та алелі поліморфізму rs699947 гена VEGFA такої асоціації не мали ($P_{Fet} > 0,05$).

Крім того, встановлено асоціацію розвитку «сухої» форми ВДМ та патогномонічних змін морфологічної структури макули для алелей rs2010963 гена VEGFA ($\chi^2=4,28$; $p=0,04$).

Дослідження встановили, що при стратифікації за наявністю «вологої» форми ВДМ в Україні сила зв'язку збільшувалася для поліморфізмів rs10490924 гена ARMS2 ($p_{Fet}=0,03$) і rs800292 гена CFH ($p_{\chi^2}<0,001$). Для поліморфізму rs2010963 гена VEGFA зв'язок з «вологою» формою мав місце і для алелей ($p_{(\chi^2)}=0,005$), і для генотипів ($p_{(\chi^2)}=0,01$). Крім того, мінорний генотип А/А поліморфізму rs699947 гена VEGFA виявив асоціацію тільки з «вологою» формою ВДМ ($p_{\chi^2}=0,02$).

Вперше створено математичну модель прогнозування генетичної схильності та ймовірного ризику розвитку «вологої» форми ВДМ з урахуванням отриманих результатів асоціації між генотипами та алелями поліморфізмів: rs10490924 гена ARMS2, rs800292 гена CFH, rs2010963 гена VEGFA і rs699947 гена VEGFA та маркерами морфологічної структури макули у хворих на «вологу» форму вікової дегенерації макули.

Встановлено, що при порівнянні груп з «сухою» та «вологою» ВДМ між собою саме поліморфізми rs800292 гена CFH та rs699947 гена VEGFA визначали форму ВДМ. «Суха» форма була асоційована з наявністю предкових алелей (G та C), тоді як «волога» форма – з наявністю мінорних алелей (в обох випадках А). Виявлено, що при «сухій» формі ВДМ поліморфізми rs10490924 гена ARMS2 ($p(F)<0,02$) і rs800292 гена CFH ($p(F)<0,04$) мали патогенетичне значення (ризикове по виникненню до ВДМ), оскільки сприяли гіперхолестеринемії, атерогенній дисліпідемії та згущенню крові.

Крім того, нами було розроблено математичну модель прогнозування віку розвитку ВДМ, що включає гаплотип, ІМТ, стать та показники, які характеризують стиль життя та звички пацієнта, має високий ступень вірогідності та може бути використана для визначення індивідуального ризику розвитку ВДМ.

Розширено наукову інформацію щодо впливу генотипів на ризик двобічного ураження при ВДМ. Вперше визначено, що мінорні гомозиготні генотипи всіх досліджених поліморфізмів суттєво збільшують ризик двобічного ураження при

ВДМ, тоді як предкові гомозиготи такий ризик суттєво зменшують. Особливо це стосувалося rs800292 гена CFH. Вперше визначено, що в Україні три генотипи (ARMS2 rs10490924, CFH rs800292 і VEGFA rs2010963) визначають розвиток ВДМ з безпомилковим прогнозом на рівні 78,0% та два генотипи (CFH rs800292 і VEGFA rs699947, $p=0,003$) визначають розвиток «волокої» форми ВДМ з безпомилковим прогнозом на рівні 63,9%. Вперше створено математичну модель прогнозування ймовірного ризику розвитку ВДМ з урахуванням гаплотипів.

Отримані результати дозволили розробити та впровадити в практику поліклінічних офтальмологічних відділень та стаціонарів закладів охорони здоров'я України методику активного медичного менеджменту хворих на вікову дегенерацію макули, яка включала використання формул розрахунку: ймовірних ступенів ризику розвитку ВДМ з урахуванням генетичних поліморфізмів, ризику розвитку «волокої» форми ВДМ, віку розвитку ВДМ, ймовірності розвитку ВДМ з урахуванням гаплотипів. Зазначена методика дозволяє лікарям-офтальмологам поліклінічних відділень і консультативних офтальмологічних кабінетів сформувати групи ризику по розвитку вікової дегенерації макули, визначити індивідуальний ризик розвитку захворювання, спланувати тактику подальшого лікування цієї категорії хворих та режим їх профілактики і диспансерного спостереження, прогнозувати ускладнення ВДМ, сформулювати для здорових пацієнтів необхідні рекомендації щодо стилю життя та необхідності застосування додаткових профілактичних заходів.

Публікації. Основні результати дисертаційної роботи викладені у 17 публікаціях. Опубліковано 5 статей, з них 1 – одноосібно. Зокрема 3 статті у наукових фахових виданнях України відповідно до переліку наукових фахових видань України, 1 – в закордонному наукометричному виданні, проіндексованому у базі даних Scopus, 1 – у періодичному науковому виданні іншої держави, яка входить Європейського Союзу, з наряду, за яким підготовлено дисертацію. Крім того опубліковано 11 тез доповідей – в матеріалах конгресів та науково-практичних конференцій, включаючи 3 іноземні, 1 – нововведення.

Ключові слова: вікова дегенерація макули, «суха» форма ВДМ, «волога» форма ВДМ, генотипи, алелі, поліморфізми rs 10490924 гена ARMS2, rs800292 гена CFH, rs2010963 і rs699947 гена VEGFA, діагностика, розвиток, прогнозування.

ANNOTATION

Frolova S.S. Effectiveness of determining the risk factors for the development of age-related macular degeneration. – Qualifying scientific work on the rights of manuscript.

Dissertation for obtaining a scientific degree of Doctor of Philosophy in the field of study 22 Healthcare by Program Subject Area 222 Medicine (Ophthalmology). – Shupyk National Medical Academy of Postgraduate Education of the Ministry of Healthcare of Ukraine, Kyiv, 2019.

The dissertation is devoted to the problem of increasing the effectiveness of diagnosis and predicting the development of age-related macular degeneration by determining the role of risk factors and genetic polymorphism of candidate genes (ARMS2, CFH and VEGFA) in its occurrence and progression within patients of the Ukrainian population.

Age-related macular degeneration (AMD) is the most common cause of significant and irreversible loss of central vision within people above the age of 50, with the incidence of this disease rising sharply with the age [1-2, 5, 8]. According to the literature in the developed world, about 14 million people are affected by AMD and there is no tendency of decrease [7, 11, 13].

In Ukraine the situation with AMD occurrence worsens every year [11, 15, 47]. Long asymptomatic course, untimely diagnosis, as well as speed and loss of central vision lead to poor vision and decrease of employability, followed by disability in terms of vision, which causes social and medical significance of this disease [49, 68]. Thus, over the past 20 years, the annual number of patients with degenerative diseases of the posterior eye pole, which were first recognized as having visual impairments in Ukraine, increased by 2.5 [47].

According to many authors age-related macular degeneration belongs to multifactorial diseases [29-33, 35, 45], among the leading risk factors for the development of which are age, gender and heredity. Studies of recent years have demonstrated the

family, hereditary nature of the development process of ADM [18, 26, 27, 50, 72], but the problem of the disease pathogenesis has not been fully settled yet.

To determine the key factors affecting the main links and mechanisms of development of the AMD it is of crucial importance to analyze and generalize the risk factors known today by means of the latest technological approaches, as well as modern diagnostic tools and reliable methods. Recently the problem of studying the role of genetic factors in the development of the main disabling eye pathology, age-related macular degeneration, has received an increasing attention from researchers [60, 61]. There is an assumption that one of the main components of the pathogenesis of AMD are primary genetic defects [55, 57, 73, 78, 79]. However, given the peculiarities of AMD development and the difficulty to identify genetic mutations, the studies on the influence of genes on the development of the disease have not been completed yet.

In general, the tactics and dynamics of scientific studies on the pathogenesis of age-related macular degeneration at the present stage are characterized by heterogeneity, as well as lack of systematization and constructive approach. The discovery and study of new pathogenesis links of AMD, with due attention paid to risk factors and genetic factors, define the modern direction of scientific research and will allow to develop the optimal schemes for treatment of this disease and reduce the percentage of poor vision and blindness in cases of the retina lesions [31, 37, 55, 61, 73].

The studies on the role of genetic factors in the development of AMD, namely the polymorphism of genes ARMS2, rs10490924; CFH, rs800292; VEGFA, rs2010963 and rs699947 have not been conducted in Ukraine. That is why it is relevant and reasonable at the current stage of development of domestic ophthalmic science to determine the risk factors for age-related macular degeneration and to define its possible links to genetic factors, as well as to justify their diagnostic and prognostic role.

The study included 364 eyes (182 patients). Among the surveyed there were 70 men (38%) and 112 women (62%). Age of patients ranged from 45 to 89. All patients, who were surveyed within the framework of this dissertation, were divided into three groups. Group I – (38 patients) without age-related macular degeneration on both eyes (comparison group). Group II – (64 patients) with age-related macular

degeneration, dry form, on one or both eyes ("dry" form) (main group). Group III – (80 patients) with age-related macular degeneration: transudative detachment of the pigmentary epithelium of the retina, exudative form, subretinal fibrosis on one or both eyes ("wet" form) (main group).

In course of this dissertation research the main task of the work was to study the role of polymorphism of candidate genes (ARMS2, rs10490924, CFH, rs800292, VEGFA, rs2010963 and rs699947) in the predisposition to the occurrence and progression of various stages of age-related macular degeneration in Ukraine. Furthermore, we determined the relationship between the polymorphisms of candidate genes selected by us and risk factors, such as age, gender, refraction, duration of the disease, smoking habits, obesity (body mass index), arterial hypertension, biochemical indexes (level of glucaemia, cholesterol, triglycerides, lipoprotein fractions, atherogenic index, blood cells, hemoglobin and ESR) in predisposition to the occurrence of age-related macular degeneration. On the basis of these results, we sought to develop a mathematical model for predicting the development and progression of age-related macular degeneration, with due regard taken to the genetic polymorphism and risk factors, which could be included in the method of active medical management of patients at the polyclinic stage, with the identification of the individual risk for the development and progression of the disease and with the appointment of individual preventive measures, both for the sick patients themselves and for the members of their families.

The object of this study was age-related macular degeneration (AMD), which according to ICD-10 was defined as degeneration of macula and posterior pole (code H35.3).

In course of study the general clinical ophthalmological, instrumental, clinical and laboratory, as well as genetic and statistical research methods were used.

This dissertation research gave the grounds to establish for the first time in Ukraine the pathogenic significance of polymorphisms ARMS2, rs10490924; CFH, rs800292; VEGFA, rs2010963 and rs699947 and to determine an association with the development of age-related macular degeneration for the polymorphic genotypes alleles rs10490924 of gene ARMS2, rs 800292 of gene CFH and rs2010963 of gene

VEGFA ($p_{\chi^2} < 0.04$), whereas genotypes and the alleles of the polymorphism rs699947 of gene VEGFA did not have such an association ($P_{Fet} > 0.05$). Furthermore, it was established that there is an association between the development of the "dry" form of AMD and the pathognomonic changes in the morphological structure of the maculae for the alleles rs2010963 of gene VEGFA ($\chi^2 = 4.28$; $p = 0.04$).

It was established in course of the studies that in case of stratification by the presence of the "wet" form of AMD in Ukraine the force of association increased for polymorphisms rs 10490924 of gene ARMS2 ($p_{Fet} = 0.03$) and rs800292 of gene CFH ($p_{\chi^2} < 0.001$). For polymorphism rs2010963 of gene VEGFA there was an association with the "wet" form for alleles ($p_{\chi^2} = 0.005$), as well as for genotypes ($p_{\chi^2} = 0.01$). Furthermore, the minor genotype A/A of polymorphism rs699947 of gene VEGFA revealed an association only with the "wet" form in AMD ($p_{\chi^2} = 0.02$).

For the first time a mathematical model was developed for predicting genetic predisposition and probable risk of "wet" form of AMD in the light of the results on the association between genotypes and alleles of polymorphisms: rs10490924 of gene ARMS2, rs800292 of gene CFH, rs2010963 of gene VEGFA and rs699947 of gene VEGFA and markers of the morphological structure of maculae within the patients with the "wet" form of age-related macular degeneration.

It was established that in course of comparing the groups with "dry" and "wet" AMD as between themselves the polymorphisms rs800292 of gene CFH and rs699947 of gene VEGFA determined the form of AMD. The "dry" form was associated with the presence of ancestral alleles (G and C) while the "wet" form – with the presence of minor alleles (A in both cases). It was established that in case of the "dry" form of AMD the polymorphisms rs10490924 of gene ARMS2 ($p(F) < 0.02$) and rs800292 of gene CFH ($p(F) < 0.04$) had a pathogenic significance (risk for the occurrence before AMD), since they contributed to hypercholesterolemia, atherogenic dyslipidemia and blood condensation.

Furthermore, we have developed a mathematical model for predicting the age of development of AMD, which includes the haplotype, BMI, gender and

indicators that characterize the lifestyle and habits of the patient; has a high degree of probability and can be used to determine the individual risk for the development of AMD.

Scientific information on the influence of genotypes on the risk of bilateral involvement in AMD has been extended. For the first time it has been determined that the minor homozygous genotypes of all investigated polymorphisms significantly increase the risk of bilateral involvement in AMD, whereas ancestral homozygotes significantly reduce this risk. This is especially true for rs800292 of gene CFH. It was established for the first time that there are three genotypes in Ukraine (ARMS 2 rs10490924, CFH rs800292 and VEGFA rs2010963) that determine the development of AMD with an error-free prediction of 78.0% and there are two genotypes (CFH rs800292 and VEGFA rs699947, $p = 0,003$) that determine the development of the "wet" form of AMD with an error-free prediction of 63.9%. The first mathematical model for predicting the probable risk for the development of AMD with due regard taken to haplotypes was created.

The results gave grounds to develop and introduce to the practice of polyclinic ophthalmologic departments and in-patient departments of health care institutions of Ukraine the method of active medical management of patients with age-related macular degeneration, which included the use of calculation formulas: probable risk degrees of AMD based on genetic polymorphisms, the risk of development of the "wet" form of AMD, age of development of AMD, probability of development of AMD based on haplotypes. The mentioned technique allows doctors-ophthalmologists of polyclinic departments and ophthalmologic counselling offices to form risk groups in terms of the development of age-related macular degeneration, determine the individual risk for developing the disease, plan the tactics for further treatment of patients in this category, and the regime for prevention of the disease and dispensary observation, predict the complications of AMD, formulate the necessary recommendations for lifestyle and the necessity to employ additional preventive measures for healthy patients.

Publications. The main results of the dissertation have been outlined in 17 publications. 5 articles have been published, 1 of them – individually. In particular, 3 articles have been published in scientific professional editions of Ukraine according to the list of scientific professional editions of Ukraine, 1 article – in foreign scientometric

publication indexed in the Scopus database, 1 article – in periodical scientific publication of another EU member state in the study field of the dissertation. In addition, 11 abstracts have been published in the materials of congresses and scientific and practical conferences, 3 of which were foreign, as well as 1 innovation.

Key words: age-related macular degeneration, "dry" form of AMD, "wet" form of AMD, genotypes, alleles, polymorphisms rs10490924 of gene ARMS2, rs800292 of gene CFH, rs2010963 and rs699947 of gene VEGFA, diagnosis, development, prediction.

Список публікацій здобувача:

1. Shargorodska I. V. New possibilities for determining the risk factors for the development of age-related macular degeneration / I. V. Shargorodska, S. S. Frolova // East European Scientific Journal. – Warsaw, Poland. – 2019. – Vol.6. #5(45). – P.47-52.
2. Фролова С. С. Прогнозування розвитку ВМД в залежності від клінічних та генетичних показників, визначених при первинному скринінгу / С. С. Фролова // Вісник проблем біології і медицини. – 2017. – Полтава. – Випуск 3, Т.1 (137). – С.243-251.
3. Фролова С. С. Нові можливості активного медичного менеджменту хворих на ВМД на поліклінічному етапі / С. С. Фролова, І. В. Шаргородська, С. О. Риков // Архів офтальмології України. – 2017. – Київ. – Т.5, №2 (8). – С.44-53.
4. Фролова С. С. Зв'язок поліморфізмів генів ARMS2 (rs10490924), CFH (rs800292), VEGFA (rs2010963 та rs699947) з наявністю «сухої» форми ВМД у хворих української популяції / С. С. Фролова, С. О. Риков, І. В. Шаргородська // Збірник наукових праць співробітників НМАПО імені П.Л. Шупика – 2017. – Київ. – Випуск 27. – С.307-320.
5. Рыков С. А. Генетические аспекты развития возрастной макулярной дегенерации в украинской популяции / С. А. Рыков, И. В. Шаргородская, С. В. Выдыборец, С. В. Зяблицев, С. С. Фролова // Международный научно-

- практический журнал. Офтальмология. Восточная Европа. – 2017. – Минск. – Т.7, №2. – С.129-143.
6. Шаргородська І. В. Ефективність визначення факторів ризику розвитку вікової дегенерації макули / І. В. Шаргородська, С. С. Фролова // Науково-практична конференція офтальмологів України «Шевальовські читання`19», 20-21 червня 2019 р., Запоріжжя: матеріали. – Запоріжжя, 2019. – С.56-59.
 7. Frolova S. S. New possibilities active medical management of patients with AMD / S. S. Frolova, S. O. Rykov, I. V. Shargorodska // Tbilisi International Ophthalmology Conference (ТІОС 2018). – 2018. – Tbilisi. – P.3-4.
 8. Фролова С. С. Ефективність визначення факторів ризику розвитку вікової дегенерації макули / С. С. Фролова, І. В. Шаргородська // The second international scientific congress of scientists of Europe as part of II International Scientific Forum of Scientists «East - West» (Austria – Russia – Kazakhstan – Canada – Ukraine – Czech Republic), 10-11 May 2018., Vienna, Austria: abstract book. – Vienna, 2018. – P.667-281.
 9. Риков С. О. Нові можливості прогнозування розвитку вікової макулярної дегенерації в залежності від генетичних та клініко-лабораторних показників / С. О. Риков, І. В. Шаргородська, С. С. Фролова // Науково-практична конференція офтальмологів Чернівецької, Івано-Франківської, Тернопільської, Хмельницької областей України «Актуальні питання офтальмології», 20-21 вересня 2017 р., Чернівці: матеріали. – Чернівці, 2017. – С.182-183.
 10. Фролова С. С. Дослідження значимості асоціації поліморфізму гена CFH (rs800292) з розвитком вікової макулярної дегенерації / С. С. Фролова, С. О. Риков, І. В. Шаргородська, С. В. Зябліцев // Підсумкова науково-практична конференція, присвячена 60-річчю ТДМУ «Здобутки клінічної та експериментальної медицини», 14 червня 2017 р., Тернопіль: матеріали. – Тернопіль, 2017. – С.209-210.
 11. Frolova S. The influence of ARMS2/LOC387715 A69S gene polymorphism on the development of age-related macular degeneration / S. Frolova, S. Rykov, S. Ziablitsev, I. Shargorodska // Congress of the European Society of Ophthalmology

- (SOE), 10–13 June, 2017, Barcelona, Spain: abstract book EP-RET-577. – Barcelona, 2017. – P.166.
- 12.Риков С. О. Асоціація поліморфізму гена ARMS2/LOC387715 A69S з розвитком вікової макулярної дегенерації / С. О. Риков, І. В. Шаргородська, С. В. Зябліцев, С. С. Фролова // Науково-практична конференція офтальмологів з міжнародною участю «Філатовські читання», 25-26 травня 2017 р., Одеса: матеріали. – Одеса, 2017. – С.123-124.
 - 13.Фролова С. С. Оптимізація алгоритму діагностики хворих на вікову макулярну дегенерацію / С. С. Фролова, С. О. Риков, І. В. Шаргородська // Научно-практична конференція з міжнародною участю «Актуальні питання сімейної медицини та перспективи її розвитку в рамках Всесвітнього дня сімейного лікаря», 18-19 травня 2017 р., Київ: матеріали, додаток журналу «Здоров'я суспільства № 1-2-2017 (спеціальний випуск). – Київ, 2017. – С.114.
 - 14.Фролова С. С. Асоціація поліморфізму гена VEGFA (rs699947) з розвитком вікової макулярної дегенерації / С. С. Фролова, С. О. Риков, І. В. Шаргородська, С. В. Зябліцев // 40-ва ювілейна науково-практична конференція молодих вчених НМАПО імені П. Л. Шупика з міжнародною участю, присвячена Дню науки «Інновації в медицині: досягнення молодих вчених», 18 травня 2017 р., Київ: матеріали. – Київ, 2017. – С.117-119.
 - 15.Фролова С. С. Асоціація поліморфізму гена CFH (rs800292) з розвитком вікової макулярної дегенерації / С. С., Фролова, С. О. Риков, І. В. Шаргородська, С. В. Зябліцев // IV науково-практична конференція «Інновації в нейрохірургії» в рамках VI Міжнародного медичного конгресу «Впровадження сучасних досягнень медичної науки в практику охорони здоров'я України» на платформі VIII Міжнародного медичного форуму «Інновації в медицині – здоров'я нації», 25-26 квітня 2017 р., Київ: матеріали. – Київ, 2017. – С.56.
 - 16.Фролова С. С. Нові підходи до діагностики вікової макулярної дегенерації / С. С. Фролова, С. О. Риков, І. В. Шаргородська, С. В. Зябліцев // Міжнародна науково-практична конференція до всесвітнього дня здоров'я, 6-7 квітня 2017 р., Київ: матеріали. – Київ, 2017. – С.139-141.

- 17.Фролова С. С. Спосіб прогнозування віку розвитку вікової макулярної дегенерації в залежності від клінічних та генетичних показників / С. С. Фролова, С. О. Риков, І. В. Шаргородська // Перелік наукової (науково-технічної) продукції призначеної для впровадження досягнень медичної науки у сферу охорони здоров'я №268/4/17 – випуск 4. – Київ. – 2018. – С.249-250.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ	19
ВСТУП.....	21
Список використаних джерел у вступі	34
РОЗДІЛ 1. МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ	43
1.1. Систематизація проявів та класифікації вікової дегенерації макули	43
1.2. Матеріал клінічних досліджень.....	47
1.3. Клінічна характеристика досліджуваних груп пацієнтів	50
1.4. Клінічні методи дослідження	54
1.4.1. Загальноклінічні офтальмологічні методи	55
1.4.2. Загальноклінічні та біохімічні лабораторні методи дослідження	61
1.4.3. Молекулярно-генетичні методи дослідження	62
1.5. Статистична обробка результатів дослідження	65
1.6. Дотримання етичних норм дослідження	66
Резюме до розділу 1	67
Список використаних джерел у розділі 1	68
РОЗДІЛ 2. АНАЛІЗ ЧИННИКІВ ВПЛИВУ НА РОЗВИТОК ВІКОВОЇ ДЕГЕНЕРАЦІЇ МАКУЛИ	73
2.1. Вивчення зв'язку генетичного поліморфізму з розвитком ВДМ	73
2.1.1. Сучасні дослідження генів-кандидатів схильності до ВДМ	73
2.1.2. Вивчення зв'язку поліморфізму генів ARMS2, rs 10490924; CFH, rs800292; VEGFA, rs2010963 та rs699947 з розвитком ВДМ	83
2.1.2.1. Зв'язок поліморфізму rs10490924 гена ARMS2 з розвитком ВДМ	83
2.1.2.2. Зв'язок поліморфізму гена rs 800292 CFH з розвитком ВДМ	86
2.1.2.3. Зв'язок поліморфізму гена rs 2010963 VEGFA з розвитком ВДМ	91
2.1.2.4. Зв'язок поліморфізму гена rs 699947 VEGFA з розвитком ВДМ	95
2.2. Вивчення зв'язку клініко-лабораторних показників з розвитком ВДМ	98
2.3. Вивчення зв'язку офтальмологічних показників з розвитком ВДМ	100
Резюме до розділу 2	104
Список використаних джерел у розділі 2	106

РОЗДІЛ 3. ДІАГНОСТИЧНА ЗНАЧИМІСТЬ ДОСЛІДЖУВАНИХ ЧИННИКІВ В РОЗВИТКУ «СУХОЇ» ФОРМИ ВІКОВОЇ ДЕГЕНЕРАЦІЇ МАКУЛИ	120
3.1 Визначення ролі генетичного поліморфізму у розвитку «сухої» форми ВДМ	120
3.1.1. Зв'язок поліморфізму rs10490924 гена ARMS2 з розвитком «сухої» форми ВДМ.....	120
3.1.2. Зв'язок поліморфізму rs800292 гена CFH з розвитком «сухої» форми ВДМ	122
3.1.3. Зв'язок поліморфізму rs2010963 гена VEGFA з розвитком «сухої» форми ВДМ	124
3.1.4. Зв'язок поліморфізму rs699947 гена VEGFA з розвитком «сухої» форми ВДМ	126
3.2. Визначення значущості клініко-лабораторних показників в розвитку «сухої» форми ВДМ	128
3.3. Вивчення ролі офтальмологічних показників у розвитку «сухої» форми ВДМ	130
Резюме до розділу 3	134
Список використаних джерел у розділі 3	135
РОЗДІЛ 4. ДІАГНОСТИЧНА ЗНАЧИМІСТЬ ДОСЛІДЖУВАНИХ ЧИННИКІВ У РОЗВИТКУ «ВЛОГОЇ» ФОРМИ ВІКОВОЇ ДЕГЕНЕРАЦІЇ МАКУЛИ	137
4.1 Визначення ролі генетичного поліморфізму у розвитку «вологої» форми ВДМ	137
4.1.1. Зв'язок поліморфізму rs10490924 гена ARMS2 з розвитком «вологої» форми ВДМ	141
4.1.2. Зв'язок поліморфізму rs800292 гена CFH з розвитком «вологої» форми ВДМ	144
4.1.3. Зв'язок поліморфізму rs2010963 гена VEGFA з розвитком «вологої» форми ВДМ	149

4.1.4. Зв'язок поліморфізму rs699947 гена VEGFA з розвитком «волової» форми ВДМ	152
4.2. Визначення значущості клініко-лабораторних показників в розвитку «волової» форми ВДМ.....	156
4.3. Вивчення ролі офтальмологічних показників в розвитку «волової» форми ВДМ	158
Резюме до розділу 4	162
Список використаних джерел у розділі 4	165
РОЗДІЛ 5. ОСОБЛИВОСТІ АКТИВНОГО МЕНЕДЖМЕНТУ ХВОРИХ НА ВІКОВУ ДЕГЕНЕРАЦІЮ МАКУЛИ ДЛЯ ПРОФІЛАКТИКИ ЗАХВОРЮВАННЯ ПРИ АМБУЛАТОРНО-ПОЛІКЛІНІЧНІЙ ДОПОМОЗІ ...	171
5.1. Визначення факторів ризику розвитку ВДМ з ураженням одного або обох очей	175
5.2. Математичне моделювання ймовірності розвитку ВДМ	177
5.3. Математичне моделювання ймовірності розвитку «волової» форми ВДМ .	181
5.4. Математична модель прогнозування «віку розвитку ВДМ»	185
5.5. Розподіл гаплотипів вивчених поліморфізмів у групах хворих та їх зв'язок з ВДМ та її формами	191
5.6. Модель активного менеджменту хворих на ВДМ при амбулаторно-поліклінічній допомозі	199
Резюме до розділу 5	201
Список використаних джерел у розділі 5	203
РОЗДІЛ 6. АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ ..	209
Список використаних джерел у розділі 6	226
ВИСНОВКИ	231
ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ	233
ДОДАТКИ	235
Додаток №1. Акти впровадження результатів роботи у науковій та практичній діяльності	235
Додаток №2. Список публікацій здобувача	242

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

ARMS2	- age-related maculopathy susceptibility 2, ген схильності до вікової макулопатії 2
AMD	- age-related macular degeneration, вікова дегенерація макули
ВДМ	- вікова дегенерація макули
ВІ	- Confidence Interval, 5% вірогідний інтервал
ВОТ	- внутрішньоочний тиск
ДЗН	- диск зорового нерва
ЕДТА	- етилендіамінтетраацетат
ІА	- індекс атерогенності
ІМТ	- індекс маси тіла
ЛПВЩ	- ліпопротеїди високої щільності
ЛПНЩ	- ліпопротеїди низької щільності
ЛПДНЩ	- ліпопротеїди дуже низької щільності
НЕС	- нейроепітелій сітківки
ОКТ	- оптична когерентна томографія
ПЛР	- полімеразна ланцюгова реакція
ПЕС	- пігментний епітелій сітківки
СДМ	- стареча дегенерація макули
СНМ	- субретинальна неоваскулярна мембрана
ТГ	- тригліцериди
Хол	- холестерин
ЦТС	- центральна товщина сітківки
ШОЕ	- швидкість осідання еритроцитів
АpoE	- ген аполіпопротеїн Е
CFH	- complement factor H, ген фактору комплементу
CFB / C2	- complement factor B, ген фактору комплементу та компонент комплементу 2, C2
IL-8	- ген інтерлейкін-8
HTRA1	- ген high temperature requirement serine peptidase A1

HMCN1 / FBLN6	- ген геміцентрін-1 / фібулін-6
FBLN5	- ген фібулін-5
OR	- Odds Ratio, відношення шансів
PLEKHA1	- ген pleckstrin homology domain containing A1
p (MWU)	- Man-Whitney U-test, вірогідність відмінностей між групами згідно критерію Манна-Вітні
p_{Fet}	- статистична значущість за точним методом Фішера
TLR3	- ген toll-like receptor 3
VEGFA	- vascular endothelial growth factor A, ген судинний ендотеліальний фактор росту A
χ^2	- критерій ксі-квадрат

ВСТУП

Актуальність теми. Вікова дегенерація макули (ВДМ) – найчастіша причина значної та незворотної втрати центрального зору у людей після 50-ти років, при цьому частота цього захворювання з віком різко зростає [1-6]. За даними літератури, ВДМ в розвинених країнах світу вражає близько 14 мільйонів людей [7-13]. За прогнозами експертів Всесвітньої організації охорони здоров'я до 2025 року 25% всього населення Землі захворіють на ВДМ [14]. Останнє десятиріччя ознаменовано зростанням захворюваності та вихід на первинну інвалідність осіб молодого працездатного віку з цією патологією [15-17].

З кожним роком в Україні ситуація з поширеністю ВДМ незмінно погіршується [18]. У загальній структурі сліпоти понад 60% припадає на дистрофічні зміни сітківки, серед яких ВДМ займає далеко не останнє місце [19]. Тривалий безсимптомний перебіг хвороби, несвоєчасна діагностика та швидка втрата центрального зору призводять до слабкозорості, зниження професійної працездатності з подальшою інвалідізацією по зору, що і зумовлює соціально-медичну значущість цієї патології [18]. Так, за останні 20 років щорічна кількість пацієнтів з дегенеративними захворюваннями заднього полюса ока, які вперше визнані інвалідами по зору, в Україні збільшилася в 2,5 рази [20, 21].

Вікова дегенерація макули, за даними багатьох авторів, належить до мультифакторіальних захворювань [18, 22-30], провідними факторами ризику розвитку якого вважають вік, стать і спадковість.

Згідно з сучасними уявленнями [30-32], одним з головних факторів ризику розвитку ВДМ є вік, який безпосередньо впливає на частоту виникнення захворювання. Як показали результати досліджень [33], захворюваність на ВДМ протягом 10 років спостереження збільшилась з 4,2% у пацієнтів віком 43–54 років до 46,2 % серед осіб 75 років та старших. Але загальновідомі методи діагностики, які найчастіше використовують при діагностиці ВДМ, на жаль, не дозволяють точно визначити початковий момент її виникнення, а поширені методи лікування спрямовані здебільшого на уповільнення патологічного процесу. Дослідження останніх років продемонстрували сімейний, спадковий характер процесу розвитку

ВДМ [34, 35]. Так, ризик розвитку макулярної дегенерації складав 50% для людей, що мають спадкові захворювання у порівнянні з 12% для тих, у кого не було спадковості по захворюванню [36, 37]. В той же час інші дослідники показали, що сімейний анамнез був важливим фактором ризику лише у 20 % хворих на ВДМ [38, 39], але визначалося триразове зростання ризику розвитку ВДМ, якщо захворювання зустрічалось в першому поколінні родичів. Крім того, ряд досліджень у монозиготних близнюків [40] показали, що вклад спадковості у виникнення ВДМ оцінюється на рівні між 45% і 70% [41]. В той же час, вклад локусів, відомих на сьогодні, складає приблизно 55% [34]. Таким чином, сучасні погляди на роль генетичних поліморфізмів у ризиках розвитку ВДМ недостатньо вивчені і суперечливі. Для визначення ключових чинників, що впливають на основні ланки і механізми розвитку ВДМ, найбільш доцільно провести аналіз і узагальнити відомі на сьогодні фактори ризику, використовуючи новітні технологічні підходи та сучасні діагностичні прилади і достовірні методики.

Так, потребують подальшого вивчення питання ролі таких факторів ризику як, стать, етнічний фактор, рефракція, паління, офтальмологічні втручання, надлишкова дія сонячного світла і іонізуючого випромінювання, їжа та системні фактори в ключових ланках патогенезу вікової дегенерації макули. Деякі дослідження в цьому напрямку свідчать, що найбільш схильними до розвитку цього захворювання є жінки [38, 42], курці [30, 43], представники білої раси [44, 45], люди європейського походження [46], гіперметропи [47], які перенесли оперативні втручання на очах [48], фотоуражені [47, 49] та особи, які мають захворювання серцево-судинної системи (атеросклероз і артеріальна гіпертензія), незбалансоване харчування і гіперліпідемію [30, 50-52]. Механізми, що лежать в основі цих явищ, досі невідомі, проте існує теорія, згідно з якою меланін захищає клітини ПЕС від накопичення ліпофусцину, який є маркером клітинного старіння і грає одну з провідних ролей в патогенезі захворювання [53, 54]. Послаблення чи порушення будь-якої ланки збалансованої системи антиоксидантного захисту та світлофільтруючої системи ока веде до дистрофічних змін в сітківці [49]. Встановлено, що підвищене вживання холестерину, як і куріння, збільшує ризик розвитку ВДМ удвічі [51], при клінічно

вираженому атеросклерозі ризик ураження макулярної області зростає в утричі, а при наявності гіпертонічної хвороби – у 7 разів. Наявність атеросклеротичних бляшок в загальній сонній артерії збільшують частоту народження ВДМ в 2,5 рази, а бляшки в ділянці біфуркації сонних артерій – в 4,7 рази [51].

Останнім часом у наукових дослідженнях розглядаються чотири основні теорії патогенезу ВДМ [24]: первинні генетичні дефекти; первинне старіння ретинального пігментного епітелію і мембрани Бруха; «окислювальний стрес» та патологічні зміни гемодинаміки очного яблука, які викликані порушенням кровообігу. Однак лікування ВДМ на сьогодні залишається вкрай складним завданням, оскільки загальновідомий і широкодоступний для практикуючого офтальмолога спектр діагностичних заходів дозволяє визначити захворювання вже на розвиненій стадії. Недостатність знань щодо більшості механізмів розвитку ВДМ знижує можливість вибору та визначення плану доклінічної діагностики захворювання, достовірного обґрунтування адекватних методів лікування цієї категорії пацієнтів.

Лишаються нез'ясованими процеси фізіологічного старіння, що сприяють розвитку ВДМ, а також питання про те, чи є ВДМ самостійною чи супутньою процесам старіння патологією [25, 55-57]. Рівень макулярної пігментації також відіграє велику роль у розвитку ВДМ [58, 59], оскільки макулярний пігмент є єдиним антиоксидантом сітківки, що працює як активно (нейтралізуючи дію вільних радикалів), так і пасивно (обмежуючи блакитний колір, що викликає фотооксидантне ураження та активуючи фільтр для блакитного кольору на дорецепторному рівні).

Останнім часом проблема вивчення ролі генетичних чинників у розвитку основної інвалідизуючої очної патології, вікової дегенерації макули, все більше привертає увагу дослідників [60, 61]. Однією з основних ланок патогенезу ВДМ вважають первинні генетичні дефекти [38]. Але на сьогодні ще не закінчені дослідження в галузі вивчення впливу генів на розвиток захворювання. Складність виявлення генетичних мутацій обумовлена особливостями розвитку ВДМ. Захворювання виникає у людей похилого віку, таким чином, досліджувати можливо лише одне покоління. Батьки, як правило, вже померли, а діти ще занадто молоді

для дебюту цього захворювання. Фенотипічна неоднорідність ВДМ також викликає труднощі. У генетичних дослідженнях неможливо однозначно встановити конкретний ген або групу генів, якщо в аналіз включено всі форми ВДМ. До теперішнього часу відомо, що за розвиток вікової дегенерації макули можуть відповідати близько 50 генів [62]. Однак достеменно не можна стверджувати, що більшість цих генів якимось чином пов'язані з розвитком ВДМ. Високовірогідна асоціація з розвитком і прогресуванням захворювання встановлена лише у кількох з них [63]. Для виявлення точної ділянки генома, що грає важливу роль в патогенезі ВДМ, використовувалися різні підходи [62]. Первісна стратегія полягала у вивченні генів, які брали участь у розвитку спадкових макулярних дистрофій, що мали подібні до ВДМ клінічні прояви [38, 62, 63]. Але результати щодо наявності асоціацій поліморфізмів цих генів з розвитком ВДМ досить суперечливі. Досліджень щодо визначення критеріїв формування груп ризику по розвитку ВДМ в Україні на сьогодні не проведено. Залишаються невизначеними також чинники переходу однієї форми ВДМ в іншу.

Останнім часом важливу роль в патогенезі ВДМ відводять окислювальному стресу [64]. Експериментальні та клінічні дослідження підтверджують важливість локальних змін гомеостазу з розвитком метаболічного ацидозу, обумовленого активацією вільнорадикальних процесів, інтенсифікацією перекисного окислювання ліпідів [65-67]. Продукти метаболізму, що накопичуються в тканинах, шкідливо діють на клітини хоріоретинальних структур [67-70]. Крім того, дуже важлива роль в патогенезі ВДМ відводиться запаленню [71-75]. Зміни локального імунітету, які виявляються у хворих ВДМ, свідчать про формування та персистенцію вогнища хронічного запалення в задньому полюсі очного яблука [76, 77]. Наявність дисбалансу системних імунорегуляторних механізмів ускладнює перебіг патологічного процесу [78]. Істотна роль у розвитку патологічних змін в макулярній ділянці відводиться і біологічно активним речовинам (факторам росту), що стимулюють міграцію клітин, їх адгезію і проліферацію, продукцію інших активаторів росту, а також неоваскулогенез [25, 77, 79-81]. Але визначені фактори не були систематизовані в рекомендації і не знайшли відображення в алгоритмах

діагностики та лікування пацієнтів на ВДМ. На сьогодні в Україні відсутні єдині уніфіковані клінічні протоколи надання медичної допомоги при цій патології, що істотно знижує рівень надання спеціалізованої офтальмологічної допомоги.

Слід зазначити, що значну роль у розвитку ВДМ відіграють загальні і місцеві судинні захворювання, що призводять до погіршення трофічних процесів в оці. Існує гемодинамічна модель розвитку ВДМ [47]. Ця модель передбачає, що індукована форма вікової дегенерації макули може залежати від відносної резистентності очного та мозкового кровообігів. Зменшення перфузії, що веде до атрофічної форми ВДМ, є результатом стану, коли резистентність мозкового кровообігу відносно нижча, ніж судинної оболонки. Навпаки, відносне збільшення гідростатичного тиску в хоріоїдальних судинах веде до ексудативної форми захворювання [47]. Але і досі роль поліморфізмів генів, які індукують розвиток загальних і місцевих судинних захворювань, зміни локального імунітету, стійкість до того чи іншого лікування, так звана генрезистентність до застосування анти-VEGF терапії, залишається невизначеною.

Значна роль в патогенезі дистрофічних змін сітківки відводиться атеросклерозу [67-69]. У багатьох хворих ВДМ виявляються біохімічні порушення, властиві атеросклерозу: гіперхолестеринемія, підвищений рівень β -ліпопротеїнів, збочений лецитин-холестериновий індекс, ураження фіброзно-еластичних тканин ока і мембрани Бруха при ВДМ ідентичні характеру ураження м'язово-еластичних артерій при атеросклерозі. В той же час експериментальні і клінічні дослідження ряду авторів показали відсутність прямої залежності між виразністю загального атеросклерозу і інтенсивністю дистрофічних змін в сітківці [25]. У деяких роботах йдеться про негативний вплив як гіпертонічної, так і гіпотонічної хвороб на формування дистрофічних змін в макулярній ділянці, які, провокуючи судинні стази, значно порушують гемодинаміку на рівні мікроциркуляторного русла сітківки і хоріоїдеї [25, 55]. Однак дотепер не визначено ключові показники ліпідограми у пацієнтів на ВДМ, які повинні бути враховані під час поліклінічного скринінгу пацієнтів з метою визначення ризиків розвитку і прогресування цієї патології та призначення необхідних попереджувальних і профілактичних заходів.

В цілому тактика і динаміка наукових досліджень патогенезу ВДМ на сучасному етапі характеризуються неоднорідністю, відсутністю систематизованого і конструктивного підходу. Відкриття і вивчення нових ланок патогенезу ВДМ, враховуючі фактори ризику та генетичні чинники, визначають сучасний напрямок наукових досліджень, дозволять розробити оптимальні схеми лікування даної патології та знизити відсоток слабкозорості та сліпоти при ураженнях сітківки [22].

Дослідження ролі генетичних чинників в розвитку ВДМ, а саме поліморфізму генів ARMS2, rs 10490924; CFH, rs800292; VEGFA, rs2010963 та rs699947 в Україні не проводили. Тому актуальним і доцільним на сучасному етапі розвитку вітчизняної офтальмологічної науки є визначення факторів ризику розвитку вікової дегенерації макули та визначення можливих зв'язків з генетичними чинниками, обґрунтування їх діагностичної та прогностичної ролі.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційну роботу виконано на кафедрі офтальмології Національної медичної академії післядипломної освіти імені П.Л. Шупика, вона є фрагментом планової науково-дослідної роботи «Клінічне та експериментальне обґрунтування діагностики, лікування та профілактики рефракційних, дистрофічних, травматичних і запальних захворювань органа зору» (№ держ. реєстрації 0116U002821) - термін виконання 2016–2020 рр., в якій автор була співвиконавцем і виконувала фрагменти дослідження.

Мета дослідження – підвищити ефективність діагностики та прогнозування розвитку вікової дегенерації макули шляхом визначення ролі факторів ризику і генетичного поліморфізму генів-кандидатів (ARMS2, CFH та VEGFA) у її виникненні і прогресуванні у хворих в Україні та розробити методику активного медичного менеджменту цієї патології при амбулаторно-поліклінічній допомозі.

Завдання дослідження:

1. Вивчити роль поліморфізму генів-кандидатів (ARMS2, rs 10490924; CFH, rs800292; VEGFA, rs2010963 та rs699947) щодо передумови виникнення вікової дегенерації макули у пацієнтів в Україні.

2. Дослідити вплив генетичного поліморфізму генів-кандидатів (ARMS2, rs 10490924; CFH, rs800292; VEGFA, rs2010963 та rs699947) на прогресування вікової дегенерації макули у хворих з різними стадіями в Україні.
3. Визначити зв'язок поліморфізму генів-кандидатів (ARMS2, rs 10490924; CFH, rs800292; VEGFA, rs2010963 та rs699947) і факторів ризику: віку, статті, рефракції, тривалості хвороби, звички до куріння, наявності ожиріння, артеріального тиску, біохімічних показників в схильності до виникнення вікової дегенерації макули.
4. Розробити математичну модель з урахуванням генетичного поліморфізму та факторів ризику для прогнозування розвитку та прогресування вікової дегенерації макули.
5. Розробити методику активного медичного менеджменту пацієнтів при амбулаторно-поліклінічній допомозі.

Об'єкт дослідження: вікова дегенерація макули (ВДМ) – згідно з МКХ-10 (код H35.3).

Предмет дослідження: поліморфізми генів кандидатів ARMS2, rs 10490924; CFH, rs800292; VEGFA, rs2010963 та rs699947 у хворих на ВДМ та пацієнтів групи порівняння; взаємозв'язок поліморфізмів генів кандидатів з офтальмологічними показниками: максимальною гостротою зору з корекцією, рефракцією, центральною товщиною сітківки, маркерами морфологічної структури макули; взаємозв'язок поліморфізмів генів кандидатів з клініко-лабораторними показниками: тривалістю ВДМ, наявністю супутньої соматичної патології, рівнями у крові глюкози, холестерину, тригліцеридів, фракцій ліпопротеїдів, індексом атерогенності, показниками загального аналізу крові; розробки методики прогнозування розвитку ВДМ та менеджменту пацієнтів; визначення індивідуального ризику прогресування вікової дегенерації макули та призначення індивідуальних профілактичних заходів як у самих хворих, так і у членів їх сімей.

Методи дослідження: офтальмологічні методи: візометрія, біомікроскопія, біомікроскопія сітківки з асферичними лінзами, пряма офтальмоскопія з оцінкою параметрів ДЗН та макули.

Інструментальні методи дослідження: тонометрія, рефрактометрія, оптична-когерентна томографія (ОКТ), флуоресцентна ангіографія сітківки.

Клініко-лабораторні методи: визначення глюкози, холестерину, тригліцеридів, фракцій ліпопротеїдів, індексу атерогенності, а також формених елементів крові, гемоглобіну та ШОЕ.

Генетичні методи: полімеразні ланцюгові реакції (ПЛР) у режимі реального часу з використанням автоматичного ампліфікатора PCR System 7500 Gene Amp® (Applied Biosystems, США) для аналізу і визначення поліморфних ДНК-локусів ARMS2, rs 10490924; CFH, rs800292; VEGFA, rs2010963 та rs699947.

Статистичні методи: статистичного нагляду, варіаційної статистики, множинного порівняння, кореляційного аналізу, метод побудови та аналізу логістичних моделей регресії, метод покрокового виключення, системного аналізу, епідеміологічний, соціальний, клінічний.

Наукова новизна дослідження. Розширено наукові знання про можливість застосування генетичних методів для підвищення ефективності діагностики, профілактики та лікування ВДМ. Вперше в Україні проведено аналіз патогенетичної значущості поліморфізмів ARMS2, rs 10490924; CFH, rs800292; VEGFA, rs2010963 та rs699947 та встановлено асоціацію з розвитком вікової дегенерації макули для поліморфних генотипів та алелей rs10490924 гена ARMS2, rs800292 гена CFH та rs2010963 гена VEGFA ($p_{(\chi^2)} < 0,04$), тоді як генотипи та алелі поліморфізму rs699947 гена VEGFA такої асоціації не мали ($P_{Fet} > 0,05$).

– Вперше встановлено асоціацію розвитку патогномонічних змін морфологічної структури макули при «сухій» формі ВДМ для алелей rs2010963 гена VEGFA ($\chi^2=4,28$; $p=0,04$). При стратифікації за наявністю «вологої» форми ВДМ у пацієнтів в Україні встановлено, що сила зв'язку у порівнянні з хворими без розподілу по формі ВДМ збільшувалася для поліморфізмів rs10490924 гена ARMS2 ($p_{Fet}=0,03$) і rs800292 гена CFH ($p_{\chi^2} < 0,001$). Для поліморфізму rs2010963 гена VEGFA зв'язок з «вологою» формою мав місце і для алелей ($p_{(\chi^2)}=0,005$), і для генотипів ($p_{(\chi^2)}=0,01$). Мінорний генотип A/A поліморфізму rs699947 гена VEGFA виявив асоціацію тільки з «вологою» формою ВДМ ($p_{\chi^2}=0,02$).

– Встановлено, що зі зміною морфологічної структури макули, яка характерна «вологій» формі вікової дегенерації макули, вивірідний взаємозв'язок середнього ступеню мали мінорний генотип А/А та мінорна алель А поліморфізму rs699947 гена VEGFA та поліморфізму rs800292 гена CFH ($r=0,63$, $r=-0,49$, $r=0,53$, $r=0,46$ відповідно, $p<0,05$). Використовуючи регресійний аналіз відносно асоціації між генотипами та алелями поліформізмів (rs10490924 гена ARMS2, rs800292 гена CFH, rs2010963 гена VEGFA і rs699947 гена VEGFA) та маркерами морфологічної структури макули у хворих на «вологу» форму вікової дегенерації макули, вперше створено математичну модель прогнозування генетичної схильності та ймовірного ризику розвитку «вологої» форми ВДМ.

– З'ясовано, що саме поліморфізми rs800292 гена CFH та rs699947 гена VEGFA визначали форму ВДМ. Мінорна алель А поліморфізму rs800292 гена CFH збільшувала удвічі шанси розвитку «вологої» форми ВДМ у порівнянні з «сухою» формою ($OR=2,04$; 95% BI 1,26-3,32), тоді як предкова алель G такі шанси удвічі зменшувала ($OR=0,49$; 95% BI 0,30-0,80) ($p_{\chi^2}=0,004$). Мінорна алель А поліморфізму rs699947 гена VEGFA збільшувала у два рази шанси розвитку «вологої» форми ВДМ у порівнянні з «сухою» формою ($OR=2,01$; 95% BI 1,24-3,24), а предкова алель C такі шанси у два рази зменшувала ($OR=0,50$; 95% BI 0,31-0,80) ($p_{\chi^2}=0,004$). «Суха» форма була асоційована з наявністю предкових алелей (G та C), тоді як «волога» форма – з наявністю мінорних алелей (в обох випадках А). Встановлено, при «сухій» формі ВДМ поліморфізми rs10490924 гена ARMS2 ($p(F)<0,02$) і rs800292 гена CFH ($p(F)<0,04$) мали патогенетичне значення (ризикове по виникненню до ВДМ), оскільки сприяли гіперхолестеринемії, атерогенній дисліпідемії та згущенню крові.

– За допомогою математичного аналізу визначені найбільш значущі показники для діагностики та прогнозування віку розвитку ВДМ, які включають гаплотип, ІМТ, стать та показники, що характеризують стиль життя та звички пацієнта. Розроблена математична модель має високий ступень вірогідності (коефіцієнт множинної кореляції $R=0,73$, коефіцієнт детермінації $R^2=0,54$ ($F=16,94$; $p<0,0001$)).

– Розширено наукову інформацію щодо впливу генотипів на ризик двобічного ураження при ВДМ. Вперше визначено, що мінорні гомозиготні генотипи всіх досліджених поліморфізмів суттєво збільшують ризик двобічного ураження при ВДМ, тоді як предкові гомозиготи такий ризик суттєво зменшують. Особливо це стосувалося rs800292 гена CFH: ризик двобічного ураження для носіїв мінорної гомозиготи A/A був збільшений у 19,2 рази ($OR=19,24$; 95% BI 6,01-61,61).

– За допомогою регресійного аналізу вперше визначено, що в Україні три генотипи (ARMS2 rs10490924, CFH rs800292 і VEGFA rs2010963) визначають розвиток ВДМ (ймовірності розвитку ВДМ більш ніж 0,493) з прогнозом на рівні 78,0% та два генотипи (CFH rs800292 і VEGFA rs699947, $p=0,003$) визначають розвиток «вологої» форми ВДМ (ймовірності розвитку ВДМ більш ніж 0,416) з безпомилковим прогнозом на рівні 63,9%. Вперше створено математичну модель прогнозування ймовірного ризику розвитку ВДМ з урахуванням гаплотипів.

Практичне значення отриманих результатів. На підставі отриманих результатів вперше обґрунтовано та розроблено методику активного медичного менеджменту хворих на вікову дегенерацію макули при амбулаторно-поліклінічній допомозі, що включає застосування під час первинного огляду пацієнтів розроблених математичних моделей прогнозування ймовірних ризиків розвитку ВДМ, ризиків розвитку «вологої» форми ВДМ та віку розвитку ВДМ (коефіцієнт множинної кореляції $R=0,73$; коефіцієнт детермінації $R_2=0,54$ ($F=16,94$; $p<0,0001$) як у самих пацієнтів, так і у членів їх сімей.

Розроблено та впроваджено в практику поліклінічних офтальмологічних відділень та стаціонарів формули розрахунку: ймовірних ступенів ризику розвитку вікової дегенерації макули з урахуванням генетичних поліморфізмів, ризику розвитку «вологої» форми ВДМ, віку розвитку ВДМ, ймовірність розвитку ВДМ з урахуванням гаплотипів, за допомогою яких можна визначити індивідуальний ризик розвитку ВДМ та спланувати режим профілактики та диспансерного спостереження у жінок і чоловіків.

Шляхом використання критеріїв формування груп ризику з розвитку ексудативної форми вікової дегенерації макули та впровадження їх в лікувальний

процес поліклінічних відділень і консультативних офтальмологічних кабінетів можливо спланувати тактику подальшого лікування цієї категорії хворих та прогнозувати ускладнення.

Впровадження в практику. Методика прогнозування розвитку вікової дегенерації макули впроваджена в практичну роботу Державної наукової установи «Науково-практичний центр профілактичної та клінічної медицини» Державного управління справами (м. Київ), консультативно-діагностичної поліклініки Київської міської клінічної офтальмологічної лікарні «Центр мікрохірургії ока», Дніпропетровської обласної клінічної офтальмологічної лікарні.

Результати вивчення патогенезу вікової дегенерації макули включено в програму занять на кафедрах офтальмології Національної медичної академії післядипломної освіти імені П.Л. Шупика, імені Б.Л. Радзіховського Буковинського державного медичного університету, Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова та Одеського національного медичного університету.

Особистий внесок здобувача. Ідея проведення дослідження, мета і завдання дослідження сформульовані науковим керівником – доктором медичних наук, професором Шаргородською Іриною Василівною. Автор самостійно провів патентні та інформаційні пошуки, аналіз наукової літератури, визначив методи дослідження.

Здобувачем самостійно проведено збір та аналіз клінічного матеріалу, його обробку, шифрування. Всі клінічні спостереження та обстеження. Всі клінічні спостереження та обстеження 144 хворих на ВДМ та 38 пацієнтів без ВДМ проведено протягом 3 років виконання дисертаційного дослідження самостійно з дотриманням протоколу біомедичного дослідження та підписанням інформованої згоди пацієнта за дизайном, затвердженими біоетичною експертизою (протокол засідання комісії з питань етики №9 від 05.12.2016 року). Разом з науковим керівником були сформовані групи досліджуваних пацієнтів.

Молекулярно-генетичні дослідження проведено у відділі молекулярно-генетичних досліджень Науково-дослідного інституту експериментальної та клінічної медицини Національного медичного університету імені О. О. Богомольця

МОЗ України (директор – д.мед.н., професор Л. В. Натрус) згідно Договору між Національною медичною академією післядипломної освіти імені П. Л. Шупика та Національним медичним університетом імені О. О. Богомольця при консультативній допомозі д.мед.н., професора С. В. Зябліцева. Аналіз результатів дослідження, узагальнення і їх оформлення проведені здобувачем самостійно. Статистичний аналіз отриманих результатів клінічних, біохімічних та генетичних досліджень автор провела самостійно. Розробка математичної моделі прогнозування ВДМ та методики активного поліклінічного менеджменту хворих на вікову макулярну дегенерацію при амбулаторно-поліклінічній допомозі виконано спільно з науковим керівником, д.мед.наук, професором І. В. Шаргородською. У наукових роботах, опублікованих в співавторстві, дисертанту належить провідна роль у зборі клінічного матеріалу, статистичній обробці та аналізі отриманих результатів. Разом з науковим керівником, професором І. В. Шаргородською обговорені та узагальнені основні наукові положення дисертації, оформленні висновки та практичні рекомендації роботи.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертації доповідались та були обговорені на:

- *міжнародних науково-практичних конгресах, симпозіумах і конференціях*: конгресі Європейського товариства офтальмологів SOE (Барселона, Іспанія, 2017); другому міжнародному науковому конгресі вчених Європи в рамках II Міжнародного наукового форуму вчених «Схід-Захід» (Австрія - Росія - Казахстан - Канада - Україна - Чеська Республіка) (Відень, Австрія, 2018); міжнародній офтальмологічній конференції ТІОС 2018 (Тбілісі, Грузія, 2018);
- *національних з'їздах, конгресах, симпозіумах*: IV науково-практичній конференції «Інновації в нейрохірургії» в рамках VI Міжнародного медичного конгресу «Впровадження сучасних досягнень медичної науки в практику охорони здоров'я України» на платформі VIII Міжнародного медичного форуму «Інновації в медицині – здоров'я нації» (Київ, 2017);
- *науково-практичних конференціях державного рівня*: науково-практичній конференції офтальмологів України «Шевальовські читання`19» (Запоріжжя,

2019), IX підсумковій науково-практичній конференції «Здобутки клінічної та експериментальної медицини», присвяченій 60-річчю ТДМУ (Тернопіль, 2017); науково-практичній конференції офтальмологів з міжнародною участю «Філатовські читання 2017» (Одеса, 2017); 40-вій ювілейній науково-практичній конференції молодих вчених НМАПО імені П.Л.Шупика з міжнародною участю, присвяченій Дню науки «Інновації в медицині: досягнення молодих вчених» (Київ, 2017); міжнародній науково-практичній конференції до всесвітнього дня здоров'я 2017 року (Київ, 2017); науково-практичній конференції з міжнародною участю «Актуальні питання сімейної медицини та перспективи її розвитку» в рамках всесвітнього дня сімейного лікаря (Київ, 2017); науково-практичній конференції офтальмологів Чернівецької, Івано-Франківської, Тернопільської, Хмельницької областей України «Актуальні питання офтальмології» (Чернівці, 2017);

– *засіданнях* Київського наукового товариства офтальмологів (2016, 2017).

Публікації. Основні результати дисертаційної роботи викладені у 17 публікаціях. Опубліковано 5 статей, з них 1 – одноосібно. Зокрема 3 статті у наукових фахових виданнях України відповідно до переліку наукових фахових видань України, 1 – в закордонному наукометричному виданні, проіндексованому у базі даних Scopus, 1 – у періодичному науковому виданні іншої держави, яка входить до Європейського Союзу, з наукового напрямку, за яким підготовлено дисертацію. Крім того опубліковано 11 тез доповідей – в матеріалах конгресів та науково-практичних конференцій, включаючи 3 іноземні, 1 – нововведення.

Структура та обсяг дисертації. Загальний обсяг дисертації складає 245 сторінки. Робота містить анотацію, зміст, перелік умовних позначень, вступ, основну частину, що складається з викладу матеріалів та методів дослідження, чотирьох розділів самостійних досліджень, аналізу та узагальнення отриманих результатів, висновків, практичних рекомендацій, списку використаних джерел літератури, додатків. Робота має 29 рисунків та 53 таблиці, з яких 24 таблиці займають окремі сторінки. Список використаної літератури складає 236 робіт, з них 67 – кирилицею, 169 – латиницею.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ В АНОТАЦІЇ ТА ВСТУПІ

1. Bindewald A. Classification of fundus autofluorescence patterns in early age-related macular disease / A. Bindewald, A. C. Bird, F. W. Fitzke [et al.] // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. – 2005. – Vol. 46. – № 9. – P.3309-3314.
2. Либман Е. С. Состояние и динамика слепоты и инвалидности вследствие патологии органа зрения в России / Е. С. Либман, Е. В. Шахова // Материалы VII съезда офтальмологов России. – М. – 2000. – С.209-214.
3. Bressler N. M. Age-related macular degeneration is the leading cause of blindness / N. M. Bressler // JAMA. – 2004. – Vol. 291. – № 15. – P.1900-1901.
4. Chakravarthy U. Age related macular degeneration / U. Chakravarthy // BMJ. – 2006. – Vol. 333. – № 7574. – P.869-870.
5. Jager R. D. Age-related macular degeneration / R. D. Jager, W. F. Mieler, J. W. Miller // N Engl J Med. – 2008. – Vol. 358. – № 24. – P.2606-2617.
6. O'Shea J. G. Age-related macular degeneration: a leading cause of blindness / J. G. O'Shea // Med. J. Aust. – 1996. – Vol. 165. – № 10. – P.561-564.
7. Schmitz-Valckenberg S. Fundus autofluorescence and progression of age-related macular degeneration / S. Schmitz-Valckenberg, M. Fleckenstein, H. P. Scholl, F. G. Holz // Surv. Ophthalmol. – 2009. – Vol. 54 (1). – P.96-117.
8. Awaroop A. Unraveling a Multifactorial Late Onset Disease: From Genetic Susceptibility to Disease Mechanisms for Age Related Macular Degeneration / A. Awaroop [et al.] // Annu Rev Genomic Hum Genet. – 2009. – Vol.10. – P.19-43.
9. Klaver C. C. Genetic risk of age-related maculopathy. Population-based familial aggregation study / C. C. Klaver, R. S. Wolts, J. R. Vingerling [et al.] // Arch Ophthalmol. – 1998. – Vol.116. – P.653–658.
10. Cherney E. F. Патогенез сосудистой макулодистрофии / Е. F. Cherney // Тез.докл. офтальмологического конгресса «Белые ночи», 28–31 мая 2001г. – С.3-5.
11. 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.

- 12.Либман Е. С. Современные позиции клинико-социальной офтальмологии / Е.С. Либман // Вестн. офтальмол. – 2004. – Т.120, №1. – С.10-12.
- 13.Holz F. Age-related macular degeneration. / F. Holz, D. Pauleikhoff, R. F. Spaide [et al.] // Berlin. – 2004. – P.238.
- 14.Бойко Э. В. Опыт применения «Лютеин-форте» в лечении «сухой» формы возрастной дегенерации макулы / Э. В. Бойко, Л. В. Журавлева // Клиническая офтальмология. – 2007. – Том 8. – № 2. – С.149-152.
- 15.Веселовская Н. Н. Современные аспекты патогенеза и лечения сенильной макулярной дегенерации / Н. Н. Веселовская // Офтальмол. журн. – 2001. – № 5. – С.58-62.
- 16.Либман Е. С. Слепота, слабовидение и инвалидность по зрению в Российской Федерации / Е. С. Либман, Е. В. Шахова // Мат. Росс. межрегион. симпоз. «Ликвидация устранимой слепоты: Всемирная инициатива ВОЗ». – Уфа. – 2003. – С.38-42.
- 17.Мачехин В. А. Методика консервативного лечения глазных заболеваний с помощью катетера, введенного в ретробульбарное пространство / В. А. Мачехин, Н. В. Яблокова // Мат.VII съезда офтальмологов России. – Москва. – 2000. – С.319-320.
- 18.Безкоровайна І. М. Фактори ризику виникнення вікової макулярної дегенерації / І. М. Безкоровайна // Таврический медико-биологический вестник. – 2013. – Т.16. – №3(2). – С.29-31.
- 19.Анина Е. И. Распространенность патологии сетчатой оболочки и зрительного нерва на Украине / Е. И. Анина, В. И. Левтюх // Тези доповідей VIII міжнародної конференції офтальмологів. – Одеса. – 1993. – С.8-9.
- 20.Венгер Г. Е. Современные взгляды на патогенез прогрессирующей миопии и возможности ее лечения / Г. Е. Венгер, Л. В. Венгер, С. И. Бурдейный // Таврический медико-биологический вестник. – 2012. – Т.15. – №3(59). – С.25-30.
- 21.Дунаева М. В. Коллагенопластика с ретиналамином в лечении возрастной макулодистрофии / М. В. Дунаева // «Здоровье Украины». – №9. – Апрель, 2009. – С.62-63.

22. Харинцева С. В. Некоторые аспекты патогенеза макулярной дегенерации / С. В. Харинцева, Л. А. Голуб // Успехи геронтологии. – 2006. – Вып. 18. – С.71-75.
23. 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.
24. Хороших Ю. И. Современные взгляды на проблему патогенеза и лечения «влажной» формы возрастной макулярной дегенерации / Ю. И. Хороших, О. И. Кривошеина // Соврем. проблемы науки и образования. – 2014. – № 2. – С.1-14.
25. Бикбов М. М. Возрастная макулярная дегенерация / Б. Б. Бикбов, Р. Р. Файзрахманов, Я. Л. Ярмухаметова. – М. – Апрель, 2013. – 196 с.
26. Seddon J. M. Familial aggregation of age-related maculopathy / J. M. Seddon, U. A. Ajani, B.D. Mitchel // Am. J.Ophthalmol. – 1997. – Vol.123. – P.199-204.
27. Klein M. L. Progression of geographic atrophy and genotype in age-related macular degeneration / M. L. Klein // Ophthalmology. – 2010. – Vol.117. – №10. – P.1554-1559.
28. Fine S. L. Age-related macular degeneration / S. L. Fine, J. W. Berger, M. G. Maguire, A.C. Ho // Engl. J. Med. – 2000. – Vol. 17. – №34 (7). – P.483-492.
29. Adinoyi O. Garba Bevasiranib for the Treatment of Wet, Age Related Macular Degeneration / O. Garba Adinoyi, A. Mousa Shaker // Ophthalmology and Eye Diseases. – 2010. – Vol.2. – P.75-83.
30. Clemons T. E. Risk factors for the incidence of Advanced Age-Related Macular Degeneration in the Age-Related Eye Disease Study (AREDS) / T. E. Clemons, R. C. Milton, R. Klein, J. M.Seddon, F. L. Ferris // 3rd. AREDS report no. 19. Ophthalmology. – 2005. – Vol. 112 (4). – P.33-99.
31. Астахов Ю. С. Возрастная макулярная дегенерация / Ю. С. Астахов, А. Б. Лисочкина, Ф.Е. Шадричев // В кн.: Офтальмология. Клинические рекомендации. – М. – ГЭОТАР Медиа. – 2006. – С.164-88.
32. 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.

33. Klein R. J. Ten year incidence and progression of age related maculopathy: The Beaver Dam Eye Study / R. J. Klein, B. E. Klein, S. C. Tomany, et al. // *Ophthalmology*. – 2002. – Vol. 308. – № 109. – P.1767-1779.
34. Seddon J. M. Familial aggregation of age-related maculopathy / J. M. Seddon, U. A. Ajani, B. D. Mitchel // *Am. J. Ophthalmol.* – 1997. – Vol. 123. – P.199-204.
35. Klein M. L. Progression of geographic atrophy and genotype in age-related macular degeneration / M. L. Klein // *Ophthalmology*. – 2010. – Vol. 117. – № 10. – P.1554-1559.
36. Егоров В. В. Клинико-морфометрические особенности изменений макулы у больных сахарным диабетом после факоемульсификации катаракты / В. В. Егоров, А. В. Егорова, Г. П. Смолякова // *Вестн. офтальмол.* – 2008. – №1 . – С.22-25.
37. Шпак А. А. Влияние желтого светофильтра в оптике интраокулярных линз на состояние макулярной зоны после факоемульсификации катаракты у пациентов с возрастной макулярной дегенерацией / А. А. Шпак, Б. Э. Малюгин, Т. В. Фадеева // *Вестн. офтальмол.* – 2012. – № 128(4). – С.48-51.
38. 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.
39. Gass D. J. Drusen and disciform macular detachment and degeneration / D. J. Gass // *Trans Am Ophthalmol Soc.* – 1972. – Vol. 70. – P.409-36.
40. Haines J. L. Complement factor H variant increases the risk of age-related macular degeneration / J. L. Haines, M. A. Hauser, S. Schmidt [et al.] // *Science*. – 2005. – Vol. 308. – P.419-21.
41. Seddon J. M. The US twin study of age-related macular degeneration: relative roles of genetic and environmental influences / J. M. Seddon, J. Cote, W. F. Page, S. H. Aggen, M. C. Neale // *Arch. Ophthalmol.* – 2005. – Vol. 123(3). – P.321-327.
42. O'Shea J. G. Age-related macular degeneration: a leading cause of blindness / J. G. O'Shea // *Med. J. – Aust.*, 1996. – Vol. 165. – № 10. – P.561-564.

43. Khan J. C. Smoking and age related macular degeneration: the number of pack years of cigarette smoking is a major determinant of risk for both geographic atrophy and choroidal neovascularisation / J. C. Khan, D. A. Thurlby, H. Shahid [et al.] // Br J Ophthal. – 2006. – Vol. 90. – P.75-80.
44. Bressler S .B. Relationship of drusen and abnormalities of the retinal pigment epithelium to the prognosis of neovascular macular degeneration. The Macular Photocoagulation Study Group / S. B. Bressler, M. G. Maguire, N. M. Bressler, S. L. Fine // Arch Ophthalmol. – 1990. – Vol.108. – P.1442-1447.
45. Friedman D. S. Racial differences in the prevalence of age-related macular degeneration: the Baltimore Eye Survey / D. S. Friedman, J. Katz, N. M. Bressler, B. Rahmani, J. M. Tielsch // Ophthalmology. – 1999. – Vol.106. – P.1049-1055.
46. Smith W. Risk factors for age-related macular degeneration: Pooled findings from three continents / W. Smith, J. Assink, R. Klein [et al.] // Ophthalmology. – 2001. – Vol.108. – P.697-704.
47. Бездетко П. А. Возрастная макулярная дегенерация: метод. указ. для студентов-иностранцев / П. А. Бездетко, Н. В. Панченко, Е. П. Мужичук и др. // ХНМУ. – Харьков. – 2015. – С.3-11.
48. Линник Л. Ф. Разработка и внедрение в практику искусственных хрусталиков глаза с естественной спектральной характеристикой / Л. Ф. Линник, Х. П. Тахчиди, М. А. Островский и соавт. // Здоровоохранение и медтехника. – 2004. – Т.9. – №5. – С.35-36.
49. Егоров Е. А. Возрастная макулярная дегенерация. Вопросы патогенеза, диагностики и лечения / Е. А. Егоров, И. А. Романенко // РМЖ «Клиническая офтальмология». – 2009. – №1 – 42 с.
50. Kabasawa S. Associations of cigarette smoking but not serum fatty acids with agerelated macular degeneration in a Japanese population / S. Kabasawa, K. Mori, K. Horie-Inoue [et al.] // Ophthalmology. – 2011. – 118. – P.1082-88.
51. Будзинская М. В. Современные подходы к лечению и профилактике возрастной макулярной дегенерации / М. В. Будзинская, М. В. Воробьева, Т. Н. Киселева,

- Ю. М. Лагутина, Г. С. Полунин // Клиническая офтальмология. – 2007. – Т.8. – №2. – С.78-82.
52. Trieschmann M. Changes in macular pigment optical density and serum concentrations of its constituent carotenoids following supplemental lutein and zeaxanthin / M. Trieschmann [et al.] // The LUNA study. Exp. Eye. Res. – 2007. – Vol. 84. – №4. – P.718-728.
53. Миронова Э. М. Роль пигментного эпителия и взаимодействующих с ним структур в патогенезе глазных заболеваний / Э. М. Миронова // Автореф. дис. докт. биол. наук. – М. – 1990. – 32с.
54. Kawasaki R. Prevalence and risk factors for age related macular degeneration in an adult Japanese population / R. Kawasaki, J. J. Wang, G. J. Ji, B. Taylor, T. Oizumi, M. Dai mon [et al.] // The Funagata Study. Ophthalmology. – 2008. – Vol.115. – P.1376-1381.
55. Kansky J. J. Diseases of the macula / J. J. Kansky, S. A. Milewsky. // A practical approach. – Mosby International limited. – 2002. – 215 p.
56. Milam A. H. Dominant late-onset retinal degeneration with regional variation of sub-retinal pigment epithelium deposits, retinal function and photoreceptor degeneration / A. H. Milam, C. A. Curcio, A.V. Cidaciyan [et al.] // Ophthalmology. – 2002. – Vol.107. – P.2256-2266.
57. Perry W. Y. Peripapillary chorioretinal atrophy: Bruch membrane changes and photoreceptor loss / W. Y. Perry, A. C. Christine // Ophthalmology. – 2002. – Vol.107. – P.334-343.
58. Klein R. The association of Cataract and Cataract Surgery with the long-term incidence of age-related maculopathy / R. Klein, B. E. Klein [et al.] // Arch. Ophthalmol. – 2002. – Vol.102. – P.1551-1557.
59. Smith W. Risk factors for age-related macular degeneration. Pooled finding from three continents / W. Smith, K.J. Assin, R. Klein [et al.] // Ophthalmology. – 2001. – Vol.108. – P.697-704.
60. Денисюк Л. І. Вплив поліморфізму Pro72Arg (rs1042522) гена TP53 на динаміку внутрішньоочного тиску при первинній відкритокутовій глаукомі / Л. І. Денисюк // Архів офтальмології України. – 2016. – Т.4. – №2(6). – С.26-31.

- 61.Гудзь А. С. Розподіл генотипів та асоціація поліморфізмів гена *vegfa* (RS2010963 та RS69947) з діабетичною ретинопатією і цукровим діабетом 2 типу / А. С. Гудзь, Г. Є. Захаревич // Архів офтальмології України. – 2017. – Т.5. – №1(7). – С.16-20.
- 62.Allikmets R. Mutation of the Stargardt disease gene (ABCR) in age-related macular degeneration / R. Allikmets, N.F. Shroyer, N.Singh [et al.] // Science. – 1997. – Vol.277 (5). – P.1805-1807.
- 63.Souied E. H. ABCR gene analysis in familial exudative age-related macular degeneration / E.H. Souied, D. Ducroq, J.M.Rozet [et al.] // Invest Ophthalmol Vis Sci. – 2000. – Vol. 41(1). – P.244-247.
- 64.Ермакова Н. А. Основные этиологические факторы и патогенетические механизмы развития возрастной макулярной дегенерации / Н. А. Ермакова, О. Ц. Рабданова // Клиническая офтальмология. – 2007. – Т.8. – №3. – С.125-128.
- 65.Schmidt S. Detailed analysis of allelic variation in the ABCA4 gene in age-related maculopathy / S. Schmidt, E. A. Postel, A. Agarwal [et al.] // Invest Ophthalmol Vis Sci. – 2003. – Vol. 44 (7). – P.2868-2875.
- 66.Schultz D. W. Analysis of the ARMD1 locus: evidence that a mutation in HEMICENTIN-1 is associated with age-related macular degeneration in a large family / D. W. Schultz, M.L. Klein, A. J. Humpert [et al.] // Hum Mol Genet. – 2003. – Vol.12. – P.3315-3323.
- 67.Тахчиди Х. П. Экспериментальные результаты фотодинамической терапии в офтальмологии с использованием отечественных препаратов хлоринового ряда / Х. П.Тахчиди, Ю. А. Белый, А. В. Терещенко // Офтальмохирургия. – 2005. – №2. – С.30-35.
- 68.Егоров Е. А. Современные направления в лечении инволюционной центральной хориоретинальной дистрофии / Е. А. Егоров, Д. В. Кац // Актуальные вопросы терапии. – 2006. – № 5. – С.2-6.
- 69.Нащенко О. В. Применение биологически активных веществ в лечении возрастной макулодистрофии / О. В. Нащенко // Клин. офтальмол. – 2004. – Т.5. – г № 2. – С.82-84.

- 70.Regillo C. D. Randomized, double-masked, sham-controlled trial of ranibizumab for neovascular age-related macular degeneration / C.D.Regillo, D.M.Brown, P.Abraham [et al.] // *Am. J.Ophthalmol.* – 2008. – Vol.145(2). – P.239-248.
- 71.Telander D. G. Inflammation and age-related macular degeneration (AMD) / D. G. Telander // *Semin Ophthalmol.* – 2011. – Vol.26(3). – P.192-197.
- 72.Stanton C. M. Inflammatory biomarkers for AMD / C. M. Stanton, A. F. Wright // *Adv Exp Med Biol.* – 2014. – Vol.801. – P.251-257.
- 73.Penfold P. L. Immunological and aetiological aspects of macular degeneration / P. L. Penfold, M. C. Madigan, M. C. Gillies, J. M. Provis // *Prog Retin Eye Res.* – 2001. – Vol.20. – №3. – P.385-414.
- 74.Kaarniranta K. Age-related macular degeneration: activation of innate immunity system via pattern recognition receptors / K. Kaarniranta, A. Salminen // *J Mol Med (Berl).* – 2009. – Vol. 87. – №2. – P.117-123.
- 75.Нероев В. В. Ишемические аспекты патогенеза заболеваний сетчатки / В. В. Нероев, М. В. Зуева, И.В. Цапенко, М.В. Рябина, О.А. Киселева, Г.Р. Каламкаров // *Российский офтальмологический журнал.* – 2010. – Т.3. – №1 – С.42-49.
- 76.Lauer N. Complement regulation at necrotic cell lesions is impaired by the age-related macular degeneration-associated factor-H His402 risk allele / N. Lauer, M. Mihlan, A. Hartmann, U. Schlotzer-Schrehardt, C. Keilhauer, H.P.N. Scholl, P.C. Issa, F. Holz, B.H.F. Weber, C. Skerka, P.F. Zipfel // *J. Immun.* – 2011. – Vol.187 – P.4374-4383.
- 77.Presta L. G. Humanization of an anti-vascular endothelial growth factor monoclonal antibody for the therapy of solid tumors and other disorders / L. G. Presta, H. Chen, S. J. O'Connor [et al.] // *Cancer Res.* – 1997. – Vol. 57. – № 20. – P.4593-4599.
- 78.Nowak J. Z. Age-related macular degeneration (AMD): pathogenesis and therapy / J. Z. Nowak // *Pharmacol Rep.* – 2006. – Vol. 58. – P.353-363.
- 79.Егоров Е. А. Ранибизумаб (луцентис) в лечении пациентов с "влажной" формой возрастной макулярной дегенерации / Е. А. Егоров, И. А. Романенко, Т. Б. Романова, Д.В. Кац // *Клиническая офтальмология.* – 2010. –Т.11. –№2. –С.65-68.

80. Husain D. Safety and efficacy of intravitreal injection of ranibizumab in combination with verteporfin PDT on experimental choroidal neovascularization in the monkey / D. Husain, I. Kim, D. Gauthier [et al.] // Arch. Ophthalmol. – 2005. – Vol. 123. – P. 509-516.
81. Tatar O. Expression of VEGFA and PEDF in choroidal neovascular membranes following verteporfin photodynamic therapy / O. Tatar, A. Adam, K. Shinoda [et al.] // Am. J. Ophthalmol. – 2006. – Vol. 142. – № 1. – P. 95-104.

РОЗДІЛ 1

МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

1.1. Систематизація проявів та класифікації вікової дегенерації макули

Історія вивчення ВДМ нараховує більше 100 років. Ще в 1855 році F. C. Donders описав друзи макулярної області, а O. Naab запропонував термін «сенільна макулодистрофія». Після того, як стало відомо, що різні вікові зміни макули являють собою прояви однієї хвороби, були зроблені численні спроби їх систематизувати.

Однією з перших була запропонована класифікація D. Gass (1967), що була заснована на даних флюоресцентної ангиографії. В ній були виділені 2 основні форми: предисциформна та дисциформна, які, в свою чергу, розподілялися на 4 стадії розвитку. Ця класифікація носила переважно описовий характер, деталізувала геморагічні ускладнення та недостатньо приділяла увагу іншим деталям. У Радянському Союзі найбільш поширеною була класифікація Л. А. Кацнельсона. Так, Л. А. Кацнельсон з співавторами (1986) виділяє три форми захворювання [1]:

1. Неексудативна (суха) форма. Включає в себе ретинальні друзи, дефекти пігментного епітелію, перерозподіл пігменту, атрофію пігментного епітелію та хоріоркапілярного шару.

2. Ексудативна (волога) форма:

- 1) стадія ексудативного відшарування пігментного епітелію;
- 2) стадія ексудативного відшарування нейроепітелію;
- 3) неоваскулярна стадія;
- 4) стадія ексудативно-геморагічного відшарування пігментного епітелію та нейроепітелію.

3. Рубцева стадія.

Проте визначення різних проявів ВДМ як окремих форм, а не етапів розвитку захворювання, було досить суперечливим та містило розходження з сучасними поглядами на патогенез ВДМ [1].

Eter N. зі співавторами [2] пропонують виділяти лише ранню та пізню стадії ВДМ.

У ранній стадії визначають фокальні друзи та нерівномірність пігментації ретинального пігментного епітелію.

Для пізньої стадії характерні сухі форми (географічна атрофія) та ексудативні (відшарування та розрив ретинального пігментного епітелію, хоріоїдальна неоваскуляризація, дисковидний (фіброваскулярний) рубець, ангіоматозна проліферація).

Міжнародна група з вивчення епідеміології захворювання (The International ARM Epidemiological Study Group) виділяє 2 основні форми: неексудативну («суху») та ексудативну («вологу»). Цей розподіл досить зручний для використання в практичній офтальмології. Крім того, в цій класифікації виділяють ранні стадії захворювання (вікова макулопатія), термінологічно підкреслюючи наявність змін[3].

В 2006 році Ю. О. Іванішко з співавторами запропонували «робочу» класифікацію вікових уражень фовеа [4]. У класифікації детально виділені майже всі можливі патологічні зміни макули при ВДМ. Однак, на жаль, через громіздкість практичне застосування цієї класифікації вкрай ускладнено.

Американська академія офтальмології рекомендує класифікацію, розроблену в процесі дослідження вікової очної патології (Age-Related Eye Disease Study – AREDS) та пропонує використовувати її для оцінки важкості та прогнозу ВДМ [5]:

1. Відсутність ВДМ (категорія 1 AREDS) – контрольна група в дослідженні AREDS, відсутність або невелика кількість дрібних друз (діаметр < 63 мікрон) з 5-річним ризиком розвитку пізньої стадії 1,3%.

2. Рання стадія ВДМ (категорія 2 AREDS) – множинні дрібні друзи, невелика кількість друз середнього розміру (діаметр від 63 до 124 мікрон) або початкові зміни пігментного епітелію сітківки з 5-річним ризиком розвитку пізньої стадії 18%.

3. Проміжна стадія ВДМ (категорія 3 AREDS) – множинні друзи середнього розміру, принаймні, одна велика друза (діаметр \geq 125 мікрон) або географічна атрофія, що не зачіпає центральної ямки.

4. Пізня стадія ВДМ (категорія 4 AREDS) – характеризується однією або кількома з наступних ознак (при відсутності інших причин) з 5-річним ризиком розвитку пізньої стадії на парному оці 22%:

1) географічна атрофія ПЕС та хоріокапілярного шару в ділянці центральної ямки сітківки;

2) неоваскулярна макулопатія:

- хоріоїдальна неоваскуляризація (ХНВ);
- серозне та/або геморагічне відшарування НЕС або ПЕС;
- тверді ексудати (вторинна ознака, що формується внаслідок постійного просочування з будь-якого джерела);
- субретинальна фіброваскулярна проліферація та фіброваскулярна проліферація під ПЕС;
- дисковидний рубець.

Дослідження останніх років довели можливість переходу ВДМ з однієї форми в іншу (наприклад, розвиток неоваскуляризації при географічній атрофії або перехід ХНВ в атрофію), що раніше вважалось неможливим.

Вікова дегенерація макули – це дистрофічний процес в хоріокапілярному шарі, мембрані Бруха та пігментному епітелії сітківки з подальшим залученням фоторецепторів [6, 7, 8]. У різні роки офтальмологи визначали ВДМ наступними термінами: центральна інволюційна дистрофія сітківки, центральна сенільна дегенерація, сенільна макулодистрофія, вікова макулопатія, атеросклеротична макулярна дистрофія, сімейні друзи, дистрофія по типу Кунта-Юніуса, центральна хоріоретинальна дистрофія, стареча дегенерація макули, вікова дегенерація макули. На сьогодні існує єдина точка зору, що всі ці патології – це прояв одного захворювання, яке у багатьох закордонних роботах останніх років описано як «age-related macular degeneration» (AMD), згідно з МКХ-10 – дегенерація макули та заднього полюса (код H35.3) [9].

Враховуючи сучасні лікувальні можливості, наявність показань до деяких методик та неможливість застосування більшості впливів при певних варіантах перебігу ВДМ, співробітниками Інституту очних хвороб та тканинної терапії імені В. П. Філатова НАМН України в м. Одеса під керівництвом член-кор. НАМН України, професора Н.В. Пасечнікової була запропонована нова клінічна класифікація ВДМ, яка була затверджена на XII з'їзді офтальмологів України в 2010

році. Ця класифікація полегшує вибір оптимальної тактики ведення пацієнтів з ВДМ в залежності від клінічної ситуації [10].

Нова клінічна класифікація ВДМ [10] включає:

I. Вікову макулопатію.

II. Вікову дегенерацію макули:

1. Суха форма.

2. Транссудативне відшарування ПЕС: відрив ПЕС.

3. Ексудативна форма:

а) прихована СНМ (з порушенням або без порушення кровообігу в судинній оболонці);

б) класична СНМ (з порушенням або без порушення кровообігу в судинній оболонці):

- субфовеолярна;

- юкстафовеолярна;

- екстрафовеолярна;

в) поліпoidна хоріоїдальна васкулопатія;

г) хоріоретинальна судинна проліферація (хоріоретинальні шунти).

4. Субретинальний фіброз:

а) ятрогенний;

б) природний.

Відмінними особливостями цієї класифікації [10] є:

- виділення транссудативного відшарування ПЕС в окремий розділ, оскільки в цьому стані ефективним є лише застосування пролонгованих кортикостероїдів;
- окреме виділення відриву ПЕС, тому що в цьому стані будь-які втручання не ефективні;
- виділення класичних та прихованих СНМ як критеріїв вибору лікувальної методики;
- виділення наявності порушення кровообігу в судинній оболонці як критерію вибору підготовчого медикаментозного протиішемічного лікування;

- поділ класичних СНМ на екстра-, юкта- та субфовеоларні як критерієв вибору лікувальної методики;
- виділення поліпoidної хоріоїдальної васулопатії та хоріоретинальної судинної проліферації доцільно, оскільки вони від самого початку потребують комбінованої терапії;
- виділення субретинального фіброзу з поділом на ятрогенний та природний дозволяє визначити показання та протипоказання для хірургічного лікування [10].

Оскільки дана класифікація входить до затверджених уніфікованих та локальних протоколів надання невідкладної медичної допомоги населенню України [11], ми використовували основні її класифікаційні положення при формуванні груп пацієнтів, які обстежувалися в ході дисертаційного дослідження.

Таким чином, задля уникнення плутанини з термінологією, в даному дисертаційному дослідженні вікова (стареча) дегенерація макули визначалася як вікова дегенерація макули – ВДМ.

1.2. Матеріал клінічних досліджень

Дослідження проводилися протягом 2015–2018 років на клінічній базі кафедри офтальмології Національної медичної академії післядипломної освіти імені П.Л.Шупика, КМКОЛ «Центр мікрохірургії ока» МОЗ України та в офтальмологічному відділенні консультативно-діагностичного центру Державної наукової установи «Науково-практичний центр профілактичної та клінічної медицини» Державного управління справами.

Досліджувалося 182 пацієнта, серед яких 144 пацієнта з різними формами ВДМ – основна група, та 38 пацієнтів без ВДМ – група порівняння.

Серед обстежених було 70 чоловіків (38%) і 112 жінок (62%) (Рис.1.1). Вік пацієнтів - від 45 до 89 років.

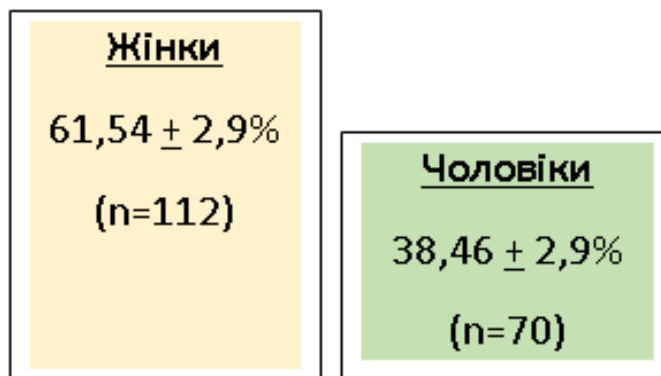


Рис. 1.1. Розподіл досліджуваних пацієнтів за статтю

У дослідженні використовувалися такі критерії відбору:

Критерії включення пацієнтів у дослідження:

- вік пацієнта 45 років та більше;
- наявність підтвердженої вікової дегенерації макули (основна група) або її відсутність (група порівняння);
- інформована письмова згода пацієнта (представника пацієнта) на участь в дослідженні;
- здатність пацієнта до адекватної співпраці в процесі дослідження.

Критерії невключення:

- вік пацієнтів менше 45 років;
- неможливість проведення офтальмоскопії та ОКТ;
- наявність глаукоми або інших офтальмологічних захворювань, що можуть знижувати гостроту зору;
- опероване відшарування сітківки;
- вітреоретинальні або інші інтраокулярні операції за останні 3 місяці;
- системні захворювання (цукровий діабет, ревматизм тощо);
- наявність психічних захворювань та розладів, що заважатимуть пацієнтові розумінню умов участі в дослідженні.

Критерії виключення пацієнтів із дослідження:

- відмова пацієнтів проходити певні етапи діагностичних досліджень або недотримання строків проходження досліджень.

Всіх пацієнтів, які проходили обстеження в рамках даної дисертаційної роботи, було розділено на групи:

Група I – 38 пацієнтів без вікової дегенерації макули на обох очах (група порівняння).

Група II – 64 пацієнта з віковою макулопатією або віковою дегенерацією макули, сухою формою, на одному чи на обох очах («суха» форма).

Група III – 80 пацієнтів з віковою дегенерацією макули: трансудативним відшаруванням пігментного епітелію сітківки, ексудативною формою, субретинальним фіброзом на одному чи на обох очах («волога» форма).

Розподіл досліджуваних пацієнтів по групах в залежності від статі, тривалості хвороби, віку наведено в таблицях 1.1 та 1.2.

Таблиця 1.1

Розподіл пацієнтів в залежності від статі, n=182

Показник		Абс. / %			Критерій χ^2	Рівень значущості відмінності, р
		Група I, n=38	Група II, n=64	Група III, n=80		
Стать	Чоловіки	10 / 26,3%	24 / 37,5%	36 / 45,0%	3,838	0,147
	Жінки	28 / 73,7%	40 / 62,5%	44 / 55,0%		

Примітка: застосовано критерій χ^2 (з урахуванням поправки Йетса)

Згідно даних таблиць 1.1, 1.2 та рис.1.1, в дослідженні брали участь переважно жінки (61,54±2,9%) віком від 70 до 78 років, тобто особи непрацездатного віку. Статистично значущої відмінності розподілу пацієнтів за статтю та віком в основній та групі порівняння не виявлено.

Таблиця 1.2

Розподіл пацієнтів в залежності від віку та тривалості хвороби, n=182

Показник	$\bar{X} \pm m$			Критерій F	Рівень значущості відмінності, p
	Група I, n=38	Група II, n=64	Група III, n=80		
Тривалість хвороби, роки	-	3,94±0,67	3,73±0,37	0,086	0,770
Вік, роки	71,84±0,68	72,34±0,83	75,01±1,02	1,099	0,335

Примітка: застосовано дисперсійний аналіз порівняння середніх величин

1.3. Клінічна характеристика досліджуваних груп пацієнтів

Пацієнти як основної групи (групи II та III), так і групи порівняння (група I), були обстежені комплексно за однаковим, встановленим дослідженням, алгоритмом.

Основними офтальмологічними показниками, які аналізувались у досліджуваних пацієнтів, були наступні: рівень максимальної гостроти зору з корекцією, величина центральної товщини сітківки (ЦТС) за даними ОКТ, маркери морфологічної структури макули (наявність макулярного набряку, субретинальної неоваскуляризації тощо). Розподіл пацієнтів за наведеними показниками представлено в таблицях 1.3 та 1.4.

Беручи до уваги відомі факти [12-17], що на розвиток вікової дегенерації макули впливають місце проживання пацієнта, куріння, вживання алкоголю, фізичні навантаження, нераціональне харчування, артеріальна гіпертензія, іонізуюче випромінювання, операції та травми очей, в нашому дослідженні було проведено аналіз наявності ВДМ серед населення, що мешкає в місті або сільській місцевості, а також частка інших можливих факторів ризику серед пацієнтів основної та групи порівняння. Отримані результати наведено в таблиці 1.5.

Таблиця 1.3

Розподіл пацієнтів в залежності від показників максимальної гостроти зору та центральної товщини сітківки в досліджуваних групах, n=182

Показник	$\bar{X} \pm m$			Критерій F	Рівень значущості відмінності, p
	Група I, n=38	Група II, n=64	Група III, n=80		
Гострота зору, OD	0,85±0,05	0,77±0,03	0,36±0,04	49,294	1,14E-17
Гострота зору, OS	0,90±0,04	0,74±0,03	0,39±0,03	50,589	4,11E-18
ЦТС, OD, мкм	233,74±7,92	236,92±5,25	321,10±15,72	16,628	2,40E-07
ЦТС, OS, мкм	219,42±2,33	243,87±5,45	334,49±17,31	20,370	1,07E-08

Примітка: застосовано дисперсійний аналіз порівняння середніх величин

Таблиця 1.4

Розподіл пацієнтів в залежності від наявності макулярного набряку та субретинальної неоваскуляризації в досліджуваних групах, n=182

Показник		Абс. / %			Критерій χ^2	Рівень значущо сті відмінно сті, p
		Група I, n=38	Група II, n=64	Група III, n=80		
Макулярний набряк, OD	немає	38 /100%	62 /96,9%	42 /52,5%	43,075	<0,001
	є	0 / 0%	2 / 3,1%	38 / 47,5%		
Макулярний набряк, OS	немає	38 /100,0%	62 /96,9%	40 /50,0%	54,419	<0,001
	є	0 / 0%	2 / 3,1%	40 /50,0%		
Субретинальна неоваскуляризація, OD	немає	38 /100,0%	64 /100,0%	58 /72,5%	66,905	<0,001
	є	0 / 0%	0 / 0%	22 /27,5%		
Субретинальна неоваскуляризація, OS	немає	38 /100,0%	64 /100,0%	40 /50,0%	65,366	<0,001
	є	0 / 0%	0 / 0%	40 /50,0%		

Таблиця 1.5

Вплив основних факторів ризику в розподілених групах пацієнтів, n=182

Показник		Абс. / %			Критерій χ^2	Рівень значущості відмінності, p
		Група I, n=38	Група II, n=64	Група III, n=80		
Місце проживання	місто	34 / 89,5%	62 / 96,9%	80 / 100,0%	8,963	0,011
	село	4 / 10,5%	2 / 3,1%	0 / 0%		
Паління	так	10 / 6,3%	4 / 6,2%	12/15,0%	7,899	0,019
	ні	28 / 3,7%	60/93,7%	68/85,0%		
Вживання алкоголю	так	22 /57,9%	8 / 12,5%	16/20,0%	28,118	<0,001
	ні	16 /42,1%	56/87,5%	64/80,0%		
Заняття спортом	так	18 /47,4%	22/34,4%	14 /17,5%	12,061	0,002
	ні	20 /52,6%	42/65,6%	66/ 82,5%		
Раціональне харчування	так	30 /79,0%	62/96,9%	72/90,0%	8,601	0,013
	ні	8 / 21,0%	2 / 3,1%	8 / 10,0%		
Тривала інсоляція	так	4 / 10,5%	4 / 6,3%	2 / 2,5%	3,305	0,191
	ні	34 /89,5%	60/93,7%	78/97,5%		
Робота з іонізуючим випроміненням	так	0 / 0%	4 / 6,3%	6 / 7,5%	2,899	0,235
	ні	38/100,0%	60/93,7%	74/92,5%		
Артеріальна гіпертензія	так	22 / 57,9%	50/78,1%	64/80,0%	7,269	0,026
	ні	16 / 42,1%	14 21,9%	16/20,0%		
Операції, травми очей	так	6 / 15,8%	8 / 12,5%	36/45,0%	22,138	<0,001
	ні	32 / 84,2%	56/87,5%	44 55,0%		

Враховуючи аналіз досліджень останніх років [12, 18, 19], які показали підвищений ризик виникнення ВДМ у пацієнтів з порушенням ліпідного обміну, ожирінням, наявністю атеросклерозу та беручи до уваги той факт, що важлива роль в патогенезі ВДМ відводиться запаленню [20-24], в ході проведення нашого дослідження було використано визначення ключових показників ліпідограми та загального аналізу крові у пацієнтів основної та групи порівняння. Слід зазначити, що ці показники крові, а також вимірювання ваги та росту пацієнтів не становлять труднощів і зазвичай досліджуються в лабораторії кожного поліклінічного відділення. Для оцінки ступеня ожиріння було проведено розрахунок індексу маси (ІМТ) тіла, що визначав відношення ваги тіла пацієнта в кг до квадрату зросту тіла в м². Аналіз зазначених результатів дослідження наведено в таблиці 1.6.

Таблиця 1.6

**Розподіл пацієнтів в залежності від показників крові та ІМТ
в досліджуваних групах, n=182**

Показник	$\bar{X} \pm m$			Критерій χ^2	Рівень значущості відмінності, p
	Група I, n=38	Група II, n=64	Група III, n=80		
ІМТ, кг/м ²	28,68±0,44	26,66±0,40	26,71±0,49	4,336	0,014
Холестерин, ммоль/л	4,93±0,17	5,66±0,17	5,86±0,13	8,178	0,0004
ТГ, ммоль/л	1,75±0,11	1,23±0,07	1,36±0,08	7,934	0,0005
ЛПНЩ, ммоль/л	2,69±0,17	3,72±0,15	3,86±0,12	14,971	9,16E-07
ЛПДНЩ, ммоль/л	0,33±0,02	0,38±0,14	0,28±0,02	6,172	0,003
ЛПВЩ, ммоль/л	1,35±0,04	1,35±0,04	1,42±0,05	0,736	0,481
Індекс атерогенності	3,17±0,13	3,44±0,17	3,51±0,13	1,125	0,327
Глюкоза крові, ммоль/л	4,92±0,10	5,34±0,09	5,26±0,06	5,540	0,005
Еритроцити, Т/л	4,35±0,07	4,74±0,04	4,76±0,05	13,865	1,73E-06
Лейкоцити, Г/л	6,44±0,19	6,28±0,20	6,54±0,18	0,566	0,569
Тромбоцити, Г/л	206,39±6,38	224,38±5,46	212,65±5,36	2,129	0,122
Гемоглобін, г/л	137,97±1,56	139,91±1,62	140,53±1,60	0,501	0,607
ШОЕ, мм/год	9,26±0,53	11,34±0,57	9,59±0,45	4,387	0,014

Примітка: застосовано критерій χ^2 (з урахуванням поправки Йетса)

Таблиця 1.7

Розподіл пацієнтів в залежності від генотипів в досліджуваних групах, n=182

Показник		Абс. / %			Критерій χ^2	Рівень значущості відмінності, p
		Група I, n=38	Група II, n=64	Група III, n=80		
ARMS2	G/G	16 / 42,1%	18 / 28,1%	16 / 20,0%	8,187	0,085
	G/T	22 / 57,9%	42 / 65,6%	58 / 72,5%		
	T/T	0 / 0%	4 / 6,3%	6 / 7,5%		
CFH	G/G	22 / 57,9%	32 / 50,0%	23 / 28,7%	14,474	0,006
	G/A	14 / 36,8%	24 / 37,5%	37 / 46,2%		
	A/A	2 / 5,3%	8 / 12,5%	20 / 25,0%		
VEGFA rs2010963	G/G	20 / 52,6%	22 / 34,4%	21 / 26,2%	9,639	0,047
	G/C	16 / 47,4%	30 / 46,9%	45 / 56,2%		
	C/C	2 / 5,2%	12 / 18,7%	14 / 17,5%		
VEGFA rs699947	C/C	8 / 21,0%	22 / 34,4%	10 / 12,5%	18,985	0,0008
	C/A	30 / 79,0%	40 / 62,5%	58 / 72,5%		
	A/A	0 / 0%	2 / 3,1%	12 / 15,0%		

Примітка: застосовано критерій χ^2 (з урахуванням поправки Йетса)

Крім того, в усіх пацієнтів ми проводили визначення поліморфізмів генів ARMS2, rs 10490924; CFH, rs800292; VEGFA, rs2010963 та rs699947. Результати розподілу пацієнтів основної та групи порівняння в залежності від генотипів наведено в таблиці 1.7.

1.4. Клінічні методи дослідження.

У всіх пацієнтів, які були включені в дослідження, було проведено комплексне офтальмологічне обстеження, що включало загальноклінічні та інструментальні методи офтальмологічного обстеження. Всі цифрові результати клінічного обстеження оброблялися статистично.

Загальноклінічні офтальмологічні методи:

- Анамнез. Визначення можливих факторів ризику.
- Дослідження зорових функцій: візометрія, статична периметрія (Topcon SBP-3000S).
- Біомікроскопія переднього відрізка ока (Topcon), біомікроскопія заднього відрізка ока з асферичними лінзами (Topcon, Ocular).
- Пневмотонометрія (Topcon).
- Рефрактометрія (Topcon).
- Оптична когерентна томографія (Topcon).
- Флуоресцентна ангіографія сітківки (Carl Zeiss, Німеччина).

Загальноклінічні та біохімічні лабораторні методи дослідження:

- Загальний аналіз крові.
- Аналіз крові на глюкозу.
- Ліпідограма.

Молекулярно-генетичні методи дослідження:

- Полімеразна ланцюгова реакція.

Статистичні методи дослідження:

- Статистичне спостереження.
- Варіаційна статистика.
- Множинне порівняння.

- Кореляційний аналіз.
- Методи побудови та аналізу логістичних моделей регресії.
- Метод покрокового виключення.
- Метод побудови кривих діагностичних характеристик (ROC).

1.4.1. Загальноклінічні офтальмологічні методи

Збір анамнезу та визначення можливих факторів ризику.

Схема опитування пацієнтів була стандартною. Особлива увага приділялась скаргам, що свідчать про патологію макулярної області сітківки, а саме: зниження гостроти зору вдалину, наявність метаморфопсій (спотворення, викривлення предметів ураженим оком), мікропсій або макропсій (зменшене або збільшене сприйняття предметів перед ураженим оком), наявність плями перед ураженим оком.

Дослідження зорових функцій. Візометрія. Дослідження гостроти зору здійснювали за стандартною загальноприйнятою методикою з 5 метрів з використанням апарату Рота та таблиць Сивцева – Головіна. Для проведення візометрії з корекцією використовували стандартний набір коригуючих лінз та пробну оправу.

Статична периметрія. Поля зору досліджували за допомогою комп'ютерного периметру Торсон SBP-3000S з використанням техніки статичної периметрії за допомогою стимулів, відтворених світлодіодами [25]. Дослідження проводили в мезопічних умовах в положенні хворого сидячи. Для дослідження використовували програми «White White», «Full Screening», «Central 30-2», «FF-120 Screening», «Peripheral 60-4», «Standard 30 kinetic». Прилад автоматично складав карту поля зору, що допомагала виявити проблемні точки (скотоми) в центральному зорі, які порівнювали зі шкалою скотом і кількісно оцінювали в абсолютних величинах.

Біомікроскопія ока. Біомікроскопію переднього відрізка ока проводили в умовах медикаментозного мідріазу за допомогою щілинної лампи Торсон №10410781, що об'єднувала в собі функції мікроскопу та освітлювача. Промінь щілинної лампи робив оптичний зріз, що дозволяло роздивитись прозорі тканини

ока, оцінити наявність в них патологічних змін [26]. Пацієнтів, що мали патологію рогівки, кришталика, скловидного тіла, яка значно знижувала зір та перешкоджала проведенню спеціальних інструментальних офтальмологічних досліджень, а саме: оптичної когерентної томографії, в дослідження не включали.

Біомікроскопію заднього відрізка ока проводили за допомогою тієї ж щілинної лампи (Topcon) та асферичної лінзи 78дптр. (OCULAR MaxField®) в умовах медикаментозного мідріазу за загальноприйнятою методикою [27, 28]. Оцінювали стан диска зорового нерву (ДЗН), макулярної ділянки, судин та периферії сітківки. В ході цього дослідження лінза розташовувалася на відстані 25-30 см від поверхні рогівки пацієнта та строго перпендикулярно вісі спостереження. Мікроскоп щілинної лампи відводився на максимальну відстань від досліджуваного ока, потім, після появи рефлексу з очного дна, повільно наближався до появи чіткого зображення сітківки. Біомікроскопія заднього відрізка дозволяла діагностувати наявність старечої дегенерації макули або її відсутність. Після огляду сітківки пацієнти обов'язково направлялись для проведення ОКТ макулярної ділянки. В деяких випадках для уточнення стадії процесу проводили флюоресцентну ангіографію сітківки.

Пневмотонометрія. Вимірювання внутрішньоочного тиску проводилось безконтактно-оптичним методом за допомогою автоматичного тонометра СТ-80 № 1572841 виробництва «TOPCON Corporation» (Японія) за стандартною методикою [29]. Для кожного ока дослідження проводили тричі та визначали усереднене значення. Якщо середній результат вимірювання внутрішньоочного тиску перевищував 23 мм рт.ст., пацієнти вилучались із дослідження.

Рефрактометрія. Об'єктивне визначення аметропії очей та оптичної сили окулярної корекції здійснювали за допомогою авторефрактометра RM-8800 № 4020396 виробництва «Topcon Corporation» (Японія) з використанням загальноприйнятих методик дослідження згідно інструкцій і рекомендацій щодо порядку роботи з приладом [30]. Для кожного ока дослідження проводили тричі та визначали усереднене значення. Отримані середні показники рефракції використовували у проведенні візометрії з корекцією.

Оптична когерентна томографія (ОКТ, optical coherence tomography).

Оптична когерентна томографія сітківки – це сучасний неінвазивний безконтактний та інформативний метод для діагностики патології сітківки, переважно її центральної ділянки (макули). ОКТ дозволяє за допомогою скануючого лазерного променя отримувати зображення оптичних зрізів сітківки, виявляти ранні зміни анатомо-функціонального стану сітківки та оцінювати ступінь цих порушень. В основі роботи приладу лежить діагностична технологія, що дає змогу отримати зображення зрізів оболонок ока з високою роздільною здатністю, виміряти товщину їх за допомогою світлового сигналу, що відбивається від меж біологічних шарів [31]. Тривимірна візуалізація макулярної ділянки сітківки досягається за допомогою спеціалізованої комп'ютерної програми на підставі лінійних сканів. Таке зображення дає можливість повною мірою оцінити профіль поверхні сітківки, її внутрішню топографію [31].

ОКТ макулярної ділянки сітківки проводилася за допомогою оптико-когерентного томографа 3D-OCT-1000 80 № 103392 виробництва «Topcon Corporation» (Японія) в режимі 3D-Scan (послідовне сканування всього сегменту сітківки) – див. табл. 1.8.

Таблиця 1.8

Параметри сканування сітківки пацієнтів, які включені в дослідження, n=182

Режим сканування	Довжина скану (мм)	Роздільна здатність
3D-Scan	4,5x4,5	256x64

Вивчалися анатомо-топографічні співвідношення шарів сітківки та товщина сітківки в макулярній зоні. Для аналізу товщини макули в різних відділах було використано параметр – центральна товщина сітківки – ЦТС (average retinal thickness fovea).

Використання ОКТ дозволяло у кожного пацієнта проводити аналіз визначення наявності / або відсутності патогномонічних маркерів морфологічної структури макули, що характерні для різних форм ВДМ. Так, при «сухій» формі ВДМ вивчалися множинні дрібні друзи, друзи середнього розміру (діаметр від 63 до 124

мікрон), великі друзи (діаметр більше 125 мікрон), географічна атрофія, початкові зміни пігментного епітелію. У пацієнтів з наявністю «вологої» форми ВДМ метод дозволяв візуалізувати та розрізняти кістозний набряк нейроепітелію, транссудативне відшарування пігментного епітелію, класичну СНМ, хоріоретинальну судинну проліферацію, субретинальний фіброз.

Завдяки використанню ОКТ об'ємне тривимірне графічне зображення сітківки здобувалося неінвазивним способом, без необхідності проведення попередньої підготовки пацієнта, а цінність кількісного опису та оцінки топографії різних ділянок сітківки була необхідна і важлива для динамічного спостереження змін при патологічних процесах.

Оптичне когерентне сканування макулярної ділянки сітківки пацієнтів проводилось в умовах медикаментозного мідріазу після інстиляції в досліджуване око 1% тропікамідю після попереднього вимірювання внутрішньоочного тиску. При цьому незначне або помірно виражене зниження прозорості оптичних середовищ (наприклад, початкова або незріла катаракта) не впливали на дозвільну здатність метода ОКТ. Крім цього, процедура не потребувала додаткової підготовки пацієнта. Після вводу даних про пацієнта (номер карти, прізвище, ім'я, дата народження пацієнта) пацієнт фіксував погляд на об'єкті в лінзі фундус-камери. Камеру наближали до досліджуваного ока до того моменту, поки зображення сітківки не відображалось на моніторі. Після цього фіксували камеру натисканням кнопки фіксатора та відрегульовували чіткість зображення. Після обробки даних проводили вимірювання досліджуваних тканин та аналіз їх оптичної щільності. Зразки отриманих томограм сітківки представлені на рисунках 1.2 – 1.4.

Як видно з рис.1.2, томограма «нормальної» сітківки: вітреоретинальний інтерфейс не змінений, фовеальний профіль збережений, архітектоніка сітківки не порушена, комплекс пігментний епітелій-хоріокапіляри не змінений.

На рис.1.3. наведено томограму пацієнтки із «сухою» формою ВДМ: вітреоретинальний інтерфейс не змінений, фовеальний профіль збережений, архітектоніка сітківки не порушена, множинні друзи з ділянками дезорганізації та атрофії пігментного епітелію.

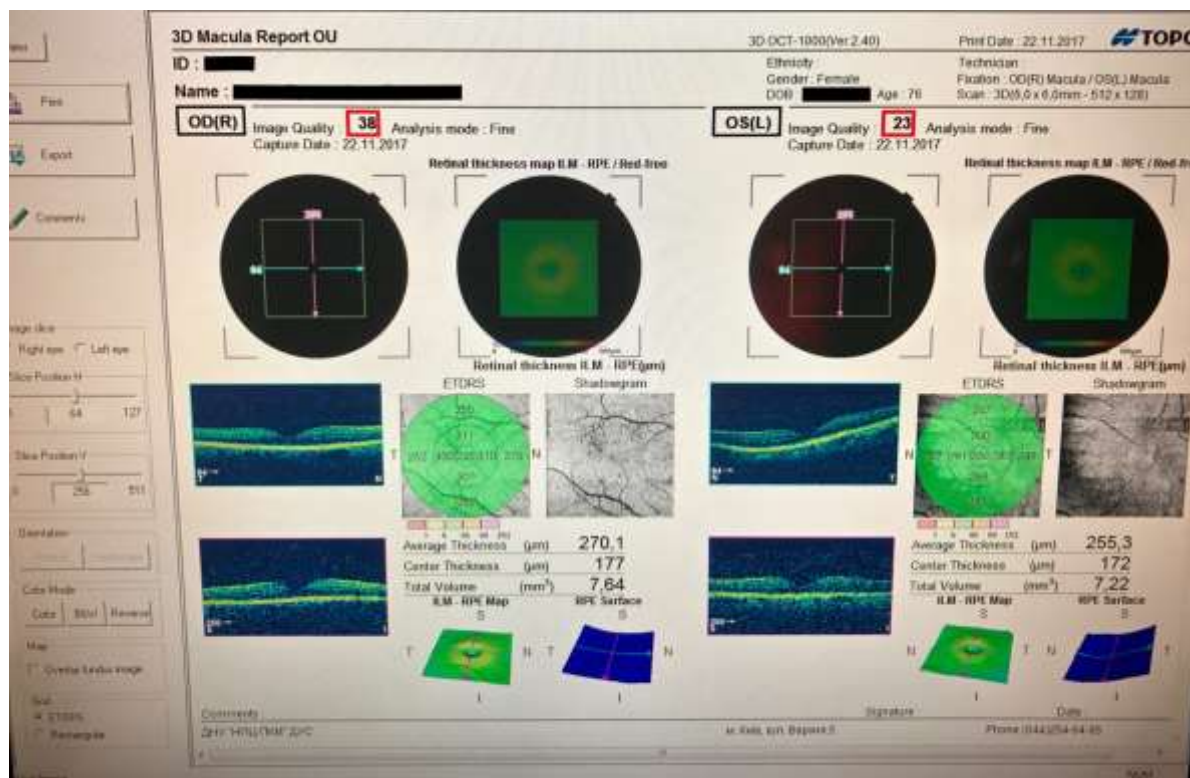


Рис. 1.2. Томограма «нормальної» сітківки

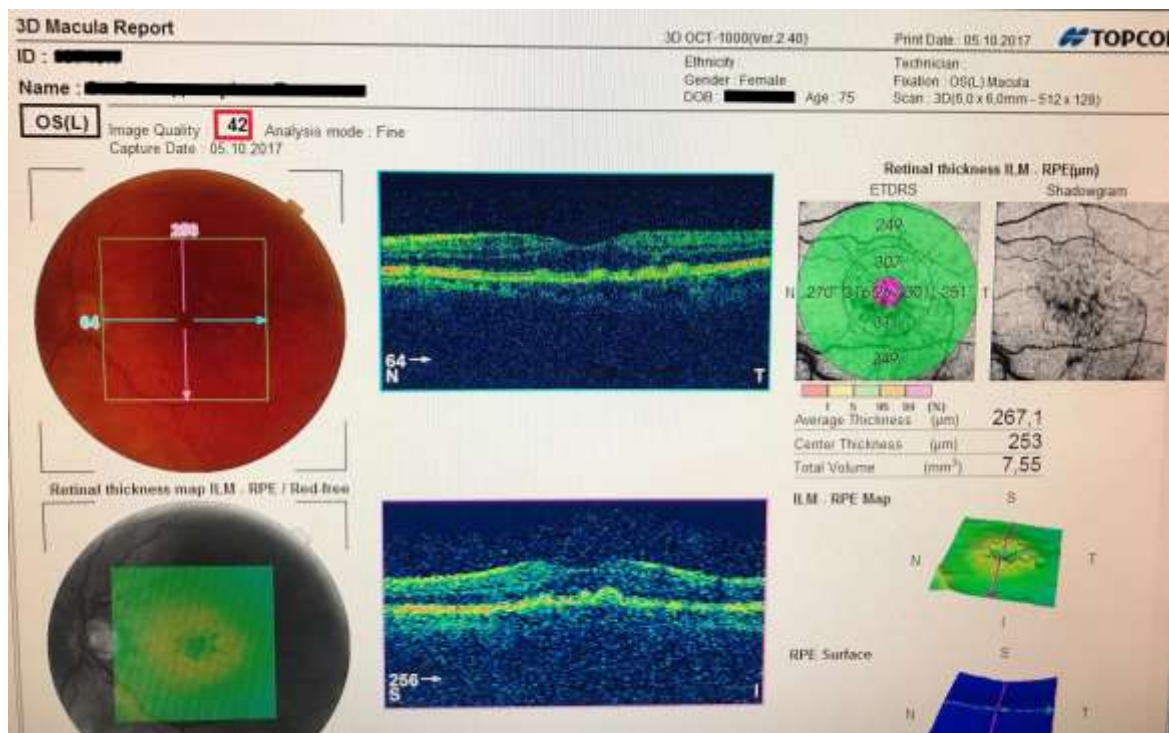


Рис. 1.3. Томограма пацієнтки із «сухою» формою ВДМ

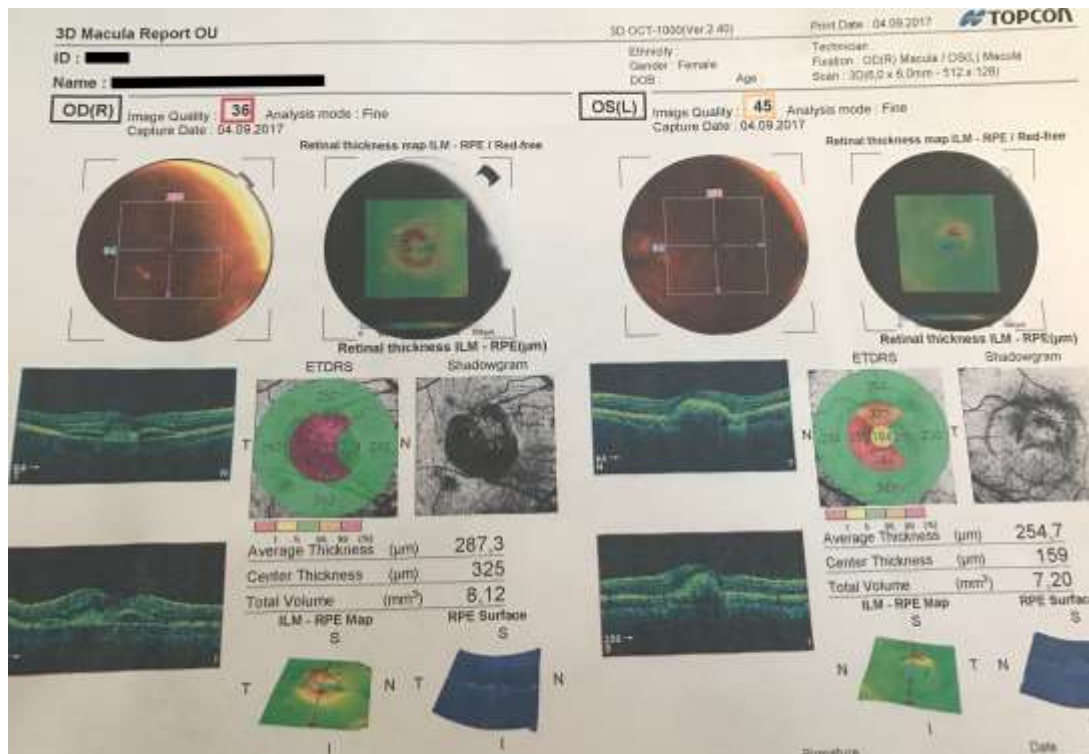


Рис. 1.4. Томограма пацієнтки із «вологою» формою ВДМ

Результати дослідження пацієнтки із «вологою» формою ВДМ наведені на рис.1.4.: на правому оці вітреоретинальний інтерфейс не змінений; фовеальний профіль деформований, згладжений; відшарування пігментного та нейроепітелію, дифузний набряк нейроепітелію; потовщення комплексу пігментний епітелій-хоріокапіляри – СНМ. На лівому оці цієї ж пацієнтки СНМ без ознак активності, формування субретинального рубця, атрофічні зміни нейроепітелію.

Флуоресцентна ангіографія сітківки (ФАГ). ФАГ проводилась на клінічній базі кафедри офтальмології НМАПО імені П. Л. Шупика – у міському науково-практичному центрі «Лазерні методи лікування ока» КМКОЛ «Центр мікрохірургії ока» за стандартною методикою на ретинальній камері TRC-NW7SF (Торсон, Японія). Дослідження проводили в умовах медикаментозного мідріазу. Перед початком процедури кожному пацієнтові вимірювали внутрішньоочний тиск та робили фотознімок з метою контролю за псевдоаутофлуоресценцією структур очного дна. Як контрастну речовину використовували 10% розчин флуоресцеїну натрію виробництва фірми Алкон Ресеч, Лтд для «Алкон Лабораториз Інк.» США. Препарат в кількості 5 мл вводили в ліктьову вену протягом 2-3 секунд. Перед

введенням перевіряють чутливість хворого до препарату: в/ш вводять 0,1 мл 1% розчину. Через 6-7 с. після ін'єкції починали серійну зйомку очного дна зони 2 протягом 20-25 с. з інтервалом 1.0 с., надалі з інтервалом 5-10 с. по досягненні 60 с. Наступні фази реєстрували на 3 хв., на 5 хв., на 10 хв. дослідження.

1.4.2. Загальноклінічні та біохімічні лабораторні методи дослідження

Загальноклінічні та біохімічні дослідження крові проводились в лабораторії Державної наукової установи «Науково-практичний центр профілактичної та клінічної медицини» Державного управління справами або в приватних лабораторіях за бажанням пацієнта.

Для проведення загальноклінічного та біохімічного аналізів крові використовували венозну кров, яку набирали з ліктьової вени в стерильних умовах у вакутайнери:

- з сірою кришкою (з додаванням фториду натрію та етилендіамінтетраацетату (ЕДТА) калію) – 6 мл крові для визначення глюкози;
- з бузковою кришкою (з додаванням ЕДТА калію або натрію) – 2 мл крові для проведення загального аналізу;
- з червоною кришкою (містить активатор згортання або без наповнювача) – 8 мл крові для проведення біохімічного визначення фракцій ліпідів.

Для проведення загальноклінічного аналізу використовувались автоматичні гематологічні аналізатори Swelab Alfa. Визначення глюкози в крові проводилось глюкозооксидазним методом за допомогою автоматичних біохімічних аналізаторів Selectra XL. Ліпідограма складалась з визначення загального холестерину (Хол), тригліцеридів (ТГ), ліпопротеїдів високої щільності (ЛПВЩ), ліпопротеїдів низької щільності (ЛПНЩ) та ліпопротеїдів дуже низької щільності (ЛПДНЩ), а також індексу атерогенності (ІА). Визначення холестерину проводилось ферментативно-калориметричним методом, визначення ліпідних фракцій проводилось методами осадження та фотометрії за допомогою автоматичних біохімічних аналізаторів. Індекс атерогенності (ІА) визначали як суму значень ЛПДНЩ та ЛПНЩ, розділену на кількість ЛПВЩ.

Рефрактерні значення досліджуваних біохімічних та загальноклінічних показників крові були вказані в інструкціях до наборів дослідження та наведені в таблиці 1.9.

Таблиця 1.9

Рефрактерні значення показників крові

Показники	Значення
Холестерин, ммоль/л	3,6 – 6,2
ТГ, ммоль/л	до 2,3
ЛПНЩ, ммоль/л	3,4 – 4,1
ЛПДНЩ, ммоль/л	до 0,46
ЛПВЩ, ммоль/л	більше 1,0
Індекс атерогенності	до 3,5
Глюкоза крові, ммоль/л	4,1 – 5,9
Еритроцити, Т/л	чол. 4,0 – 5,5; жін. 3,8 – 5,3
Лейкоцити, Г/л	4,0 – 9,0
Тромбоцити, Г/л	150 – 400
Гемоглобін, г/л	чол. 130 – 170; жін. 120 – 150
ШОЕ, мм/год	чол. 1 – 10; жін. 5 – 15

До проведення аналізу крові для отримання достовірних результатів пацієнти дотримувались наступних рекомендацій:

- аналіз крові здавали вранці натще;
- не приймали їжу за 10-12 годин до обстеження;
- не дотримувались дієти протягом 2 тижнів, а харчувались як завжди;
- не вживали алкоголь як мінімум за добу до дослідження;
- не курили як мінімум за 1 годину до обстеження;
- виключали важкі фізичні та психоемоційні навантаження за добу до дослідження;
- у день здавання аналізу крові безпосередньо перед аналізом не проводились фізіо-процедури, рентгенографія, ультразвукове дослідження та інші інструментальні маніпуляції;
- дослідження крові проводилось після консультації терапевта, особливо у випадках, коли пацієнт вимушений постійно приймати будь-які медикаменти, з

метою врахування можливої дії лікарських засобів на результат аналізу та правильної інтерпретації результатів.

1.4.3. Молекулярно-генетичні методи дослідження

Перед початком дослідження всі пацієнти були в повному обсязі ознайомлені з метою та завданням дослідження та підписали інформовану згоду на участь в ньому. Для проведення молекулярно-генетичних досліджень проводили забір венозної крові обсягом 2,5 мл із ліктьової вени у вакутайнери («Sarstedt», Німеччина). Забір матеріалу для дослідження проводився кваліфікованим середнім медичним персоналом із дотриманням правил медичної асептики та антисептики. В дослідженні були використані вакутайнери з фіолетовою кришкою, що містили калієву сіль етилендіамінтетраоцтової кислоти (EDTA, 11,7 мМ) як антикоагулянт. Всі контейнери були марковані та заморожені при температурі -70°C .

Генетичні дослідження проводили на базі Науково-дослідного інституту експериментальної та клінічної медицини Національного медичного університету імені О.О. Богомольця (директор – д.мед.н., професор Л.В. Натрус) з дотриманням основних положень про права людини та біомедицину Конвенції Ради Європи, Гельсинської декларації щодо етичних принципів проведення наукових медичних досліджень за участю людини (1964, 2000) [32, 33] та Наказу МОЗ України №690 від 23.09.2009 року [34].

Використовуючи реактиви Genomic DNA PureLink® Kits For purification of genomic DNA (Invitrogen, США), проводили виділення геномної ДНК. Застосування реактивів PureLink® Genomic DNA ґрунтувалося на швидкості та ефективності виділення геномної ДНК, яку отримували з тканин і клітин ссавців, мишачих і щурячих хвостів, мазків, ссразків крові, бактеріальних препаратів, що були фіксовані за допомогою формаліну або парафіну тканин тощо. Крім того, для очищення ДНК в підготовлених лізатах була застосована процедура, що заснована на методиці центрифугування за допомогою змінних колонок.

Молекулярно-генетичні дослідження проводили в декілька етапів. По-перше, виконували інкубацію з протеїназою K та Digestion Buffer. По-друге, шляхом проведення центрифугування позбавлялися від продуктів лізісу та денатурації. Щоб

попередити контамінацію матеріал додатково інкубували з використанням РНК-ази. По-третє, лізат поміщали у хроматографічну колонку та проганяли тричі з використанням промивного буферу. По-четверте, шляхом застосування буферу для елюції знімали ДНК з колонки і переносили в аналітичну пробірку. При виконанні дослідження концентрація ДНК, як правило, складала на пробу від 5 до 25 мг, що було достатнім критерієм для проведення ПЛР. По-п'яте, здійснювали аналіз поліморфних ДНК-локусів використовуючи уніфіковані тест-системи Mutation Detection Assays TaqMan Life-Technology (США).

У нашому дослідженні ми проводили аналіз декількох поліморфізмів: поліморфізму rs10490924 гена ARMS2, поліморфізму rs800292 гена CFH, поліморфізм rs2010963 гена VEGFA та поліморфізм rs699947 гена VEGFA.

Поліморфізм rs10490924 гена ARMS2 мав хромосомну локалізацію Chr.10:122454932 on Build GRCh38. Сіквенс ділянки, який аналізувався, виглядав наступним чином – TTTATCACAACCTCCATGATCCCAGCT [G/T] СТААААТССАСА СТGAGCTCTGCTT, поліморфний кодон GCT/ТСТ. Цей поліморфізм являв собою просту нуклеотидну заміну у 69 положенні білка ARMS2 (A69S) гуанінового нуклеотиду (G) на тимідіновий (T), яка призводила до відповідної заміни (місенс-мутації) амінокислоти аланін на аргінін. «Дикою» алеллю була алель G, мінорною – алель T, загальна частота якої складала T=0,2865/1435, за даними MAF Source: 1000 Genomes (<http://www.1000genomes.org>) [35].

Поліморфізм rs800292 гена CFH мав хромосомну локалізацію Chr.1:196673103 on Build GRCh38. Сіквенс ділянки, що аналізувалася, мав вигляд – CCCTGGATATAGATCTCTTGGAAAT[A/G]TAATAATGGTATGCAGGAAGGGAG A, поліморфний кодон ATA/GTA. Цей поліморфізм представлявав собою просту нуклеотидну заміну у 62 положенні білка CFH (I62V) гуанінового нуклеотиду (G) на аденіновий (A), яка призводила до відповідної заміни (місенс-мутації) амінокислоти ізолейцину (Ile, I) на валін (Val, V). «Дикою» алеллю була алель G, мінорною – алель A, загальна частота якої складала A=0,4681/2344 за даними MAF Source: 1000 Genomes (<http://www.1000genomes.org>) [35].

Поліморфізм *rs2010963* гена *VEGFA* мав хромосомну локалізацію Chr.6:43770613 on Build GRCh38. Сіквенс ділянки, що аналізувався, був наступним: CGCGCGGGCGTGCGAGCAGCGAAAG[C/G]GACAGGGGCAAAGTGAGTGACCT GC. Цей поліморфізм являв собою просту нуклеотидну заміну гуанінового нуклеотиду (G) на цитидіновий (C). «Дикою» алеллю була алель G, мінорною – алель C, загальна частота якої за даними MAF Source: 1000 Genomes (<http://www.1000genomes.org>) складає C=0,3261/1633 [35].

Поліморфізм *rs699947* гена *VEGFA* мав хромосомну локалізацію Chr.6:43768652 on Build GRCh38. Сіквенс ділянки, який аналізувався, виглядав наступним чином – GCCAGCTGTAGGCCAGACCCTGGCA [A/C] GATCTGGGTG GATAATCAGACTGAC. Цей поліморфізм являв собою просту нуклеотидну заміну цитидінового нуклеотиду (C) на аденозинний (A). «Дикою» алеллю була алель C, мінорною – алель A, загальна частота якої за даними MAF Source: 1000 Genomes (<http://www.1000genomes.org>) складає A=0,3245/1625 [35].

Протягом дослідження враховували технології проведення аналізу. Перший етап включав інкубацію ДНК (яку досліджували) в присутності ДНК-полімерази із застосуванням автоматичного ампліфікатора PCR System Gene Amp® 7500 (Applied Biosystems, США) з системою праймерів, які фланкували ділянки ДНК генів та потребували аналізу. Була застосована програма: спочатку протягом 2 хвилин проводили первинну денатурацію при 93°C, виконували послідовно 30 циклів, що склалися з денатурації протягом 10 секунд при температурі 96°C, відпалу праймерів протягом 15 секунд при температурі 62°C, елонгації протягом 20 секунд при температурі 72°C. Останній етап – застосування синтезу протягом 10 секунд при температурі 72°C. Для обробки результатів з ампліфікатора використовували програму RealTime_PCR, що була синхронізована з ампліфікатором. У кінці процедури проводили автоматичну обробку отриманих результатів значень порогів циклів ампліфікації (Ct – cycle threshold) [35].

1.5. Статистична обробка результатів дослідження

Протягом дослідження розраховували середнє арифметичне значення (M), помилку середнього (m) та середньоквадратичне відхилення (s) для уявлення про чисельні показники. Для оцінки якісних ознак проводили визначення частоти їх появи (%) [36].

При порівнянні кількісних ознак в разі нормального закону розподілу у двох групах використовували критерій Стюдента. Крім того, у разі відхилення закону розподілу від нормального використовували непараметричні критерії: Mann-Whitney U Test; Wilcoxon Matched Pairs Test. При порівнянні частоти якісних ознак у двох групах використовували двосторонній точний критерій Фішера [36]. Для порівняння середніх значень кількісних показників у трьох і більше групах використовували дисперсійний аналіз. У разі, коли закон розподілу відрізнявся від нормального, застосовували критерій Kruskal-Wallis ANOVA by Ranks і Friedman ANOVA and Kendall Coeff. of Concordance. З метою порівняння розподілу значень якісних ознак використовували критерій χ^2 [36].

Кількісну оцінку величини ефекту для якісних ознак проводили за показником відношення шансів (ВШ; Odds Ratio – OR). При узагальненні отриманих результатів розраховували 95% вірогідний інтервал ($\pm 95\%$ BI; Confidence limit for means Interval – CI). Для оцінки ступеня зв'язків між ознаками використовували методи кореляційного аналізу. При аналізі факторів, які пов'язані із ризиками розвитку патологічних процесів, залучали методи побудови математичних моделей: багатфакторні моделі логістичної регресії та моделі множинної регресії. При оцінці адекватності логістичних моделей використовували метод аналізу кривих операційних характеристик (ROC – Receiver Operating Characteristic curve analysis). Для цього розраховувалася площа під ROC-кривою (AUC – Area under the ROC curve). Модель вважалася адекватною при статистично значущій відмінності величини AUC від 0,5 [36].

Статистичний аналіз результатів клінічних досліджень проводили з використанням програми Statistica 10 (StatSoft, Inc., USA). При проведенні аналізу критичний рівень значущості дорівнював 0,05 [36].

1.6. Дотримання етичних норм дослідження

Участь пацієнтів в дослідженні була цілком добровільною. Обстеження пацієнта проходили під час амбулаторного прийому і/або стаціонарного спостереження на клінічній базі кафедри офтальмології Національної медичної академії післядипломної освіти імені П. Л. Шупика - Київській міській клінічній офтальмологічній лікарні «Центр мікрохірургії ока» та офтальмологічному відділенні консультативно-діагностичного центру Державної наукової установи «Науково-практичний Центр профілактичної та клінічної медицини» Державного управління справами. Всі пацієнти були в повному обсязі обізнані з характером дослідження і підписали інформовану згоду на проведення діагностичного обстеження та використання персональних даних.

Забір крові проводили кваліфіковані медичні сестри із дотриманням правил медичної асептики та антисептики тільки після повного ознайомлення пацієнта з метою та завданнями дослідження та підписання ним інформованої згоди (згідно Протоколу засідання комісії з питань етики НМАПО імені П.Л. Шупика № 9 від 05.12.2016 року).

Дослідження проводили з дотриманням основних положень Конвенції Ради Європи щодо прав людини та біомедицину, Хельсінкської декларації Всесвітньої медичної асоціації, яка прописала етичні принципи проведення наукових медичних досліджень за участю людини (версії 1964 і 2000 років) та Наказу МОЗ України №690 від 23.09.2009 року.

Резюме до розділу 1.

Таким чином, аналіз сучасної літератури дозволяє зробити висновок, що визначення класифікацій вікової дегенерації макули мають велику історію і широкі можливості для вирішення більшості проблем діагностики та планування тактики лікування даної патології, але досі далекі від завершення. Найбільшого використання в нашій державі знайшли декілька класифікацій. По-перше, класифікація Н.В. Пасєчнікової (2010), яка була затверджена на XII з'їзді офтальмологів України в 2010 році та увійшла до затверджених уніфікованих та локальних протоколів надання невідкладної медичної допомоги населенню України.

По друге, відома у всьому світі класифікація AREDS. Ці класифікації полегшують вибір оптимальної тактики ведення пацієнтів з ВДМ в залежності від клінічної ситуації і були використані в даному дисертаційному дослідженні.

Встановлено, що серед пацієнтів, які були включені в дослідження, переважали жінки, 61,54±2,9%, віком від 70 до 78 років, тобто особи непрацездатного віку. Статистично значущої відмінності розподілу пацієнтів за статтю та віком в основній та групі порівняння не виявлено.

Враховуючи суперечливі результати досліджень останніх років та беручи до уваги той факт, що важлива роль в патогенезі ВДМ відводиться запаленню, в ході проведення даного дослідження як фактори ризику були використані визначення ключових показників ліпідограми та загального аналізу крові, а також наявності ожиріння (показників індексу маси тіла), артеріальної гіпертензії, місця проживання пацієнта, схильності до куріння, вживання алкоголю, фізичні навантаження, нераціональне харчування, іонізуюче випромінювання, перенесені операції та травми очей у пацієнтів основної та групи порівняння.

Встановлено, що однією з основних ланок патогенезу ВДМ є первинні генетичні дефекти, однак досліджень ролі генетичних чинників в розвитку ВДМ, а саме поліморфізму генів ARMS2, rs 10490924; CFH, rs800292; VEGFA, rs2010963 та rs699947, в Україні не проводилось. Це дозволило вважати дослідження цих поліморфізмів цілком обґрунтованим та доцільним для подальшого аналізу їх ролі у розвитку ВДМ серед українських пацієнтів.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ У РОЗДІЛІ 1

1. Кацнельсон Л. А. Клинический атлас патологии глазного дна / Л. А. Кацнельсон, В. С. Лысенко, Т. И. Балишанская // 3-е изд., стер. М., ГЭОТАР-МЕД. – 2004. – 152 с.
2. Родин А. С. Биомикроретинометрия. Теоретические основы работы на оптическом когерентном томографе сетчатки и принципы интерпретации томографических изображений / А. С. Родин // Офтальмология. — 2006. — Т. 3, № 2. – С. 81–87.
3. Klein R. Wisconsin Age-related Maculopathy Grading System / R. Klein, M. D. Davis, V. L. Magli [et al.] // Wisconsin Age-related Maculopathy Grading System. Madison:

Department of Ophthalmology University of Wisconsin School of Medicine. Ophthalmology. – 1991. – Vol. 98. – P.1128-1134.

4. Иванишко Ю. А. Возрастные поражения макулы: «естественное» течение, попытка классификации, возможности превентивного лечения / Ю. А. Иванишко, М. А. Лотошников, Е. А. Зарезина // ИнтерЮНА. – 2016. – С.107-117.
5. Ehrlich R. Age-related macular degeneration and aging eye / R. Ehrlich, A. Harris, N. S. Kheradiya, D. M. Winston, T. A. Ciulla, B. Wiostko // Clin Interv Aging. – 2008. – Vol.3 (3). – P.473-482.
6. Кацнельсон Л. А. Сосудистые заболевания глаз / Л. А. Кацнельсон, Т. И. Форофонова, А. Я. Бунин // М., Медицина. – 1990. – 182 с.
7. Gass J. D. Stereoscopic atlas of macular diseases / J. D. Gass // St. Louis ets.: CV Mosby Co. – 1977. – P.411.
8. Акопян В. С. Классификация возрастной макулярной дегенерации / В. С. Акопян // «Макула – 2004»: тез. докл., стеногр. дискус. – Ростов-на-Дону: Фактор времени. – 2004. – С.90-93.
9. Бойко Э. В. Возрастная макулярная дегенерация (факторы риска, классификация, диагностика, профилактика, лечение) / Э. В. Бойко, Л. В. Журавлева, С.В. Сосновский // Методические рекомендации. – М. – 2010. – 48 с.
10. Пасечникова Н. В. Новая клиническая классификация возрастной макулярной дегенерации / Н. В. Пасечникова // Новости медицины и фармации. – 2012. – №4(402) – 90 с.
11. Протоколи надання медичної допомоги за спеціальністю «Офтальмологія». – Додаток до наказу МОЗ №117 від 15-03-2007. – [Електронний ресурс] – Режим доступу: medstandart.net/browse/2319
12. Clemons T. E. Risk factors for the incidence of Advanced Age-Related Macular Degeneration in the Age-Related Eye Disease Study (AREDS) / T. E. Clemons, R. C. Milton, R. Klein, J.M.Seddon, F. L. Ferris // 3rd. AREDS report no. 19. Ophthalmology. – 2005. – Vol. 112 (4). – P.33–99.
13. Khan J. C. Smoking and age related macular degeneration: the number of pack years of cigarette smoking is a major determinant of risk for both geographic atrophy and

- choroidal neovascularisation / J. C. Khan, D. A. Thurlby, H. Shahid [et al.] // *Br J Ophthalmol.* – 2006. – Vol. 90. – P.75–80.
14. Линник Л. Ф. Разработка и внедрение в практику искусственных хрусталиков глаза с естественной спектральной характеристикой / Л. Ф. Линник, Х. П. Тахчиди, М.А.Островский и соавт. // *Здравоохранение и медтехника.* – 2004. – т.9. – №5. – С.35-36.
 15. Бездетко П. А. Возрастная макулярная дегенерация: метод. указ. для студентов-иностранцев / П. А. Бездетко, Н. В. Панченко, Е. П. Мужичук и др.// *ХНМУ, Харьков.* – 2015. – С.3-11.
 16. Егоров Е. А. Возрастная макулярная дегенерация. Вопросы патогенеза, диагностики и лечения / Е. А. Егоров, И. А. Романенко // *РМЖ «Клиническая офтальмология».* – 2009. – №1. – 42 с.
 17. Trieschmann M. Changes in macular pigment optical density and serum concentrations of its constituent carotenoids following supplemental lutein and zeaxanthin / M. Trieschmann [et al.] // *The LUNA study. Exp. Eye. Res.* – 2007. – Vol. 84. – №4. – P.718-728.
 18. Kabasawa S. Associations of cigarette smoking but not serum fatty acids with agerelated macular degeneration in a Japanese population / S. Kabasawa, K. Mori, K.Horie-Inoue [et al.] // *Ophthalmology.* – 2011. – Vol. 118. – P.1082–88.
 19. Будзинская М. В. Современные подходы к лечению и профилактике возрастной макулярной дегенерации / М. В. Будзинская, М. В. Воробьева, Т. Н. Киселева, Ю.М. Лагутина, Г.С. Полуниин // *Клиническая офтальмология.* – 2007. – Т.8. – №2. – С.78-82.
 20. Telander D. G. Inflammation and age-related macular degeneration (AMD) / D. G. Telander // *Semin Ophthalmol.* – 2011. – Vol. 26. – №3. – P.192-197.
 21. Stanton C. M. Inflammatory biomarkers for AMD / C. M. Stanton, A. F. Wright // *Adv Exp Med Biol.* – 2014. – Vol. 801. – P.251-257.
 22. Penfold P. L. Immunological and aetiological aspects of macular degeneration / P. L. Penfold, M. C. Madigan, M. C. Gillies, J. M. Provis // *Prog Retin Eye Res.* – 2001. – Vol.20. – №3. – P.385-414.

23. Kaarniranta K. Age-related macular degeneration: activation of innate immunity system via pattern recognition receptors / K. Kaarniranta, A. Salminen // J Mol Med (Berl). – 2009. – Vol. 87. – №2. – P.117-123.
24. Нероев В. В. Ишемические аспекты патогенеза заболеваний сетчатки // В. В. Нероев, М. В. Зуева, И. В. Цапенко, М. В. Рябина, О. А. Киселева, Г.Р. Каламкарров // Российский офтальмологический журнал.–2010.–Т.3.–№1.–С.42-49.
25. Brusini P. Frequency Doubling Technology perimetry with the Humphrey Matrix 30-2 test / P. Brusini, M.L. Salvétat, M. Zeppieri, L. Parisi // Glaucoma. – 2006. – Vol.15 (2). – P.77-83.
26. Тахчиди Х. П. Ультразвуковая биомикроскопия в диагностике патологии переднего сегмента глаза / Х. П. Тахчиди, Э. В. Егорова, А. Г. Узунян // Москва. – 2007. – 128 с.
27. Шульпина Н. Б. Биомикроскопия глаза / Н.Б. Шульпина // Москва. – 1966. – 295с.
28. Водовозов А. М. Световые рефлексy глазаго дна и их клиническое значение / А. М. Водовозов // Волгоград. – 1998. – 168 с.
29. Бакбардин Ю. В. Тонометрические, тонографические и гониоскопические методы исследования / Ю. В. Бакбардин, Ю. Н. Кондратенко // Киев.–Здоровье. – 1998.–75с.
30. Bassey Ch. E. Refractometry measurements for industrial quality control / Ch. E. Bassey, C. A. Siguenza // Biophysical Journal. – 2010. – Vol.98(3). – Suppl.1. – P.408.
31. Гладкова Н. Д. Руководство по оптической когерентной томографии / Н. Д. Гладкова, Н. М. Шахова, А. М. Сергеев // Физматлит. – Москва. – 2007. – 296 с.
32. Конвенція про захист прав та гідності людини у зв'язку з використанням досягнень біології та медицини (Конвенція про права людини та біомедицину) (ETS-164). – [Електронний ресурс] – Режим доступу: http://zakon2.rada.gov.ua/laws/show/994_334
33. Гельсінська декларація Всесвітньої медичної асоціації «Етичні принципи медичних досліджень за участю людини у якості об'єкта дослідження. – [Електронний ресурс] – Режим доступу: http://zakon5.rada.gov.ua/laws/show/990_005

34. Наказ МОЗ України №690 від 23.09.2009р. Про затвердження Порядку проведення клінічних випробувань лікарських засобів та експертизи матеріалів клінічних випробувань і Типового положення про комісії з питань етики. – [Електронний ресурс] – Режим доступу: <http://zakon5.rada.gov.ua/laws/show/z1010-09>
35. Auton A. A global reference for human genetic variation / A. Auton, L. D. Brooks, R. M. Durbin, E. P. Garrison, H. M. Kang [et al.] // Nature. – 526. – P.68-74. – [Electronic resource] – Mode of access: <http://www.internationalgenome.org/home>.
36. Румянцев П. О. Статистические методы анализа в клинической практике / П. О. Румянцев, В. А. Саенко, У. В. Румянцева, С. Ю. Чекин // Проблемы эндокринологии. – 2009. – Т.55. – №6. – С.48-56.

РОЗДІЛ 2

АНАЛІЗ ЧИННИКІВ ВПЛИВУ НА РОЗВИТОК ВІКОВОЇ ДЕГЕНЕРАЦІЇ МАКУЛИ

2.1. Вивчення зв'язку генетичного поліморфізму з розвитком ВДМ

Вивченню основних патогенетичних ланок розвитку вікової дегенерації макули присвячено чимало робіт закордонних та вітчизняних науковців. Однак до кінця не з'ясовані питання впливу генів на розвиток захворювання і результативність методів лікування пацієнтів, які страждають центральною дистрофією сітківки з різною комбінацією генів. Дослідження в цьому напрямку поодинокі та інколи досить суперечливі.

Виявлення нових генів та їх поліморфізмів, що впливають на розвиток вікової дегенерації макули, триває і в наші дні. Є свідчення [1-7], що розвиток і перебіг ВДМ залежить від поєднання певних генів і мутацій, які відбуваються в них. Але не можна також виключати і інші чинники ризику, які можуть спровокувати розвиток дегенерації жовтої плями в поєднанні з тими чи іншими генами або зіграти захисну роль від прогресування макулопатії.

2.1.1. Сучасні дослідження генів-кандидатів схильності до ВДМ

Розвитку ВДМ сприяють доведені генетичні фактори [8-14]. Деякі гени, як показали дослідження, тісно пов'язані з ризиком розвитку дегенерації жовтої плями, будучи пусковим механізмом.

Проведені дослідження свідчать, що *PLEKHA1* (pleckstrin homology domain containing A1) – ген, розташований на хромосомі 10 пари. Дослідники вважають, що він може збільшити ризик розвитку вікової дегенерації макули. На думку авторів, PLEKHA1 бере участь в клітинних процесах, пов'язаних з імунною реакцією [15, 16]. Ген PLEKHA1 експресується в макулярній ділянці сітківки. Він кодує білок, який грає важливу роль в активації лімфоцитів, а також регулює клітинну проліферацію [17]. Незважаючи на те, що виявлено зв'язок між гомозиготними по алелю А в гені PLEKHA1 носіями і вологою формою ВДМ, немає однозначних доказів, що схильність до даного захворювання не викликана також і наявністю змін в генах HTRA1 і ARMS2 / LOC387715, які розташовані в цьому ж локусі [18].

Крім того, виявлено, що *ген ARMS2/LOC387715* (age-related maculopathy susceptibility 2) кодує білок, функція якого на сьогодні залишається до кінця невідомою. Білок з цього гена секретується з клітини і зв'язується з матриксними білками, такими як фібулін-6 (геміцентрін-1). Найбільше цей ген експресується в хоріоїдеї, в тій зоні, де при патології утворюються друзи. Певні варіанти цього гена, на думку дослідників, підвищують ризик розвитку сухої форми ВДМ. Цей ризик ще більш посилюється, якщо людина з цими змінами в гені курить і має надлишкову масу тіла [16, 19, 20]. До недавнього часу вважалися невизначеними функції білку ARMS2, однак наразі є роботи, які свідчать про те, що це невеликий (11 kDa), специфічний для приматів мітохондріальний білок, який було знайдено у позаклітинній матриці шару судинної оболонки ока [21]. ARMS2 містить 107 амінокислот та 9 сайтів фосфорилування. ARMS2 здатний ефективно рекрутувати цитозольні лектинові шаперони та комплексуватися з кальнексін-позитивним білком та дісульфідними білковими ізомераза-негативними бульбашкоподібними структурами у процесах білкового синтезу за участю апарату Гольджи [21]. Мутантні форми ARMS2 не здатні взаємодіяти з кальнексін/кальретікуліновою системою. Отже, зв'язок мутантних генотипів (G/T і T/T) з розвитком та прогресуванням ВДМ може бути пов'язаний з порушенням внутрішньоклітинного білкового синтезу, формуванням везикул у апараті Гольджи та регуляцією процесів аутофагії. Як наслідок, може порушуватися структура матриксу судинної оболонки ока, що, у свою чергу, може сприяти розвитку нейродегенеративного процесу та ВДМ [21].

Викликають також особливий інтерес дослідження *гену HTRA1* (high temperature requirement serine peptidase A1). Результати свідчать, що мутації в гені HTRA1, який обрмовлює LOC387715, збільшують або зменшують ризик розвитку макулодистрофії [15, 16, 19, 20]. Ген HTRA1 кодує серинову протеазу, яка взаємодіє з факторами росту системи TGF- β 5 та визначає ступінь васкуляризації тканин. Серинова протеаза була виявлена в складі друз. Поліморфізм G (-625) A гена HTRA1 змінює послідовність ділянки зв'язування з транскрипційними факторами. При аналізі експресії гена HTRA1 у осіб з різними генотипами по цьому

поліморфізму було виявлено, що рівень мРНК цього гена у пацієнтів гомозиготних по аллелю А був в 2,7 рази вище, ніж у гомозиготних по аллелю G, а рівень білка серинової протеази більше в 1,7 рази відповідно. Поряд з цим було встановлено, що експресія гена HTRA1 різко зростає у пацієнтів з ВДМ. У 49% випадків захворювання було обумовлено наявністю алелей ризику по поліморфізму G (-625) А гена HTRA1 [22-24]. При дослідженні поліморфізму G (-625) А гена HTRA1 було показано, що ризик розвитку ВДМ був в 2,5 рази вище у носіїв гетерозиготних по аллелю А і в 7,9 разів вище у гомозиготних за цим алелем [25]. М. Weger з співавторами обстежили 242 пацієнта з вологою формою ВМ і 157 здорових добровольців. Було виявлено, що у осіб, гетерозиготних по поліморфізму Y402H гена фактора комплементу Н і поліморфізму G (-625) А гена HTRA1, ризик розвитку захворювання збільшувався в 2,7 рази, а у пацієнтів, гомозиготних за цими алеліями – більш, ніж в 10 разів [26] .

Крім того, ряд досліджень свідчать, що **CFH** (Complement Factor H), – фактор комплементу Н бере участь в опосередкуванні імунної відповіді. Зокрема, CFH інгібує імунну відповідь і пов'язані з ним запалення. Ген CFH кодує фактор комплементу Н, відомий як бета-1Н-білок – білок плазми із суперсімейства регуляторних білків системи комплементу. Система комплементу бере участь в регуляції імунної відповіді [27]. Коли CFH мутує, він активізує ці процеси. Приблизно 30-50% пацієнтів з віковою дегенерацією макули мають мутацію в CFH. Ці дані свідчать про те, що запальний процес бере участь у розвитку вікової дегенерації макули [15, 16, 19]. Фактор комплементу Н зв'язується з білком C3b і, обмежуючи його функціонування, прискорює розпад C3-конвертази, а також діє як ко-фактор фактора комплементу І (іншого інгібітору C3b). Він працює як в сироватці, так і на поверхні клітин, є регуляторним білком системи комплементу і має протизапальний ефект [28]. Глікопротеїн CFH складається з 20 тандемно-повторюваних ділянок, які називаються SCR (англ. short consensus repeats). За зв'язування з білком C3 відповідають 3 сайти, розташовані в ділянках SCR 1-4, SCR 6-10 і SCR 13-20, ряд сайтів забезпечує зв'язування з іншими білками (гепарином, С-реактивним білком і ін.), N-кінцевий домен бере участь в регуляції альтернативного

шляху в сироватці, а с-кінцевий домен білка за участю SCR7 зв'язується з клітинною мембраною, тим самим регулюючи процес запалення на поверхні клітини [27, 29]. CFH, що виявляється в заміні тиміну (T) на цитозин (C) в 9-м екзоні, підвищує ризик розвитку ВДМ. Наявність однієї копії зміненого гена CFH (генотип T/C) збільшує ймовірність захворювання в 2,5 рази, двох змінених копій (генотип C/C) – в 6 разів, причому, у осіб з підвищеною масою тіла або у курців – в 10 разів. Дана ділянка називається генетичним маркером T1204C [30, 31]. Ця ділянка входить до складу сайту зв'язування CFH з С-реактивним білком (CRP) – білком гострої фази запалення, індуктором активації системи комплементу. CRP – рівні маркера запалення С-реактивного білка (СРБ) збільшуються в крові пацієнтів з дегенерацією жовтої плями [15, 20]. Високі рівні СРБ завдають шкоди клітинам і тканинам організму. Високі рівні СРБ пов'язані як із середньою, так і з пізньою стадією дегенерації жовтої плями. Насправді, високі рівні СРБ в 65% випадках підвищують ризик розвитку дегенерації жовтої плями. Це відкриття є додатковим доказом ролі запалення в розвитку дегенерації жовтої плями [15, 20]. Варіант фактора комплементу Н (кодується аллелем С), що несе амінокислоту гістидин в позиції 402, має ослаблену інгібіруючу білок-CRP активність. У зв'язку з цим генотип С/С асоційований з підвищеним рівнем С-реактивного білка в судинній оболонці ока, що може провокувати хронічне запалення і розвиток ВДМ. Дослідження показали, що незмінений варіант фактора Н (кодується аллелем Т) дозволяє краще і ефективніше видаляти продукти розпаду клітин, зменшувати запалення і захищати від розвитку патологічних проявів [32].

Ряд досліджень свідчать про те, що **гени *CFB/C2*** – фактор комплементу В (CFB) та компонент комплементу 2 (C2), активуючи каскад комплементу і імунну відповідь, беруть участь в розвитку дегенерації жовтої плями. Мутації в обох генах можуть прогнозувати розвиток і важкість дегенерація жовтої плями [33, 34].

В той же час **комплемнт *C3*** відіграє роль як в класичному, так і в альтернативному шляху активації комплементу. Люди з недостатністю C3 мають підвищену чутливість до бактеріальної інфекції. Також описано більш високий

ризик розвитку вікової дегенерації макули, на 70-100%, при мутації в цьому гені. Крім того, у носіїв гена *C3* були виявлені друзи [16, 19, 20].

Інші дослідження [35], проведені в 2003 році, визначили, що *HMCN1/FBLN6* – геміцентрін-1 (*HMCN1*) / фібулін-6 (*FBLN6*) – перший ген, який пов'язаний з розвитком дегенерації жовтої плями. Мутації в гені *HMCN1* були знайдені у багатьох членів кількох поколінь сімей з дегенерацією жовтої плями. На думку авторів [35], ці гени можуть бути залучені в утворення друз і бути одним з перших ознак сухої макулярної дегенерації.

Але вже в 2004 році *FBLN5* – фібулін-5 (*FBLN5*) було визначено як інший ген, пов'язаний з дегенерацією жовтої плями. Дослідження показали, що *FBLN5* бере участь в підтримці цілісності сітківки, де можуть виникнути друзи. Вчені вважають [15, 36], що мутації *FBLN5*, який знаходиться в мембрані Бруха і бере участь у формуванні еластичних волокон, ведуть до зміни його функції і, як наслідок, порушення фагоцитарної і лізісної здатності ПЕС. Цей процес призводить до надмірного накопичення ліпофусцину, появи друз і згодом до формування дефектів в мембрані Бруха і атрофії ПЕС [15, 35, 36, 37].

Ряд досліджень [38] стали свідченням того, що *Toll-Like Receptor3* (*TLR3*) – мембранний білок, який відноситься до групи рецепторів, що забезпечують функціонування вродженого імунітету. *TLR3* пов'язує дволанцюжкову РНК вірусів і, таким чином, відіграє важливу роль в протівірусному захисті організму. У 2008 році вчені ідентифікували перший ген, який бере участь в імунній відповіді організму, в поширенні сухої форми дегенерації жовтої плями, викликає розвиток географічної атрофії. Мутація гена *TLR3*, в результаті якої відбувається інактивація *TLR3*, допомагає попередити загибель клітин сітківки і достовірно знижує ризик розвитку географічної атрофії ПЕС [38]. При активації *TLR3* починає атакувати інфіковані клітини, а у випадку з сухою формою ВДМ, атаці піддаються клітини ПЕС. Ці дані відкривають нові можливості в пошуках альтернативних методів лікування ВДМ. Також певні варіанти поліморфізму гена *TLR3* сприяють, на думку авторів, запобіганню загибелі клітин сітківки, тим самим забезпечуючи захист від географічної атрофії [18, 20, 35].

Інші дослідження [15, 16, 39, 40] свідчили про те, що *ApoE* – аполіпопротеїн Е (ApoE) – аполіпопротеїн плазми крові входить до складу хіломікронів і ліпопротеїнів дуже низької щільності [39], переносить холестерин і інші жири через кров. ApoE також бере участь в нейродегенерації, яка відбувається при хворобі Альцгеймера. Цей білок експресується в сітківці ока і завжди присутній в друзях у пацієнтів з макулопатією. Існує кілька варіантів ApoE гена. Варіант ε4 ApoE є протективним щодо ВДМ, оскільки пригнічує експресію VEGFA в ПЕС, а також його позитивний заряд зменшує гідрофобність мембрани Бруха і сприяє кліренсу відходів метаболізму. А варіант ε2 і ε3 пов'язаний з найбільшим ризиком її розвитку через підвищений вміст в сітківці [15, 16, 39, 40].

Крім того, доведено [15, 19, 20], що *VEGF A* – судинний ендотеліальний фактор росту А, член сімейства тромбоцитарних / ендотеліальних факторів росту, який кодує білок, що часто виявляють у вигляді дисульфід-пов'язаного гомодимера. Цей білок – глікозильований мітоген, що діє специфічно на ендотеліальні клітини, викликаючи різні ефекти: підвищення проникності судинної стінки, утворення нових судин і зростання ендотеліальних клітин, підсилює міграцію клітин і пригнічує апоптоз. Описано та охарактеризовано різні сплайсінгові варіанти цього гена, які або вільно секретуються, або пов'язані з клітинною стінкою [15, 16, 19, 20].

Експериментальні дослідження установили [41, 42, 43], що *IL-8* – інтерлейкін-8 відноситься до великої групи цитокінів (від IL-1 до IL-22), синтезованих в основному Т-клітинами, але в деяких випадках також мононуклеарними фагоцитами або іншими тканинними клітинами. Інтерлейкіни володіють різноманітними функціями, основна з яких – стимулювання поділу або диференціювання клітин. Кожен з інтерлейкинов діє на окрему, обмежену групу клітин, що експресують специфічні для даного інтерлейкіну рецептори. Це розчинні пептиди, сильні імунорегулятори локальної дії, що активують Т-клітини. IL-8 викликає міграцію нейтрофілів і базофілів в осередок запалення і їх дегрануляцію, виділення супероксидного радикала, стимулює ангіогенез. Ген IL-8 розташовується в ділянці 4q13-q21. В експериментах *in vitro* було показано, що алель А цього поліморфізму асоційована з підвищеною експресією гена IL-8 [43]. Дослідження 478 хворих і 555

здорових людей показало, що поліморфізм -251А гена IL-8 частіше зустрічається у пацієнтів з ВДМ (OR-1,23) [41]. Результати іншого дослідження, проведеного на Тайвані серед 312 хворих з ВМ, свідчать про збільшення ризику розвитку ексудативної форми ВДМ при наявності поліморфізму IL-8 по алелю +781 Т (OR-2,16) [42]. В той же час альтернативні дослідження показали, що у пацієнтів з ВДМ і мутацією (-251)А промоторної ділянки гена IL-8 в двох хромосомах клінічна картина відрізняється фокальним характером ураження, відсутністю друз і відшарування пігментного епітелію, має в основному класичний характер (без присутності окультного компонента) [44].

М. В. Будзінська зі співавторами в 2011 році представили детальний аналіз впливу мутацій генів HTRA і VEGFA [15, 19]. Було встановлено, що наявність однієї копії гена з алелем ризику А-поліморфізму rs11200638 гена HTRA1, Т-поліморфізму rs10490924 і del443in54 гена ARMS2 збільшує ризик розвитку СНМ у пацієнтів з ВДМ [15, 19]. В той же час група вчених з Японії, при порівнянні пацієнтів з ВДМ (носіїв генів C2 rs547154 і CFB rs541862) з групою пацієнтів, у яких були виявлені гени ARMS2 A69S і CFH I62V, прийшли до висновку, що C2/CFB варіанти грають захисну роль в ризику розвитку неоваскулярної ВДМ і поліпідальної хоріоїдальної неоваскулопатії сітківки серед японського населення [33]. Крім того, було виконано мета-аналіз, який показав сильну протекторну дію ще чотирьох алелей поліморфізму гена CFB/C2 (rs9332739, rs547154, rs4151667 і rs641153) по відношенню до ВДМ [34].

При генетичному дослідженні генів CFH і ARMS2 були виявлені мутації в одному з генів. Результати свідчили, що дані гени посилюють перебіг макулодистрофії при курінні, надмірній масі тіла або супутній мутації в другому гені [20]. У всіх пацієнтів офтальмоскопічно були зафіксовані друзи, одинично атрофія пігментного епітелію і перерозподіл пігменту в макулярній зоні. Крім того, у пацієнтів був діагностований метаболічний синдром з надлишковою масою тіла та гіпертонічна хвороба 2 стадії, що могло спровокувати розвиток ВДМ при поліморфізм генів CFH і ARMS2. Дане дослідження ще не закінчено [20].

Аналіз літератури останніх років свідчить про вплив терапії на перебіг дистрофії сітківки в залежності від поліморфізму генів [15, 16, 45]. Наприклад, ряд робіт засвідчили, що індивідуальна відповідь на антиоксидантну терапію хворих ВДМ залежить від генотипу CFH. Встановлено, що лікування призводить до 70% зменшення прогресування захворювання у носіїв генотипу низького ризику (CFH TT) і лише в 11% – у носіїв високого ризику (CFH CC) в порівнянні з плацебо [16]. Результати досліджень показали, що поліморфізм CFH Y402H впливає на результати інтравітреального введення анти-VEGFA моноклонального антитіла бевацизумаба хворим з ексудативною ВДМ. Доведено, що наявність мутантного CFH як підвищує ризик ексудативної ВДМ, так і знижує ефективність лікування бевацизумабом за критерієм гостроти зору [15, 16]. Мутації гена ABCA4 (ABCR) призводять до розвитку хвороби Штаргардта. Пацієнти з цією патологією стають більш чутливими до накопичення ліпофусцину, в сімейному анамнезі у них частіше простежується наявність ВДМ [45]. Однак залишається недоведеним, що мутація саме цього гена призводить до розвитку вікової дегенерації макули у таких пацієнтів [46, 47].

На сьогодні вчені визначили ділянки хромосом, що достовірно викликають схильність до розвитку ВДМ. У 2005 році одночасно три незалежні дослідницькі групи повідомили про мутації в одній з таких ділянок, розташованій на довгому плечі 1 хромосоми (1q32) [48, 49]. Аналіз варіантів поліморфізму ділянки 1q25-32 показав, що найбільше зчеплення із захворюванням спостерігалось для поліморфізму Y402H (Tyr402His) гена фактора комплементу Н (complement factor H, CFH), розташованого в цьому локусі [50]. Ген фактора комплементу Н бере участь в роботі системи комплементу, яка регулює атаку імунної системи проти інфекційних агентів і патологічно змінених клітин, причому нормальні клітини при цьому не пошкоджуються [51]. Ген фактора комплементу Н є головним інгібітором альтернативного шляху активації системи комплементу. Як свідчили результати досліджень, поліморфізм Y402H (rs1061170, T>C) призводив до заміни амінокислоти тирозину на гістидин в ділянці зв'язування фактора комплементу Н с реактивним білком. В результаті через зниження здатності зв'язування фактора

комплементу Н с реактивним білком при інфекційному впливі відбувалася гіперактивація системи комплементу по неспецифічному шляху. При цьому спостерігалось накопичення активованих факторів системи комплементу у вогнищі запалення [49, 52]. Поступово розвивалося хронічне запалення, яке призводило до ішемії і дистрофії ПЕС, а також сприяло розвитку хориоидальної неоваскуляризації. Ці дані підтверджують теорію останніх років про роль хронічної запальної реакції в патогенезі ВДМ [53].

Мета-аналіз 7 досліджень, в ході яких були визначені варіанти поліморфізму Y402H, показав, що ризик розвитку захворювання в 2,5 рази частіше в осіб з одним алелем Н і в 6 разів вище у осіб з 2 алелями Н у порівнянні з тими, хто не має цього алеля [54]. У проспективному дослідженні 5681 жителя Роттердама старше 55 років у 36% була виявлена ВДМ. Було показано, що наявність алелі Н збільшує ризик розвитку як сухої, так і вологої форм захворювання. При цьому значно збільшується ймовірність розвитку пізніх стадій ВДМ: атрофії ПЕС і субретинального фіброзу. У носіїв двох алелей Н ризик розвитку ВДМ до 95 років становив 48%, в той час у людей, які не мають алелі Н, він не перевищував 22% [55]. Крім того, у гомозиготних по алелю Н пацієнтів ризик розвитку захворювання збільшувався в 12,5 раз, а в поєднанні з курінням – зростав до 34 разів [56]. Імуногістохімічний аналіз показав, що рівень С-реактивного білка в сітківці людей, гомозиготних по алелю Н, в 2,5 рази вище ніж у осіб, які не мають цього алеля. У носіїв алеля значно збільшується ризик розвитку захворювання при підвищеному рівні ШОЕ і С-реактивного білка [55, 57]. Таким чином, можна припустити, що розвиток захворювання у людей з алелем ризику Н пов'язаний з накопиченням С-реактивного білка і надлишковою активацією факторів системи комплементу.

Рядом вчених показано [58], що при повному скануванні генома, був виявлений локус на 10q26 (довге плече 10 хромосоми 26 смуга), достовірно асоційований з ризиком розвитку ВДМ. У локусі 10q26 ідентифіковані гени HTRA1, ARMS2 / LOC387715 і PLEKHA1 [58].

Відповідно до думки багатьох дослідників [27-32, 59], ВДМ є генетично детермінованим захворюванням з аутосомно-домінантним типом успадкування.

Однак дослідження останніх років свідчать, що основні генетичні поліморфізми, які асоційовані з ризиком розвитку і прогресування ВДМ, виявлені в генах, що регулюють запалення, особливо в гені фактора комплементу Н (локус 1q32), а також в локусі 10q26 [32]. Результати свідчать про асоціацію відповіді на лікування з особливостями генотипу у пацієнтів з ВДМ[59].

Вважається [59], що ймовірність ВДМ в основному підвищують три основні чинники: поліморфізм по гену CFH (генетичний маркер T1204C) – в 43%, поліморфізм по гену ARMS2 (генетичний маркер G205T) – в 36% і куріння – в 20%. У гомозигот зі зміненими (мінорним) аллелям генів CFH і ARMS2 ризик захворіти ВДМ в 50 разів більше, ніж у носіїв основних алелей [59].

За даними ряду авторів [60], які досліджували 109 пацієнтів з ексудативною формою ВДМ та 79 здорових пацієнтів серед населення Турції, наявність поліморфізму CFH Y402H може захищати від розвитку ВДМ, а присутність поліморфізмів VEGFA rs2146323 та rs699947 не пов'язана з розвитком ВДМ [60].

Водночас інші офтальмологи [61] при дослідженні 640 пацієнтів з пізньою стадією ВДМ та 142 здорових пацієнтів зробили висновок про те, що діагностичне значення трьох варіантів CFH, ARMS2/HTRA1 і генів C2 не є достатнім, щоб розрізняти осіб з та без ВДМ [61].

Аналіз результатів інших вчених [62, 63] свідчив, що серед всіх ВДМ у 50% випадках виявляються поліморфізми генів (CFH) на 1q32 та 2 (ARMS2) / HtrA серин пептидази 1 (HTRA1) на 10q26.

Згідно з багатьма дослідженнями [64-71], поліморфізм CFH та ARMS2-rs10490924 незначно підвищений у хворих з ранньою ВДМ та істотно підвищений у пацієнтів з пізніми стадіями ВДМ у порівнянні з контрольною групою.

Таким чином, аналіз сучасної літератури дозволяє зробити висновок, що дослідження в галузі патогенезу вікової дегенерації макули, а саме, впливу генетичного поліморфізму на розвиток ВДМ, незважаючи на актуальність, багату історію і широкі можливості для вирішення більшості офтальмологічних проблем, нечисленні, суперечливі і далекі від завершення.

Повна характеристика як поширених, так і рідкісних алелей, залучених до патогенезу ВДМ, вкрай необхідна практикуючим офтальмологам, оскільки дозволить розширити перспективи точного визначення індивідуального генетичного ризику, ідентифікації нових мішеней для терапевтичного втручання, а також розробки профілактичних заходів у пацієнтів, чий родичі зіткнулися з проблемами макулодистрофії [15].

Для вирішення визначених суперечок ми вважали за доцільне в даному дисертаційному дослідженні визначити роль саме поліморфізмів генів ARMS2, rs 10490924; CFH, rs800292; VEGFA, rs2010963 та rs699947 в розвитку ВДМ.

2.1.2. Вивчення зв'язку поліморфізму генів ARMS2, rs 10490924; CFH, rs800292; VEGFA, rs2010963 та rs699947 з розвитком ВДМ

Згідно з даними літератури, генетичний компонент ВДМ складає від 45% до 70% [13]. На даний час відомо 34 генетичні локуси, що включають 52 генетичні варіанти, які значимо пов'язані з ВДМ [1]. Вважають, що ці 52 варіанти разом складають приблизно половину спадковості цієї хвороби [13]. Таким генетичним факторам, як ARMS2, CFH, C3, C9, VEGFA, TIMP3, MMP9 та MMP19, відведена третина від впливу на розвиток ВДМ [72]. Але, незважаючи на велику актуальність, співвідношення поліморфізмів генів досі вивчені явно недостатньо.

2.1.2.1. Зв'язок поліморфізму rs10490924 гена ARMS2 з розвитком ВДМ

З метою вивчення впливу поліморфізму rs10490924 гена ARMS2 на розвиток вікової дегенерації макули було проаналізовано розподіл генотипів та алелей поліморфізму rs10490924 у пацієнтів без ВДМ (група I, група порівняння) та хворих на «суху» (група II) і «вологу» (група III) форми ВДМ.

Дані щодо розподілу генотипів та алелей поліморфізму rs10490924 гена ARMS2 при порівнянні об'єднаних даних хворих з ВДМ (II та III групи) та пацієнтів групи порівняння (I група) наведені на рис. 2.1.

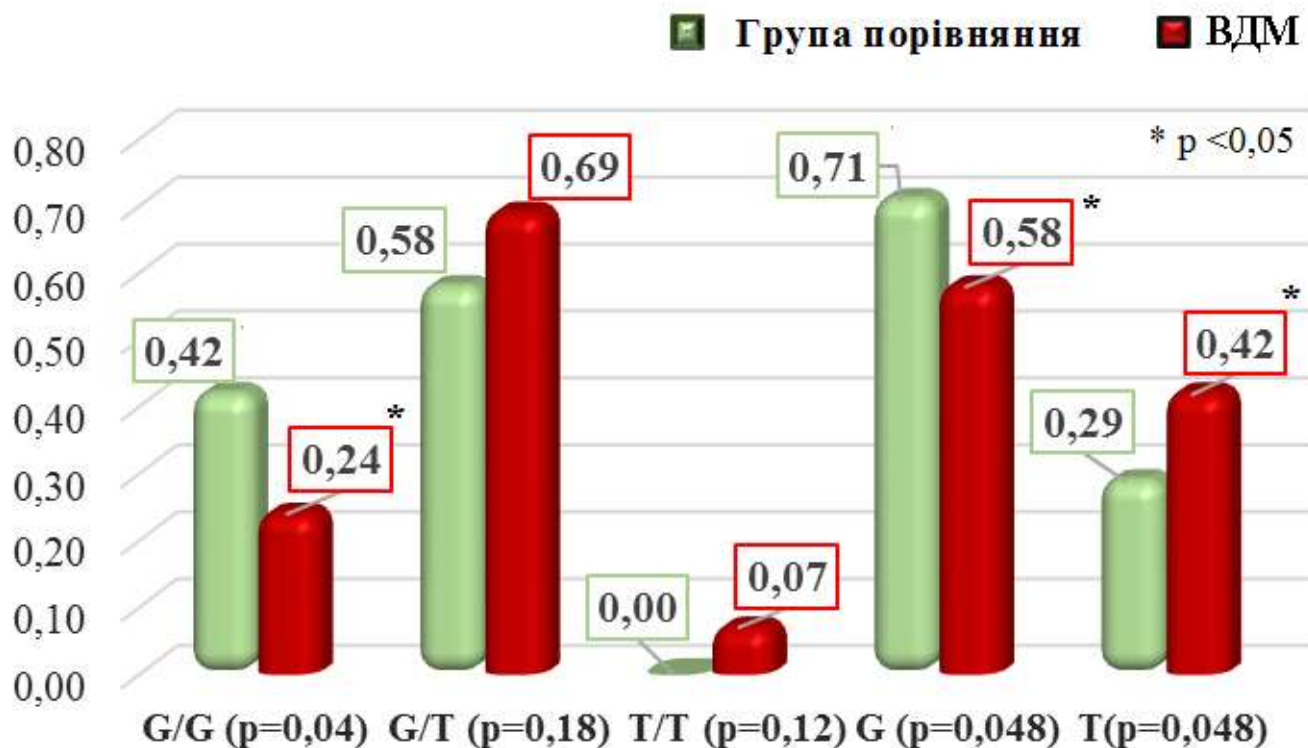


Рис. 2.1. Частоти розподілу генотипів та алелей поліморфізму rs10490924 гена ARMS2 у хворих з ВДМ (II та III групи) та пацієнтів групи порівняння (I група)

Як можна бачити на рисунку 2.1, відмінності між групами за генотипом G/G і за обома алелями статистично значущі (за двостороннім точним методом Фішера $P_{Fet}=0,04$ і $P_{Fet}=0,048$, відповідно); в інших випадках – незначущі ($P_{Fet}>0,05$) [14].

У групі порівняння розподіл поліморфних генотипів та алелей був таким: G/G (предкова гомозигота) – 42,1%, G/T (гетерозигота) – 57,9%; мінорної гомозиготи (T/T) виявлено не було, предкова алель G – 71,1%, мінорна алель T – 28,9% [14].

В дослідженні бразильської популяції [73] частота алелі T у групі порівняння склала 20,3%; у дослідженні білих американців неіспанського походження [74] – 24,0%. За даними проекту 1000 Genomes [75], частота мінорної алелі T складає MAF/MinorAlleleCount T=0,2865/1435, тобто 28,7%, що відповідає нашим даним. Таким чином, отримані в нашому дослідженні результати щодо розподілу алелей відповідали загальновідомим [14].

Розподіл предкової гомозиготи G/G, на відміну від інших генотипів, статистично значуще відрізнявся у відібраних нами групах. Генотип G/G у хворих з

ВДМ зустрічався у 1,75 рази рідше, ніж у контролі (23,6% проти 42,1% відповідно; $p_{\text{Fet}}=0,04$). Отже, за умов розвитку ВДМ частота предкового генотипу G/G суттєво зменшувалася за рахунок більшої частоти гетерозиготи та мутантної гомозиготи (див. рис. 2.1), але їх розподіл не мав статистичної значущості (відповідно, $p_{\text{Fet}}=0,18$ та $p_{\text{Fet}}=0,12$) [14].

Задля аналізу значущості відмінностей в розподілі генотипів та алелей поліморфізму rs10490924 гена ARMS2 нами було побудовано таблиці спряженості (табл. 2.1). Як показав аналіз таблиці спряженості (3×3), гетерозиготний генотип G/T поліморфізму rs10490924 гена ARMS2 мав зв'язок із розвитком ВМ ($p_{(\chi^2)}=0,03$) та у 1,65 рази збільшував шанси розвитку ВДМ (OR=1,65; 95% BI 0,79-3,45) (табл. 2.1).

Таблиця 2.1

Значущість відмінностей (р за критерієм χ^2) в розподілі генотипів та алелей поліморфізму rs10490924 гена ARMS2 між I групою (група порівняння) і пацієнтами з ВДМ (II та III групи), ступінь асоціації генотипів із захворюванням (OR) при вірогідному інтервалі 95%, n=182

Фактори, між якими проводили аналіз		II та III групи (ВДМ), n=144	Група порівняння, n=38	χ^2	р	OR	
						знач.	95% BI
Генотипи	G/G	34	16	6,98	0,03	0,43	0,20 – 0,90
	G/T	100	22			1,65	0,79 – 3,45
	T/T	10	0			6,01	0,34 – 104,92
Алелі	G	168	54	4,09	0,04	0,57	0,33 – 0,99
	T	120	22			1,75	1,01 – 3,03

Мутантна гомозигота T/T збільшувала шанси розвитку ВДМ у шість разів (OR=6,01; 95% BI 0,34-104,92). Предкова гомозигота G/G зменшувала шанси розвитку ВДМ у 2,3 рази (OR=0,43; 95% BI 0,20-0,90). Отже, цей генотип можна вважати протекторним по відношенню до розвитку ВДМ [14].

Аналіз таблиці спряженості (2×2) також показав наявність статистичної

значущості зв'язку алельного поліморфізму з розвитком захворювання ($p_{(x^2)}=0,04$). Мутантна алель Т поліморфізму rs10490924 гена ARMS2 (див. табл. 2.1) мала зв'язок із розвитком ВДМ та у 1,75 раза збільшувала шанси розвитку ВДМ ($OR=1,75$; 95% BI 1,01-3,03). Дика алель G зменшувала шанси розвитку ВДМ у 1,75 рази ($OR=0,57$; 95% BI 0,33-0,99) [14].

У численних дослідженнях також була показана значна роль поліморфізму локусу 10q26 у розвитку ВДМ. Серед чотирьох поліморфізмів цього регіону: HTRA1 rs112000638 та ARMS2 – rs2736911 R38X, rs1040923 R3H і rs10490924 A69Q, саме останній більш за інших визначає ризик розвитку ВДМ [74]. Переважну роль rs10490924 A69Q у порівнянні з HTRA1 rs112000638 показано і у дослідженні F.Grassmann (2016) [76]. При дослідженні польської популяції гомозигота A69S у 7,7 рази підвищувала ризик розвитку ВДМ (95% BI 1,73-34,36) [77], така ж величина OR – 7,742 (95% BI 1,010-63,156) була розрахована і для хворих із Іспанії [78]. Також для іспанських хворих було розраховано високий ризик для алелі Т ($OR=3,34$; 95% BI 1,848-6,060) [79], тоді як у бразильських хворих такий ризик склав $OR=2,05$ (95% BI 1,13-3,71) [73]. Крім того, у бразильських хворих гомозигота Т/Т підвищувала ризик у 5,5 рази (95% BI 2,6-11,8) [80]. Дані, що були отримані J.M. Simonett та співаторами (2015) [81], дозволили включити поліморфізм rs10490924 гена ARMS2 поруч з поліморфізмами гена CFH в алгоритм розрахунку прогнозу виникнення та тяжкості ВДМ. Дослідження з аналогічними висновками було виконано S.Yoneyama (2016) [82]. Крім того, автори показали, що товщина сітківки в ділянці фовеоли асоційована з поліморфізмом генів ARMS2 і CFH [82].

Таким чином, отримані результати нашого дослідження відповідали загальновідомим і свідчили про те, що й для пацієнтів в Україні існує та ж сама закономірність генетичної схильності до розвитку ВДМ по гену ARMS2 [14].

2.1.2.2. Зв'язок поліморфізму гену rs 800292 CFH з розвитком ВДМ

На відміну від білку ARMS2, роль якого на сьогодні остаточно ще не з'ясована, значення системи комплементу у функціонуванні оболонок ока як в нормі, так і за умов ВДМ, вивчено досить добре [83-85]. По-перше, необхідно визначити, що

запальні та імунні процеси відіграють значну роль у патогенезі ВДМ. До того ж встановлено, що регуляторна роль запуску цих процесів належить саме системі комплементу [86].

Рядом досліджень компоненти комплементу та їх активатори були ідентифіковані як компоненти друз у ранній ВДМ [84]. Активація системи комплементу, з одного боку, забезпечує видалення зайвого клітинного матеріалу, запускає протеоліз, а з іншого – може здійснювати пошкодження клітин ретини за умов гіперактивації [84].

Генетичні дослідження останніх років показали статистично значимий зв'язок між ВДМ і поліморфізмом генів, регулюючих систему комплементу [87-90]. Крім того, показана наявність прямого зв'язку інтенсивності запалення та генетичного поліморфізму – рівень у крові маркера гострого запалення С-реактивного білку було вище у носіїв мінорних алелей гена CFH [91]. Міжнародна наукова група виконала багатоцентровий мета-аналіз за участю більше 17000 випадків ВДМ і 60000 пацієнтів групи порівняння для виявлення зв'язку між ВДМ і генетичними варіантами 19 хромосомних регіонів [92]. Визначено, що локуси першої хромосоми (1q), які кодують CFH, є одними з основних, чий поліморфізм сильно асоційовані з ВДМ [83]. Серед них описані rs800292 I62Y [2, 93, 94], rs1061170 Y402H [77, 80, 95, 96], rs1410996 [97, 98], rs10737680 [83], rs3766404 [99] та rs2274700, rs3753394, rs1329428 [98].

Найбільшу силу зв'язку з ВДМ, особливо з розвитком неоваскуляризації, за чисельними дослідженнями у різних популяціях має поліморфізм I62Y (rs800292; 184G>A) у 32 екзоні гена CFH на першій хромосомі (1q32). Мінорна гомозигота A/A суттєво збільшувала шанси розвитку неоваскулярної ВДМ та полиповидної хоріоїдальної васкулопатії у хворих-азіатів, мешканців Сінгапуру [100]. Роль цієї алелі у тому, що мутантний білок CFH (який містить у 62 положенні замість ізолейцину тирозин) не проникає до місця активації комплементу та не має регулюючої дії [84]. Відповідно реакція активації комплементу стає гіперреактивною та пошкоджує тканини.

Враховуючи закордонні дослідження останніх років, нами було заплановано

вивчення впливу поліморфізму rs800292 гена CFH на розвиток вікової дегенерації макули у пацієнтів в Україні.

Аналіз дослідження розподілу генотипів та алелей поліморфізму rs800292 гена CFH при порівнянні результатів групи порівняння (І група) та даних хворих з ВДМ: «суха» форма (група ІІ) і «волога» форма (група ІІІ) наведено на рисунку 2.2.

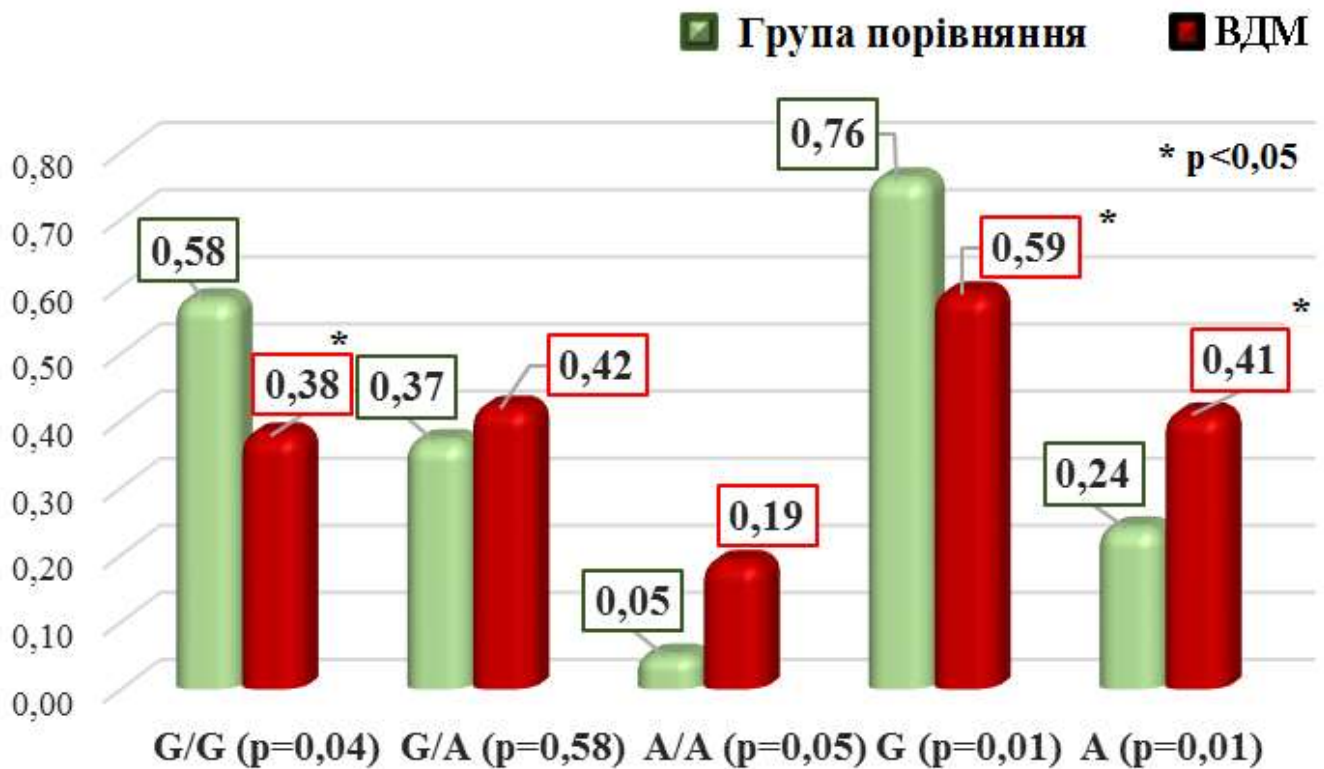


Рис. 2.2. Частоти розподілу генотипів та алелей поліморфізму rs800292 гена CFH в групі порівняння (І група) та у хворих з ВМ (ІІ та ІІІ групи)

Як бачимо на рисунку 2.2, відмінності між групами за генотипами G/G і за алелями статистично значущі (за двостороннім точним методом Фішера $P_{\text{Fet}}=0,04$ і $P_{\text{Fet}}=0,01$ відповідно); в інших випадках – не значущі ($P_{\text{Fet}}>0,05$).

У групі порівняння розподіл поліморфних генотипів та алелей був таким: G/G (предкова гомозигота) – 57,9%, G/A (гетерозигота) – 36,8%, мінорна гомозигота (A/A) – 5,3%. Розподіл алелей був таким: предкова алель G склала 76,3%, мінорна алель T – 23,7% [14]. За даними проекту 1000 Genomes Project Phase 3 [75], загальна частота генотипів у європейській популяції була наступною: G/G – 55,9%, G/A –

38,4%; мінорна гомозигота (A/A) – 5,3%. Частота мінорної алелі А варіювала у популяціях і складала 28,2% у американській популяції, 25,0% – у європейській, 13,7% – у східно-азіатській. Отримані нами результати демонстрували, що частота мінорної алелі А в групі порівняння склала 23,7%. Отже, отримані в нашому дослідженні дані щодо розподілу генотипів та алелей поліморфізму rs800292 гена CFH в українській популяції цілком відповідали сучасним популяційним дослідженням [14].

Розподіл предкової гомозиготи G/G, на відміну від інших генотипів, статистично значуще розрізнявся у відібраних групах: генотип G/G у хворих з ВДМ зустрічався у 1,5 рази рідше, ніж у контролі (57,9% проти 38,2% відповідно; $p_{\text{Fet}}=0,04$). При цьому збільшувалися частоти гетерозиготи G/A та мінорної гомозиготи A/A, відповідно, у 1,1 рази ($p_{\text{Fet}}=0,58$) та у 3,8 рази ($p_{\text{Fet}}=0,05$) [14].

Таким чином, при розвитку ВДМ частота предкового генотипу G/G, як і для поліморфізму гена ARMS2, статистично значно зменшувалася, що також відповідало більшій частоті гетерозиготи та мінорній гомозиготи [14].

З метою аналізу значущості відмінностей в розподілі генотипів та алелей поліморфізму rs8002922 гена CFH нами було побудовано таблиці спряженості (табл. 2.2).

Аналіз таблиці спряженості (3×3) показав наявність значущості у розподілі генотипів, що вказувало на наявність асоціації генотипів поліморфізму rs800292 гена CFH з ВДМ ($p_{\chi^2}=0,04$) (табл. 2.2).

Гетерозиготний генотип G/A поліморфізму rs800292 гена CFH у 1,3 рази збільшував шанси розвитку ВДМ (OR=1,26; 95% ВІ 0,60-2,63). Гомозиготний генотип A/A збільшував шанси розвитку ВДМ більшою мірою – у 4,3 рази (OR=4,34; 95% ВІ 0,99-19,13). Мінорний гомозиготний генотип G/G зменшував шанси розвитку ВДМ у 2,2 рази (OR=0,45; 95% ВІ 0,22-0,93) та, враховуючи статистично значуще меншу частоту у хворих з ВДМ, мав розглядатися як протективний варіант по відношенню до розвитку ВДМ [14].

Таблиця 2.2

Значущість відмінностей (p за критерієм χ^2) в розподілі генотипів та алелей поліморфізму rs800292 гена CFH між групою порівняння (І група) і пацієнтами з ВДМ (II та III групи), ступінь асоціації генотипів із захворюванням (OR) при вірогідному інтервалі 95%, n=182

Фактори, між якими проводили аналіз		II та III групи (ВДМ), n=144	Група порівняння, n=38	χ^2	p	OR	
						знач.	95% BI
Генотипи	G/G	55	22	6,65	0,04	0,45	0,22 – 0,93
	G/A	61	14			1,26	0,60 – 2,63
	A/A	28	2			4,34	0,99 – 19,13
Алелі	G	171	58	7,40	0,007	0,45	0,25 – 0,81
	A	117	18			2,20	1,24 – 3,93

Аналіз таблиці спряженості (2×2) показав (табл. 2.2), що має місце значущість відмінностей у розподілі алелей з ВДМ ($p_{\chi^2}=0,007$). Предкова алель G зустрічалася у 59,4% хворих з ВДМ проти 76,3% у контрольній групі ($p_{Fet}=0,01$), тобто у 1,3 рази рідше. Мінорна алель A зустрічалася у хворих з ВДМ у 40,6% проти 23,7% у контрольній групі, тобто у 1,7 рази частіше ($p_{Fet}=0,01$). Відповідно предкова алель G знижує ризик розвитку ВДМ у 2,2 рази (OR=0,45; 95 % BI 0,25-0,81), а мінорна алель A підвищує такий ризик, і теж у 2,2 рази (OR=2,20; 95 % BI 1,24-3,93). Такі дані дозволяють вважати предкову алель G протективною щодо розвитку ВДМ, тоді як мінорну для європейської популяції алель A як алель високого ризику [14].

Слід зазначити, що результати нашого дослідження знаходять відгос у літературних джерелах. За даними ряду авторів [101-103], поліморфізми гена CFH, і більшою мірою, rs800292, мають сильну асоціацію з ВДМ, особливо з неоваскулярною формою ($p<0,001$) в азіатській популяції. Однак, на противагу цьому, у хворих на ВДМ з північної Іспанії не було встановлено специфічних генетичних варіантів серед поліморфізмів гена CFH, які б відрізняли «суху» та «вологу» форми ВДМ [104]. За даними S.J. Woo (2015) [105], у корейських хворих

найбільш сильними предикторами неоваскулярної ВДМ були поліморфізми rs10490924 гена ARMS2 і rs800292 гена CFH, поряд з такими факторами ризику, як вік, гіперліпідемія та тютюнопаління. Про більшу асоціацію rs10490924 гена ARMS2 і rs800292 гена CFH з неоваскулярною ВДМ у порівнянні з іншими генами свідчать результати досліджень М. Miyake (2015) [106, 107], значущість різниць склала, відповідно, $p=0,029$ і $p=0,013$. Аналіз результатів інших досліджень [108, 109] свідчить, що поліморфізми rs10490924 гена ARMS2 і rs800292 гена CFH також пов'язані з прискоренням залучення до патологічного процесу другого ока [106-109].

Таким чином, аналіз результатів проведених нами досліджень щодо ролі поліморфізму rs800292 гена CFH та поліморфізму rs10490924 гена ARMS2 у пацієнтів в Україні в цілому збігалися з результатами обстежень у хворих з інших етнічних популяцій – обидва гени мали асоціацію з ВДМ та визначали високий ризик її розвитку.

2.1.2.3. Зв'язок поліморфізму гену rs 2010963 VEGFA з розвитком ВДМ

Вже давно виникла думка про те, що результати відповіді на анти-VEGFA-терапію мають генетичну залежність, а знання особливостей перебігу різних форм ВДМ у осіб з ризиковими поліморфізмами гену VEGFA можуть бути використані у діагностиці та виборі метода лікування цієї категорії пацієнтів. Однак на сьогодні генетична експертиза оцінки ризику виникнення та прогресування ВМ розроблена недосить точно та не описана в доступній офтальмологічній літературі.

Деякі дослідження свідчать [110-113], що, крім генів ARMS2 та CFH, значна роль у виникненні васкулярних проявів при ВДМ належить також гену VEGFA, а саме поліморфізмам rs2010963 і rs699947. При неоваскулярній формі ВДМ велике значення має відповідь на анти-VEGFA-терапію, яка широко використовується, але результати такого лікування залежать, можливо, від наявності того чи іншого генотипу поліморфізмів гена VEGFA [114-116]. Так, за даними S. Fauser and G.N. Lambrou (2015) [110], ефективність анти-VEGFA-терапії була зниженою у індивідуумів з алелями ризику поліморфізмів rs10490924 гена ARMS2 та rs699947

гена VEGFA. Результати інших досліджень показали, що кращі результати відновлення гостроти зору через 24 місяці після анти-VEGFA-терапії відзначалися для носіїв предкових (не мутантних) генотипів генів ARMS2 та VEGFA [111]. Навпаки, наявність гаплотипу з мутантних алелей AGT у поліморфізмах rs699947, rs2010963 і rs3025039 була асоційована з негативною відповіддю на анти-VEGF-терапію через 12 місяців [112]. Одночасно дослідження D. Smailhodzic (2012) [115] показало, що має місце кумулятивний ефект алелей ризику поліморфізмів генів ARMS2, CFH та VEGFA, що асоційовано з більш молодим віком хворих та поганим ефектом від анти-VEGFA-терапії.

Враховуючи той факт, що майже всі відомі на сьогодні закордонні дослідження вказували на відповідний патогенетичний ефект поліморфізмів гена VEGFA, це дозволило нам вважати за доцільне провести аналіз та вивчити наявність асоціативного зв'язку поліморфізмів rs2010963 (405G>C) і rs699947 (-2578C>A) гена VEGFA з ВДМ та її формами у пацієнтів в Україні.

Розподіл генотипів та алелей поліморфізму rs2010963 гена VEGFA при порівнянні результатів аналізу даних групи порівняння (І група) та пацієнтів з ВДМ (II та III групи) наведені на рисунку 2.3.

Результати свідчать (рис.2.3), що відмінності між групами за генотипами G/G і за алелями статистично значущі (за двостороннім точним методом Фішера $P_{Fet}=0,01$; $P_{Fet}=0,008$ відповідно); в інших випадках – незначущі ($P_{Fet}>0,05$). У групі порівняння розподіл поліморфних генотипів та алелей цього поліморфізму був таким: G/G (предкова гомозигота) – 52,6%, G/C (гетерозигота) – 42,1% і мінорна гомозигота (C/C) – 5,3%. Розподіл алелей був таким: алель G – 73,7%, мінорна алель C – 26,3% [14].

За даними проекту 1000 Genomes Project Phase 3 [75], загальна частота генотипів у європейській популяції була наступною: G/G – 47,5%, G/C – 43,4% і C/C – 9,1%. Частота мінорної алелі C у різних популяціях складала: 35,4% у американській популяції, 30,8% – у європейській, 40,8% – у азіатській.

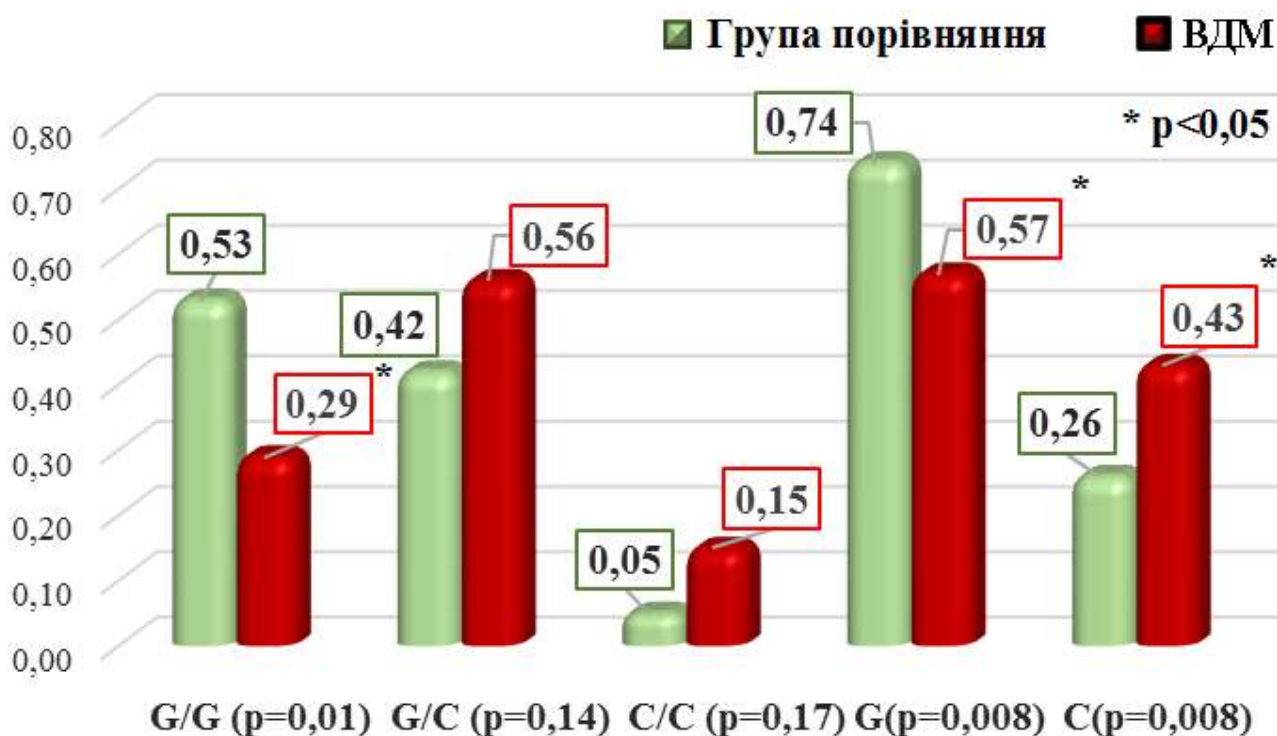


Рис. 2.3. Частоти розподілу генотипів та алелей поліморфізму rs2010963 гена VEGFA в групі порівняння (І група) та у хворих з ВДМ (ІІ та ІІІ групи)

Результати наших досліджень свідчили, що частота мінорної алелі С в групі пацієнтів без ВДМ склала 26,3%. Ці дані свідчили про наближення розподілу генотипів та алелей поліморфізму rs2010963 гена VEGFA в наших дослідженнях до показників європейської популяції.

Як відображено на рисунку 2.3, на відміну від інших генотипів, розподіл предкової гомозиготи G/G статистично значуще розрізнявся у відібраних групах. Генотип G/G у хворих з ВДМ зустрічався у 1,8 рази рідше, ніж у контролі (28,5% проти 52,6% відповідно; $p_{\text{Fet}}=0,01$). Отже, за умов розвитку ВДМ частота предкового генотипу G/G rs2010963 суттєво зменшувалася. Це відповідало збільшенню частот гетерозиготи G/C (у 1,3 рази) та мутантної гомозиготи C/C (у 3,0 рази) (рис.2.3), але їх розподіл не мав статистичної значущості (відповідно $p_{\text{Fet}}=0,14$ та $p_{\text{Fet}}=0,17$) [14].

З метою аналізу значущості відмінностей в розподілі генотипів та алелей поліморфізму rs2010963 гена VEGFA нами було побудовано таблиці спряженості (табл. 2.3).

Аналіз таблиці спряженості (3×3) показав (табл. 2.3), що поліморфізм rs2010963

гена VEGFA мав зв'язок із розвитком ВДМ ($p_{(\chi^2)}=0,01$). Гетерозигота G/C збільшувала у 1,8 рази шанси розвитку ВДМ ($OR=1,77$; 95% BI 0,86-3,64), тоді як мінорна гомозигота C/C такі шанси збільшувала у 3,25 рази ($OR=3,25$; 95% BI 0,73-14,47).

Таблиця 2.3

Значущість відмінностей (р за критерієм χ^2) в розподілі генотипів та алелей поліморфізму rs2010963 гена VEGFA між 1-ю групою (контроль) і пацієнтами з ВДМ (2-а та 3-я групи), ступінь асоціації генотипів із захворюванням (OR) при вірогідному інтервалі 95%, n=182

Фактори, між якими проводили аналіз		II та III групи (ВДМ), n=144	Група порівняння, n=38	χ^2	р	OR	
						знач.	95% BI
Генотипи	G/G	41	20	8,35	0,01	0,36	0,17 – 0,75
	G/C	81	16			1,77	0,86 – 3,64
	C/C	22	2			3,25	0,73 – 14,47
Алелі	G	163	56	7,33	0,007	0,47	0,27 – 0,82
	C	125	20			2,51	1,23 – 3,76

Водночас предкова гомозигота G/G зменшувала шанси розвитку ВДМ у 2,8 рази ($OR=0,36$; 95% BI 0,17-0,75). Отже, предковий генотип можна вважати протекторним по відношенню до розвитку ВДМ [14].

Аналіз таблиці спряженості (2×2) показав наявність статистичної значущості зв'язку алельного поліморфізму з розвитком захворювання ($p_{(\chi^2)}=0,007$). Мутантна алель C поліморфізму rs2010963 гена VEGFA (табл. 2.3) мала зв'язок із розвитком ВДМ та у 2,5 рази збільшувала шанси розвитку ВДМ ($OR=2,51$; 95% BI 1,23-3,76). В той же час дика алель G зменшувала такі шанси у 2,1 рази ($OR=0,47$; 95% BI 0,27-0,82).

Результати дослідження А.М. Fang та співаторів (2009) [116] у популяції кавказьких пацієнтів показали, що поліморфізми гена VEGFA, на відміну від рецепторного гена VEGFR-2, не мали зв'язку з розвитком ВДМ, тоді як у великому

клінічному дослідженні інших авторів [115] було чітко виявлено залежність ВДМ від наявності алелей ризику у поліморфізмах генів ARMS2, CFH і VEGFA.

Таким чином, результати аналізу літератури останніх років щодо поліморфізму rs2010963 гена VEGFA різноманітні, суперечливі та у різних дослідженнях на різних популяціях не збігаються.

Водночас наше дослідження демонструє наявність статистично значущого асоціативного зв'язку поліморфізму rs2010963 гена VEGFA з розвитком ВДМ [14].

2.1.2.4. Зв'язок поліморфізму гену rs 699947 VEGFA з розвитком ВДМ

Крім того, при проведенні даного дослідження нами було вивчено вплив поліморфізму rs699947 гена VEGFA на розвиток вікової дегенерації макули у пацієнтів в Україні.

Розподіл генотипів та алелей поліморфізму rs699947 гена VEGFA при порівнянні даних групи порівняння (І група) та результатів пацієнтів з ВДМ (ІІ та ІІІ групи) наведені на рисунку 2.4.

Як свідчать результати аналізу (рис.2.4), відмінності між групами за генотипом А/А статистично значущі (за двостороннім точним методом Фішера $P_{\text{Fet}}=0,04$), в інших випадках – незначущі ($P_{\text{Fet}}>0,05$). У групі порівняння розподіл генотипів та алелей цього поліморфізму був наступним: предкова гомозигота С/С склала 21,1% та гетерозигота С/А – 78,9%; мінорної гомозиготи А/А виявлено не було. Розподіл алелей визначено таким: предкова алель С склала 60,5%, мінорна алель А – 39,5% [14]. Слід зазначити, що за проектом 1000 Genomes Project Phase 3 [75] частота мінорної алелі А складала загалом 32,5% та значно варіювала у різних популяціях: 34,1% – у американській популяції, 49,5% – у європейській, 28,2% – у східно-азіатській, 16,5% – у африканській.

Результати наших досліджень показали, що частота мінорної алелі А склала 39,5%. Такі дані свідчили про те, що у наших дослідженнях частоти алелей, в цілому, збігалися з наведеними у проекті 1000 Genomes Project Phase 3 для європейської та азійської популяцій [14].

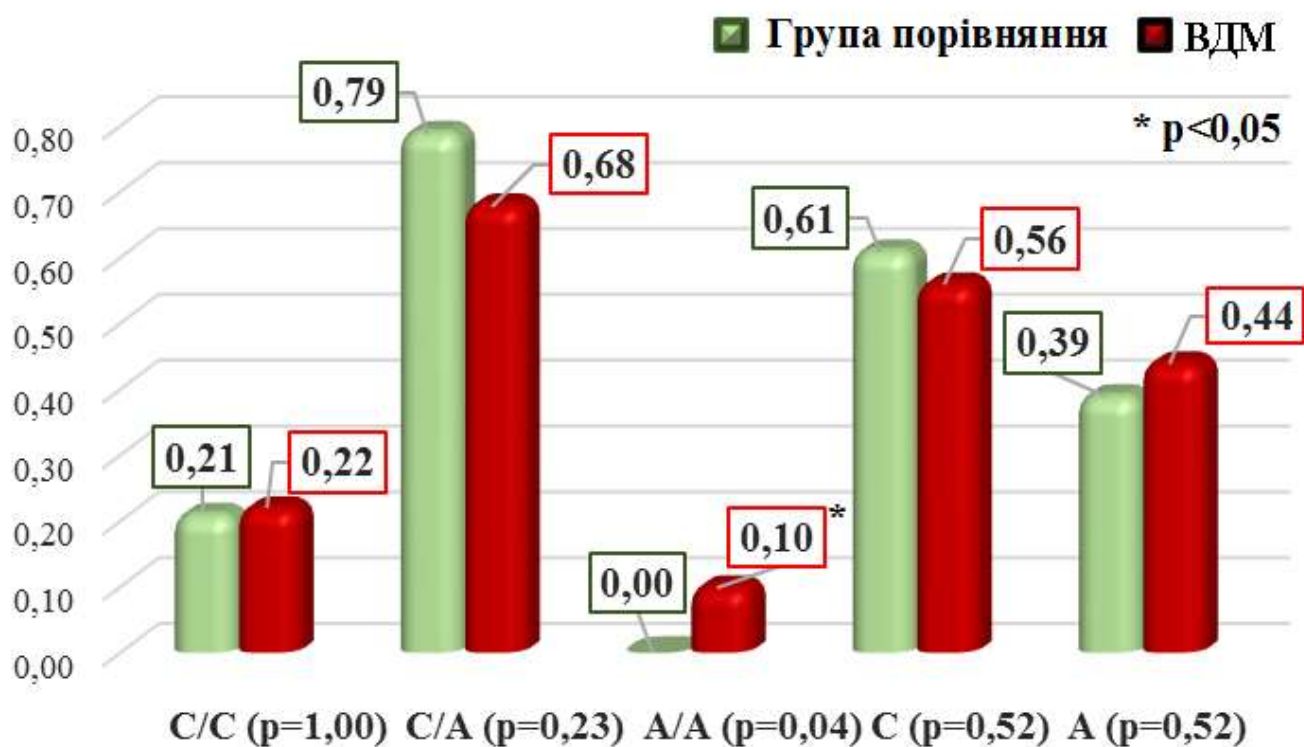


Рис. 2.4. Частоти розподілу генотипів та алелей поліморфізму rs699947 гена VEGFA в групі порівняння (І група) та у хворих з ВДМ (ІІ та ІІІ групи)

При аналізі розподілу генотипів цього поліморфізму звертає на себе увагу майже повна відсутність різниць розподілу предкової гомозиготи C/C: 22,2% у хворих з ВДМ і 21,1% в групі порівняння ($p=1,00$). Вірогідно не відрізняється й розподіл гетерозигот C/A ($p=0,23$). В той же час у хворих з ВДМ відмічена наявність мінорної гомозиготи A/A (9,7% випадків), тоді як в групі порівняння її зовсім не було. Використання для аналізу двостороннього точного методу Фішера $P_{\text{Fet}}=0,04$ вказує на статистичну значущість цієї розбіжності.

Крім того, розподіл алелей (рис. 42.4) був приблизно однаковим і суттєво не відрізнявся в групі хворих на ВДМ та пацієнтів групи порівняння ($P_{\text{Fet}}=0,52$ для обох алелей) [14].

З метою аналізу значущості відмінностей в розподілі генотипів та алелей поліморфізму rs699947 гена VEGFA нами було побудовано таблиці спряженості (табл. 2.4).

Відповідно до розподілу генотипів та алелей значущості відмінностей за критерієм χ^2 також не виявлено, що свідчить про відсутність асоціативного зв'язку

генотипів та алелей поліморфізму rs699947 гена VEGFA з розвитком ВДМ (табл. 2.4).

Таблиця 2.4

Значущість відмінностей (р за критерієм χ^2) в розподілі генотипів та алелей поліморфізму rs699947 гена VEGFA між 1-ю групою (контроль) і пацієнтами з ВДМ (2-а та 3-я групи), ступінь асоціації генотипів із захворюванням (OR) при вірогідному інтервалі 95%, n=182

Фактори, між якими проводили аналіз		II та III групи (ВДМ), n=144	Група порівняння, n=38	χ^2	p	OR	
						знач.	95% BI
Генотипи	C/C	32	8	4,22	0,12	1,07	0,45 – 2,57
	C/A	98	30			0,57	0,24 – 1,34
	A/A	14	0			8,56	0,50 – 146,74
		n=288	n=76				
Алелі	C	162	46	0,45	0,50	0,84	0,50 – 1,40
	A	126	30			1,19	0,71 – 2,00

Аналіз результатів інших досліджень свідчив, що, за даними S.A. Hagstrom та співавторів (2014) [113], серед поліморфізмів гена VEGFA чотири демонстрували зв'язок з товщиною сітківки, серед яких був і rs699947 ($p=0,03$). За даними Habibi та співавторів (2016) [112], гаплотип, що включав алелі ризику AGT за трьома поліморфізмами гена VEGFA – rs699947, rs2010963 і rs3025039, був асоційований з поганою відповіддю на антиVEGF-терапію, хоча по одинці з розвитком ВДМ ці поліморфізми зв'язку не мали. Відсутність вірогідності у розподілі алелей поліморфізму rs699947 гена VEGFA у іспанських хворих відмічена і у роботі Crus-Gonzalez та співавторів (2013) [78]. Припущення щодо можливої ролі rs699947 було зроблено також у роботі Fauser та співавторів (2015) [110], де проводився порівняльний аналіз матеріалів 39 публікацій, за даними яких алель ризику цього поліморфізму може бути пов'язана з васкулопатією при ВДМ та негативною

відповіддю на анти-VEGF-терапію.

Таким чином, наше дослідження демонструє відсутність статистично значущого асоціативного зв'язку поліморфізму rs699947 гена VEGFA з розвитком ВДМ.

2.2. Вивчення зв'язку клініко-лабораторних показників з розвитком ВДМ

Оскільки наявні в доступній літературі результати виявили суттєві розбіжності у виникненні ВДМ в залежності від клініко-лабораторних показників, нами була проаналізована асоціація із захворюванням окремо по кожному лабораторному та клінічному показнику, визначеному в статистичній карті обстеження пацієнта.

Таким чином, в ході нашого дослідження у пацієнтів всіх груп були визначені показники загального аналізу крові (еритроцитів, лейкоцитів, тромбоцитів, ШОЕ, гемоглобіну), глюкози крові та ключових показників ліпідограми (холестерину (Хол), ліпопротеїдів низької щільності (ЛПНЩ), ліпопротеїдів дуже низької щільності (ЛПДНЩ), ліпопротеїдів високої щільності (ЛПВЩ), індексу атерогенності (ІА), тригліцеридів (ТГ), результати яких фіксували в статистичній карті обстеження пацієнта.

Аналіз результатів вивчення взаємозв'язку поліморфізмів генів ARMS2 (rs10490924), CFH (rs800292), VEGFA (rs2010963 та rs699947) у різних групах хворих на ВДМ та групі порівняння з клінічними та лабораторними показниками наведено в таблиці 2.5, таблиці 3.5, таблиці 4.8. Слід зазначити, що в табличний матеріал були включені лише показники, значення яких статистично значимо розрізнялися у залежності від генотипу ($p < 0,05$).

Як свідчать результати, в групі порівняння (табл. 2.5) наявність предкової гомозиготи G/G у поліморфізмі гена ARMS rs10490924 визначало більші показники індексу маси тіла (ІМТ), а також вмісту у крові ЛПДНЩ і глюкози. Однак рівень ЛПВЩ був значно нижчим. Такі показники більшою мірою характерні для порушень ліпідного обміну – ожиріння та атерогенної дисліпідемії [117].

Таблиця 2.5

Залежність клініко-лабораторних показників від генотипів вивчених поліморфізмів у пацієнтів без ВДМ (група порівняння), n= 76

Показник	<i>ARMS2, rs10490924</i>			Критерій F	Рівень значущості відмінності, p
	G/G (n=16)	G/T (n=22)	T/T (n=0)		
ІМТ, кг/м ²	30,08±0,64	27,67±0,51	-	8,928	0,005
ЛПДНЩ, ммоль/л	0,39±0,03	0,30±0,03	-	4,297	0,045
ЛПВЩ, ммоль/л	1,23±0,04	1,44±0,06	-	7,779	0,008
Глюкоза, ммоль/л	5,24±0,18	4,70±0,09	-	8,559	0,006
	<i>CFH, rs800292</i>				
	G/G (n=22)	G/A (n=14)	A/A (n=2)		
ІМТ, кг/м ²	28,09±0,55	30,05±0,65	28,04±1,41	4,244	0,022
Хол, ммоль/л	4,44±0,16	5,53±0,28	5,55±0,32	8,766	0,001
ТГ, ммоль/л	1,72±0,12	1,94±0,18	1,40±0,40	3,688	0,035
	<i>VEGFA, rs2010963</i>				
	G/G (n=20)	G/C (n=16)	C/C (n=2)		
Хол, ммоль/л	4,98±0,18	4,58±0,24	7,20±0,10	8,042	0,001
ТГ, ммоль/л	1,87±0,11	1,49±0,19	2,65±0,05	4,134	0,024
ЛПНЩ, ммоль/л	2,75±0,22	2,39±0,25	4,55±0,05	4,297	0,021
ІА, ум.од.	3,54±0,16	2,61±0,12	3,95±0,05	12,032	1,05E-04
Тромбоцити, Г/л	193,0±5,9	206,1±3,8	342,50±7,50	42,785	3,98E-10
	<i>VEGFA, rs699947</i>				
	C/C (n=8)	C/A (n=30)	A/A (n=0)		
Лейкоцити, Г/л	5,65±0,35	6,65±0,21	-	4,879	0,034
Тромбоцити, Г/л	182,3±10,2	212,8±7,2	-	4,141	0,049
ШОЕ, мм/год	11,50±2,01	8,67±0,37	-	5,265	0,028

Примітка: ІА – індекс атерогенності; ІМТ – індекс маси тіла; ЛПНЩ – ліпопротеїди низької щільності; ЛПДНЩ – ліпопротеїди дуже низької щільності; ЛПВЩ – ліпопротеїди високої щільності; ТГ – тригліцериди; Хол – холестерин

У той же час поліморфізм rs800292 гена CFH мав виражений взаємозв'язок з ІМТ, рівнем у крові холестерину і триглицеридів. У носіїв мінорної алелі А також відзначався більший рівень у крові холестерину та триглицеридів [117].

Крім того, аналіз результатів показав (табл.2.5), що поліморфізми гена VEGFA також були зв'язані з показниками ліпідограми крові. У носіїв мінорної гомозиготи С/С rs2010963 визначалися більші рівні холестерину, ТГ, ЛПНЩ та індексу атерогенності (ІА). Проте, більший вміст у крові лейкоцитів, тромбоцитів і менше значення ШОЕ були притаманними для носіїв мінорної алелі rs699947 [117].

На наш погляд, виявлені тенденції у пацієнтів групи порівняння, безумовно, відбивають стан індивідуальної реактивності гуморальних регуляторних систем і можуть сприяти розвитку захворювання. Отримані дані були враховані у подальшому аналізі взаємозв'язків клініко-лабораторних показників з поліморфними генотипами при ВДМ (у пацієнтів основної групи).

2.3. Вивчення зв'язку офтальмологічних показників з розвитком ВДМ

Враховуючи розбіжності та суперечливість даних літератури щодо асоціації поліморфізмів генів ARMS2, VEGFA і CFH з маркерами морфологічної структури макули у хворих на вікову макулярну дегенерацію та пацієнтів без ВДМ [82], нами було проведено аналіз зв'язку чотирьох визначених поліморфізмів генів ARMS2, CFH і VEGFA із наступними показниками клінічного обстеження пацієнтів, які описували зміни морфологічної структури макули та узгоджувались із класифікацією AREDS [118, 119] та затвердженою на XII з'їзді офтальмологів України в 2010 році класифікацією ВДМ [120], що була врахована при затвердженні уніфікованих та локальних протоколів надання невідкладної медичної допомоги населенню України.

Перш за все ми проаналізували залежність генотипів та алелей поліморфізмів: rs10490924 гена ARMS2, rs800292 гена CFH, rs2010963 гена VEGFA і rs699947 гена VEGFA від товщини сітківки в ділянці фовеоли, з відсутністю друз, наявністю невеликої кількості дрібних друз (діаметр 63 мікрон) в групі порівняння, тобто у пацієнтів без ВДМ (І група) (таблиці 2.6-2.9).

Кореляційний аналіз (таблиця 2.6) показав відсутність залежності маркерів морфологічної структури макули від генотипів та алелей поліморфізму rs10490924 гена ARMS2 у пацієнтів групи порівняння. Лише для гетерозиготи (G/T) і предкової алелі G відмічалася пряма кореляція слабкого ступеня з товщиною сітківки в ділянці фовеоли. Коефіцієнт кореляції Пірсона склав $r=0,36$ і $r=0,38$ відповідно ($p<0,05$). Дані показали (таблиця 2.6), що відсутність друз та невелика кількість дрібних друз не залежали від досліджуваних генотипів та алелей поліморфізму rs10490924 гена ARMS2.

Таблиця 2.6

Результати кореляційного аналізу між генотипами та алелями поліморфізму rs10490924 гена ARMS2 і маркерами морфологічної структури макули пацієнтів групи порівняння, n = 38

Фактори, між яким проводиться кореляційний аналіз		Значення коефіцієнта лінійної регресії Пірсона		
		товщина сітківки в області фовеоли, μm	Відсутність друз	невелика кількість дрібних друз (діаметр < 63 мікрон)
Генотипи	G/G	0,25 *	0,04 *	0,02 *
	G/T	0,36 *	- 0,09 *	- 0,11 *
	T/T	0,00	0,00	0,00
Алелі	G	0,38 *	0,08 *	0,07 *
	T	0,18 *	- 0,05 *	- 0,15*

Примітка: * - вказані значення коефіцієнта лінійної кореляції Пірсона (різниця статистично вірогідна, $p < 0,05$).

Результати дослідження демонстрували відсутність впливу генотипів та алелей поліморфізму rs800292 гена CFH на маркери морфологічної структури макули у пацієнтів групи I (табл.2.7). Лише була відмічена пряма слабка залежність величини товщини сітківки в ділянці фовеоли від показника мінорної гомозиготи (A/A) і предкової гомозиготи (G/G) та пряма слабка залежність між невеликою кількістю дрібних друз та мінорною гомозиготою (A/A). Сила кореляції за Пірсоном складала - $r=0,45$, $r=0,27$ та $r=0,29$ відповідно ($p<0,05$) (табл.2.7).

Таблиця 2.7

**Результати кореляційного аналізу між генотипами та алелями поліморфізму
rs800292 гена CFH і маркерами морфологічної структури макули
пацієнтів групи порівняння, n = 38**

Фактори, між яким проводиться кореляційний аналіз		Значення коефіцієнта лінійної регресії Пірсона		
		товщина сітківки в ділянці фовеоли, μm	Відсутність друз	невелика кількість дрібних друз (діаметр < 63 мікрон)
Генотипи	G/G	0,27 *	0,11 *	0,15 *
	G/A	0,21 *	0,09 *	0,11 *
	A/A	0,45 *	0,16 *	0,29 *
Алелі	G	0,09 *	- 0,07 *	- 0,11 *
	A	0,12 *	- 0,04 *	- 0,03 *

Примітка: * - вказані значення коефіцієнта лінійної кореляції Пірсона (різниця статистично вірогідна, $p < 0,05$)

Таблиця 2.8

**Результати кореляційного аналізу між генотипами та алелями поліморфізму
rs2010963 гена VEGFA і маркерами морфологічної структури макули
пацієнтів групи порівняння, n = 38**

Фактори, між яким проводиться кореляційний аналіз		Значення коефіцієнта лінійної регресії Пірсона		
		товщина сітківки в ділянці фовеоли, μm	Відсутність друз	невелика кількість дрібних друз (діаметр < 63 мікрон)
Генотипи	G/G	0,36 *	0,13 *	0,23 *
	G/C	0,31 *	- 0,11 *	- 0,16 *
	C/C	- 0,06 *	- 0,05 *	- 0,14 *
Алелі	G	0,48 *	0,04 *	0,27 *
	C	0,17 *	- 0,02 *	- 0,09 *

Примітка: * - вказані значення коефіцієнта лінійної кореляції Пірсона (різниця статистично вірогідна, $p < 0,05$)

Необхідно також відзначити (таблиця 2.8), що визначені в результаті нашого дослідження маркери морфологічної структури макули у пацієнтів групи І, а саме відсутність друз та невелика кількість дрібних друз, не залежали від генотипів та алелей поліморфізму rs2010963 гена VEGFA. Однак відмічалася пряма слабка кореляція між товщиною сітківки в ділянці фовеоли з алеллю G ($r=0,48$; $p<0,05$), предковою гомозиготою G/G ($r=0,36$; $p<0,05$) та гетерозиготою G/C ($r=0,31$; $p<0,05$).

Таблиця 2.9

Результати кореляційного аналізу між генотипами та алелями поліморфізму rs699947 гена VEGFA і маркерами морфологічної структури макули пацієнтів групи порівняння, n = 38

Фактори, між яким проводиться кореляційний аналіз		Значення коефіцієнта лінійної регресії Пірсона		
		товщина сітківки в ділянці фовеоли, μm	Відсутність друз	невелика кількість дрібних друз (діаметр < 63 мікрон)
Генотипи	C/C	0,16 *	- 0,07 *	- 0,11 *
	C/A	0,49 *	0,14 *	0,30 *
	A/A	0,00	0,00	0,00
Алелі	C	0,44 *	0,17 *	0,25 *
	A	0,28 *	- 0,05 *	- 0,12 *

Примітка: * - вказані значення коефіцієнта лінійної кореляції Пірсона (різниця статистично вірогідна, $p < 0,05$)

Аналіз результатів (таблиця 2.9) демонстрував, що серед маркерів морфологічної структури макули у пацієнтів групи порівняння (І група) залежність від генотипів і алелей поліморфізму rs699947 гена VEGFA мали тільки деякі з них. Так, наявність гетерозиготи C/A впливала на товщину сітківки в ділянці фовеоли, при коефіцієнті кореляції Пірсона $r=0,49$ ($p<0,05$), як і предкової алелі C ($r=0,44$; $p<0,05$). Крім того, наявність гетерозиготи C/A впливала на невелику кількість дрібних друз ($r=0,30$; $p<0,05$).

Таким чином, аналіз результатів виявив, що серед усіх проаналізованих маркерів морфологічної структури макули у пацієнтів групи порівняння (І група) без

ВДМ нам вдалося встановити вирогідний слабкий взаємозв'язок між наявністю генотипів та алелей поліформізмів тільки декількох з них: гетерозиготи (G/T) і предкової алелі G поліморфізму rs10490924 гена ARMS2; мінорної гомозиготи (A/A) і предкової гомозиготи (G/G) поліморфізму rs800292 гена CFH; алелі G, предкової гомозиготи G/G та гетерозиготи G/C поліморфізму rs2010963 гена VEGFA; та гетерозиготи C/A і предкової алелі C поліморфізму rs699947 гена VEGFA.

Резюме до розділу 2

Установлено, що з розвитком ВДМ у хворих в Україні мали асоціацію поліморфні генотипи та алелі rs10490924 гена ARMS2, rs800292 гена CFH та rs2010963 гена VEGFA, тоді як генотипи та алелі поліморфізму rs699947 гена VEGFA такої асоціації не мали.

Тенденції змін клініко-лабораторних показників у пацієнтів групи порівняння відбивають стан індивідуальної реактивності гуморальних регуляторних систем і можуть сприяти розвитку захворювання.

Визначено, що серед проаналізованих маркерів морфологічної структури макули у пацієнтів в Україні без ВДМ нам вдалося виявити вирогідний слабкий взаємозв'язок для генотипів G/T і алелей G rs10490924 гена ARMS2 – з товщиною сітківки в ділянці фовеоли ($r=0,36$, $r=0,38$; $p<0,05$); генотипів A/A і G/G rs800292 гена CFH – з товщиною сітківки в ділянці фовеоли ($r=0,45$, $r=0,27$; $p<0,05$); генотипу A/A rs800292 гена CFH та невеликою кількістю дрібних друз ($r=0,29$, $p<0,05$); генотипів G/G, G/C і алелі G rs2010963 гена VEGFA – з товщиною сітківки в ділянці фовеоли ($r=0,36$, $r=0,31$, $r=0,48$; $p<0,05$); генотипу C/A і алелі C rs699947 гена VEGFA – з товщиною сітківки в ділянці фовеоли ($r=0,49$, $r=0,44$; $p<0,05$); генотипу C/A rs699947 гена VEGFA та невеликою кількістю дрібних друз ($r=0,30$, $p<0,05$). Отже морфологічна структура макули у пацієнтів без ВДМ залишалася майже незмінною і не мала взаємозв'язків з поліморфними генотипами та алелями rs10490924 гена ARMS2, rs800292 гена CFH та rs2010963 гена VEGFA.

Перелік друкованих праць, опублікованих за матеріалами, викладеними в цьому розділі:

1. Шаргородська І. В. Генетические аспекты развития возрастной макулярной дегенерации в украинской популяции / С. А. Рыков, И. В. Шаргородская, С. В. Выдыборец, С. В. Зяблицев, С. С. Фролова // Международный научно-практический журнал. Офтальмология. Восточная Европа. – 2017. – Минск. – Т.7, №2. – С.129-143;
2. Фролова С. С. Прогнозування розвитку ВМД в залежності від клінічних та генетичних показників, визначених при первинному скринінгу / С. С. Фролова // Вісник проблем біології і медицини. – 2017. – Полтава. – Випуск 3. – Т.1(137). – С.243-251;
3. Фролова С. С. Асоціація поліморфізму гена CFH (rs800292) з розвитком вікової макулярної дегенерації / С. С., Фролова, С. О. Риков, І. В. Шаргородська, С. В. Зябліцев // IV науково-практична конференція «Інновації в нейрохірургії» в рамках VI Міжнародного медичного конгресу «Впровадження сучасних досягнень медичної науки в практику охорони здоров'я України» на платформі VIII Міжнародного медичного форуму «Інновації в медицині – здоров'я нації», 25-26 квітня 2017 р., Київ: матеріали. – Київ, 2017. – С.56.
4. Фролова С. С. Асоціація поліморфізму гена VEGFA (rs699947) з розвитком вікової макулярної дегенерації / С. С. Фролова, С. О. Риков, І. В. Шаргородська, С. В. Зябліцев // 40-ва ювілейна науково-практична конференція молодих вчених НМАПО імені П. Л. Шупика з міжнародною участю, присвячена Дню науки «Інновації в медицині: досягнення молодих вчених», 18 травня 2017 р., Київ: матеріали. – Київ, 2017. – С.117-119.
5. Фролова С. С. Дослідження значимості асоціації поліморфізму гена CFH (rs800292) з розвитком вікової макулярної дегенерації / С. С. Фролова, С. О. Риков, І. В. Шаргородська, С. В. Зябліцев // Підсумкова науково-практична конференція, присвячена 60-річчю ТДМУ «Здобутки клінічної та експериментальної медицини», 14 червня 2017 р., Тернопіль: матеріали. – Тернопіль, 2017. – С.209-210.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ У РОЗДІЛІ 2

1. Fritsche L. G. A large genome-wide association study of age-related macular degeneration highlights contributions of rare and common variants / L. G. Fritsche, W. Igl, J. N. Bailey [et al.] // *Nat. Genet.* – 2016. – Vol. 48 (2) . – P. 134-143.
2. Cheung C. M. Systemic, Ocular and Genetic Risk Factors for Age-related Macular Degeneration and Polypoidal Choroidal Vasculopathy in Singaporeans / C. M. Cheung, A. Laude, I. Yeo [et al.] // *Sci. Rep.* – 2017. – Vol. 25. – P.7.
3. Bora N. S. Relationship between the complement system, risk factors and prediction models in age-related macular degeneration / N. S. Bora, B. Matta, V. V. Lyzogubov, P. S. Bora // *Mol Immunol.* – 2015. – Vol. 63, No2. – P. 176-183.
4. Bourla D. H. Age-related macular degeneration: a practical approach to a challenging disease / D. H. Bourla, T. A. Young // *J Am Geriatr Soc.* – 2006. – Vol. 54, No7. – P.1130-1135.
5. Chakravarthy U. Clinical risk factors for age-related macular degeneration: a systematic review and meta-analysis / U. Chakravarthy, T. Y. Wong, A. Fletcher [et al.] // *BMC Ophthalmol.* – 2010. – Vol. 10. – P.31.
6. Cheung C. M. / Prevalence, racial variations, and risk factors of age-related macular degeneration in Singaporean Chinese, Indians, and Malays // C. M. Cheung, Li X, C. Y. Cheng [et al.] // *Ophthalmology.* – 2014. – Vol. 121, No8. – P.1598-603.
7. Erke M. G. Cardiovascular risk factors associated with age-related macular degeneration: the Troms Study / M. G. Erke, G. Bertelsen, T. Peto [et al.] // *Acta Ophthalmol.* – 2014. – Vol. 92, No7. – P.662-669.
8. Hyman L. Hypertension, cardiovascular disease, and age-related macular degeneration. Age-Related Macular Degeneration Risk Factors Study Group / L. Hyman, A. P. Schachat, Q. He, M. C. Leske // *Arch Ophthalmol.* – 2000. – Vol. 118, No3. – P.351-358.
9. Jonasson F. Five-year incidence, progression, and risk factors for age-related macular degeneration: the age, gene/environment susceptibility study / F. Jonasson, D. E. Fisher, G. Eiriksdottir [et al.] // *Ophthalmology.* – 2014. – Vol.121(9). –P.1766-1772.
10. Klein R. The epidemiology of age-related macular degeneration / R. Klein, T. Peto,

- A. Bird, M. R. Vannewkirk // *Am J Ophthalmol.* – 2004. – Vol. 137(3). – P.486-495.
11. Lim L. S. Age-related macular degeneration / L. S. Lim, P. Mitchell, J. M. Seddon, F. G. Holz, T. Y. Wong // *Lancet.* – 2012. – Vol .379. – P.1728-1738.
12. Park S. J. Age-related macular degeneration: prevalence and risk factors from Korean National Health and Nutrition Examination Survey, 2008 through 2011 / S. J. Park, J. H. Lee, S. J. Woo [et al.] // *Ophthalmology.* – 2014. – Vol. 121, No9. – P.1756-1765.
13. Seddon J. M. The US twin study of age- related macular degeneration: relative roles of genetic and environmental influences / J. M. Seddon, J. Cote, W. F. Page, S. H. Aggen, M. C. Neale // *Arch Ophthal.* – 2005. – Vol. 123. – P.321-327.
14. Рыков С.А. Генетические аспекты развития возрастной макулярной дегенерации в украинской популяции / С. А. Рыков, И. В. Шаргородская, С. В. Выдыборец, С. В. Зяблицев, С. С. Фролова // *Международный научно-практический журнал. Офтальмология. Восточная Европа.* – 2017. – Минск. – Т.7, №2. – С.129-143.
15. 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.
16. Бойко Э. В. Молекулярно-генетические основы ВМД / Э. В. Бойко, С. В. Чурашов, Т. А. Камилова // *Вестник офтальмологии.* – 2013. – Том 129 (2). – С.86-90.
17. Jakobsdottir J. Susceptibility genes for age-related maculopathy on chromosome 10q26 / J. Jakobsdottir, Y. P. Conley, D. E. Weeks, T. S. Mah, R. E. Ferrell, M. B. Gorin // *Am J Hum Genet.* – 2005. – Vol. 77 (3) . – P.389-407.
18. Deangelis M. M. Alleles in the HtrA serine peptidase 1 gene alter the risk of neovascular age-related macular degeneration / M. M. Deangelis, F. Ji, S. Adams, M. A. Morrison, A. J. Haring, M. O. Sweeney [et al.] // *Ophthalmology.* – 2008. – Vol. 115. – P.1209-1215.
19. Будзинская М. В. Влияние генетических мутаций на клиническую картину субретинальной неоваскуляризации. Сообщение 2. Роль полиморфизмов генов HTRA и VEGFA / М. В. Будзинская, Т. В. Погода, И. Д. Стрелкова // *Вестник*

офтальмологии: Двухмесячный научно-практический журнал. – 2011. – Т. 127, №4. – С.9-16.

20. Colak E. The role of CRP and inflammation in the pathogenesis of age related macular degeneration / E. Colak [et al.] // *Biochem Med (Zagreb)*. – 2012. – Vol. 22(1). – P.39-48.
21. Kortvely E. The unconventional secretion of ARMS2 / E. Kortvely, S. M. Hauck, J. Behler, N. Ho, M. Ueffing // *Hum Mol Genet*. – 2016. – Vol. 25(15). – P.3143-3151.
22. Dewan A. HTRA1 promoter polymorphism in wet age-related macular degeneration / A. Dewan, M. Liu, S. Hartman, S. S. Zhang, D. T. Liu, C. Zhao, P. O. Tam, W. M. Chan, D. S. Lam, M. Snyder, C. Barnstable, C. P. Pang, J. Hoh // *Science*. – 2006. – Vol. 10. – P.989-992.
23. Haddad S. The genetics of age-related macular degeneration: a review of progress to date / S. Haddad, C. A. Chen, S. L. Santangelo, J. M. Seddon // *Surv Ophthalmol*. – 2006. – Vol. 51. – P.316-363.
24. Yang Z. A variant of the HTRA1 gene increases susceptibility to age-related macular degeneration / Z. Yang, N. J. Camp, H. Sun, Z. Tong, D. Gibbs, D. J. Cameron, H. Chen, Y. Zhao, E. Pearson, X. Li, J. Chien, A. Dewan, J. Harmon, P. S. Bernstein, V. Shridhar, N. A. Zabriskie, J. Hoh, K. Howes, K. Zhang // *Science*. – 2006. – Vol. 314 (5801). – P.992-993.
25. Xu Y. Association of CFH, LOC387715, and HTRA1 polymorphisms with exudative age-related macular degeneration in a northern Chinese population / Y. Xu, N. Guan, J. Xu, X. Yang, K. Ma, H. Zhou, F. Zhang, T. Snellingen, Y. Jiao, X. Liu, N. Wang, N. Liu // *Mol Vis*. – 2008. – Vol. 14. – P.1373-1381.
26. Weger M. Association of the HTRA1-625G>A promoter gene polymorphism with exudative age-related macular degeneration in a Central European population / M. Weger, W. Renner, I. Steinbrugger, K. Köfer, A. Wedrich, A. Groselj-Strele, Y. El-Shabrawi, O. Schmut, A. Haas // *Mol Vis*. – 2007. – Vol. 13. – P.1274-1279.
27. Yang X. Polymorphisms in CFH, HTRA1 and CX3CR1 confer risk to exudative age-related macular degeneration in Han Chinese / X. Yang, J. Hu, J. Zhang, H. Guan // *Br. J. Ophthalmol*. – 2010. – Vol.94. – №9. – P.1211-1214.

28. Zarepari S. Strong association of the Y402H variant in complement factor H at 1q32 with susceptibility to age-related macular degeneration / S. Zarepari, K. E. H., Li M. Branham, S. Shah, R. J. Klein, J. Ott, J. Hoh, G. R. Abecasis, A. Swaroop // *Am. J. Hum. Genet.* – 2005. – Vol.77. – P.149-153.
29. Lauer N. Complement regulation at necrotic cell lesions is impaired by the age-related macular degeneration-associated factor-H His402 risk allele / N. Lauer, M. Mihlan, A. Hartmann, U. Schlotzer-Schrehardt, C. Keilhauer, H. P. N. Scholl, P. C. Issa, F. Holz, B. H. F. Weber, C. Skerka, P. F. Zipfel // *J. Immun.* – 2011. – Vol.187 – P.4374-4383.
30. Seddon J. M. CFH gene variant, Y402H, and smoking, body mass index, environmental associations with advanced age-related macular degeneration / J. M. Seddon, S. George, B. Rosner, M. L. Klein // *Hum. Hered.* – 2006. – Vol. 61. – P.157-165.
31. Tuo J. The involvement of sequence variation and expression of CX3CR1 in the pathogenesis of age-related macular degeneration // J. Tuo, B. C. Smith, C. M. Bojanowski, A. D. Meleth, I. Gery, K. G. Csaky, E. Y. Chew, C. C. Chan // *FASEB J.* – 2004. – Vol. 18. – P.1297-1299.
32. Johnson P. T. Individuals homozygous for the age-related macular degeneration risk-conferring variant of complement factor H have elevated levels of CRP in the choroid / P. T. Johnson, K. E. Betts, M. J. Radeke, G. S. Hageman, D. H. Anderson, L. V. Johnson // *Proc. Nat. Acad. Sci.* – 2006. – Vol. 103. – P.17456-17461.
33. Nakata I. Significance of C2/CFB variants in age related macular degeneration and polypoidal choroidal vasculopathy in a Japanese population / I. Nakata [et al.] // *Invest Ophthalmol Vis Sci.* – 2012 – Vol. 53(2). – P.794-798.
34. Sun C. CFB/C2 gene polymorphisms and risk of age related macular degeneration: a systematic review and metaanalysis / C. Sun, M. Zhao, X. Li // *Curr Eye Res.* – 2012. – Vol. 37(4). – P.259-271.
35. Cherney E. F. Патогенез сосудистой макулодистрофии / E. F. Cherney // Тез.докл. офтальмологического конгресса «Белые ночи», 28–31 мая 2001. – С.3-5.
36. Болбас З. В. Возрастная макулярная дегенерация: фактор роста эндотелия

- сосудов VEGFA, шаперон RpE65 и рецепторы семейства ppAR как перспективные мишени лекарственной терапии / З. В. Болбас, Н. А. Василевская, Е. А. Чикун // Российские медицинские вести. – 2010. – Выпуск 15 (3). – С.37-46.
37. Stone E. M. Missense variations in the fibulin 5 gene and age-related macular degeneration / E. M. Stone, T. A. Braun, S. R. Russell, M. H. Kuehn, A. J. Lotery, P. A. Moore // *N Engl J Med.* – 2004. – Vol. 351 (4). – P.346-353.
 38. Yang Z. Toll-like receptor 3 and geographic atrophy in age-related macular degeneration // Z. Yang, C. Stratton, P. J. Francis, M. E. Kleinman, P. L. Tan, D. Gibbs, Z. Tong, H. Chen, R. Constantine, X. Yang, Y. Chen, J. Zeng, L. Davey, X. Ma, V. S. Hau, C. Wang, J. Harmon, J. Buehler, K. Zhang // *N Engl J Med.* – 2008. – Vol. 359 (14). – P.1456-1463.
 39. Anderson D. H. Local cellular sources of apolipoprotein E in the human retina and retinal pigmented epithelium: implications for the process of drusen formation / D. H. Anderson, S. Ozaki, M. Nealon [et al.] // *Am J Ophthalmol.* – 2001. – Vol. 131 (6). – P.767-781.
 40. Baird P. N. The epsilon2 and epsilon4 alleles of the apolipoprotein gene are associated with age-related macular degeneration / P. N. Baird, E. Guida, D. T. Chu [et al.] // *Invest Ophthalmol Vis Sci.* – 2004. – Vol.45. – P.1311–1315.
 41. Goverdhan S. V. Interleukin-8 promoter polymorphism 251A/T is a risk factor for Age-related macular degeneration / S. V. Goverdhan, S. Ennis, S. R. Hannan [et al.] // *Br. J. Ophthalmol.* – 2008. – Vol. 92. – № 4. – P.448-450.
 42. Tsai Yi-Yu Interleukin Gene Polymorphism in Age-Related Macular Degeneration / Yi-Yu Tsai, Jane-Ming Lin, Lei Wan // *IOVS.* – 2008. – Vol. 49. – № 2. – P.693-698.
 43. Вудс Е. А. Фармакогенетические аспекты антиангиогенной терапии экссудативной формы возрастной макулярной дегенерации / Е. А. Вудс // Дисс. на соискание ученой степени канд. мед. наук. – М. – 2015. – 215 с.
 44. Будзинская М. В. Система новых подходов к диагностике и лечению субретинальной неоваскулярной мембраны / М. В. Будзинская // Дисс. на соискание ученой степени д-ра мед. наук. – М. – 2011. – 387 с.

45. Shroyer N. F. Cosegregation and functional analysis of mutant ABCR (ABCA4) alleles in families that manifest both Stargardt disease and age-related macular degeneration / N. F. Shroyer, R. A. Lewis, A. N. Yatsenko, T. G. Wensel, J. R. Lupski // *Hum Mol Genet.* – 2000. – Vol.10(23). – P.2671-2678.
46. De La Paz M. A. Analysis of the Stargardt disease gene (ABCR) in age-related macular degeneration / M. A. De La Paz, V. K. Guy, S. Abou-Donia, R. Heinis, B. Bracken, J. M. Vance [et al.] // *Ophthalmology.* – 1999. – Vol.106. – P.1531-1536.
47. Schmidt S. Detailed analysis of allelic variation in the ABCA4 gene in age-related maculopathy / S. Schmidt, E. A. Postel, A. Agarwal [et al.] // *Invest Ophthalmol Vis Sci.* – 2003. – Vol.44(7). – P.2868-2875.
48. Edwards A. O. Complement factor H polymorphism and age-related macular degeneration / A. O. Edwards, R. H. Ritter, K. J. Abel, A. Manning, C. Panhuysen, L. A. Farrer // *Science.* – 2005. – Vol.308. – P.421-424.
49. 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.
50. Haines J. L. Complement factor H variant increases the risk of age-related macular degeneration / J. L. Haines, M. A. Hauser, S. Schmidt [et al.] // *Science.* – 2005. – Vol. 308. – P.419-421.
51. De Cordoba S. R. Translational mini-review series on complement factor H: genetics and disease associations of human complement factor H / S. R. De Cordoba, E. G. de Jorge // *Clin Exp Immunol.* – 2008. – Vol.151(1). – P.1-13.
52. Feng X. Complement factor H Y402H and C-reactive protein polymorphism and photodynamic therapy response in age-related macular degeneration / X. Feng // *Ophthalmology.* – 2009. – Vol.116(10). – P.1908-1912.
53. Donoso L. A. The role of inflammation in the pathogenesis of age-related macular degeneration / L. A. Donoso, D. Kim, A. Frost, A. Callahan, G. Hageman // *Surv Ophthalmol.* – 2006. – Vol.51(2). – P.137-152.
54. Thakkeinstian A. Systematic review and meta-analysis of the association between complement factor H Y402H polymorphisms and age-related macular degeneration / A. Thakkeinstian, P. Han, M. McEvoy, W. Smith, J. Hoh, K. Magnusson, K. Zhang, J.

- Attia // Hum Mol Genet. – 2006. – Vol.15(18). – P.2784-2790.
55. Despriet D. D. Complement factor H polymorphism, complement activators, and risk of age-related macular degeneration / D. D. Despriet, C. C. Klaver, J. C. Witteman [et al.] // JAMA. – 2006. – Vol.296(3). – P.301-309.
 56. Sepp T. Complement factor H variant Y402H is a major risk determinant for geographic atrophy and choroidal neovascularization in smokers and nonsmokers / T. Sepp, J. C. Khan, D. A. Thurlby [et al.] // Invest Ophthalmol Vis Sci. – 2006. – Vol.47(2). – P.536-540.
 57. Seddon J. M. Association between C-reactive protein and age-related macular degeneration / J. M. Seddon, G. Gensler, R. C. Milton, M. L. Klein, N. Rifai // JAMA. – 2004. – Vol.291(6). – P.704-710.
 58. Fisher S. A. Meta-analysis of genome scans of age-related macular degeneration / S. A. Fisher, G. R. Abecasis, B. M. Yashar, S. Zarepari, A. Swaroop, S. K. Iyengar [et al.] // Hum. Mol. Genet. – 2005. – Vol.14. – P.2257-2264.
 59. Егоров Е. А. Ранибизумаб (луцентис) в лечении пациентов с "влажной" формой возрастной макулярной дегенерации / Е. А. Егоров, И.А. Романенко, Т. Б. Романова, Д. В. Кац // Клиническая офтальмология. – 2010. – Т.11(2). – С.65-68.
 60. Kepez Yildiz B. CFH Y402H and VEGFA Polymorphisms and Anti-VEGF Treatment Response in Exudative Age-Related Macular Degeneration / B. Kepez Yildiz, S. Ozdek, M. A. Ergun, S. Ergun, F. Yaylacioglu Tuncay, S. Elbeg // Ophthalmic Res. – 2016. – Vol.56(3). – P.132-138.
 61. Jakobsdottir J. Interpretation of genetic association studies: markers with replicated highly significant odds ratios may be poor classifiers / J. Jakobsdottir, M. B. Gorin, Y. P. Conley [et al.] // PLoS Genet. – 2009. – Vol.5. – e. 1000337.
 62. Fisher S. A. Meta-analysis of genome scans of age-related macular degeneration / S. A. Fisher, G. R. Abecasis, B. M. Yashar, S. Zarepari, A. Swaroop [et al.] // Human molecular genetic. – 2005. – Vol.14. – P.2257-2264.
 63. Klein R. J. Complement factor H polymorphism in age-related macular degeneration / R. J. Klein, C. Zeiss, E. Y. Chew, J-yue Tsai, R. S. Sackler [et al.] // Science (New York, NY). – 2005. – Vol.308. – 2005. – P.385-389.

64. Rivera A. Hypothetical LOC387715 is a second major susceptibility gene for age-related macular degeneration, contributing independently of complement factor H to disease risk / A. Rivera, S. A. Fisher, L. G. Fritsche, C. N. Keilhauer, P. Lichtner, T. Meitinger [et al.] // *Hum Mol Genet.* – 2005. – Vol.14. – P.3227-3236.
65. Gold B. AMD Genetics Clinical Study Group. Variation in factor B (BF) and complement component 2 (C2) genes is associated with age-related macular degeneration / B. Gold, J. E. Merriam, J. Zernant, L. S. Hancox, A. J. Taiber, K. Gehrs [et al.] // *Nat Genet.* – 2006. – Vol.38. – P.458-462.
66. Wang J. J. Combined Effects of Complement Factor H Genotypes, Fish Consumption, and Inflammatory Markers on Long-Term Risk for Age-related Macular Degeneration in a Cohort / J. J. Wang, E. Rochtchina, W. Smith [et al.] // *American Journal of Epidemiology.* – 2009. – Vol.169(5). – P.633-641.
67. Francis P. J. Haplotypes in the complement factor H (CFH) gene: associations with drusen and advanced age-related macular degeneration / P. J. Francis, D. W. Schultz, S. Hamon, J. Ott, R. G. Weleber, M. L. Klein // *PLoS ONE* 2007. – Vol.2. – e. 1197.
68. Magnusson K. P. CFH Y402H confers similar risk of soft drusen and both forms of advanced AMD / K. P. Magnusson, S. Duan, H. Sigurdsson, H. Petursson, Z. Yang, Y. Zhao [et al.] // *PLoS Med.* – 2005. – Vol. 3. – e.5.
69. Shuler Jr. R. K. Phenotype analysis of patients with the risk variant LOC387715 (A69S) in age-related macular degeneration / Jr. R. K. Shuler, S. Schmidt, P. Gallins, M. A. Hauser, W. K. Scott, J. Caldwell [et al.] // *Am J Ophthalmol.* – 2008. – Vol.145. – P.303-307.
70. Shuler Jr. R. K. Peripheral reticular pigmentary change is associated with complement factor H polymorphism (Y402H) in age-related macular degeneration / Jr. R. K. Shuler, S. Schmidt, P. Gallins, M. A. Hauser, W. K. Scott, J. Caldwell [et al.] // *Ophthalmology.* – 2008. – Vol.115. – P.520-524.
71. Tedeschi-Blok N. Population-based study of early age-related macular degeneration: role of the complement factor H Y402H polymorphism in bilateral but not unilateral disease / N. Tedeschi-Blok, J. Buckley, R. Varma, T. J. Triche, D. R. Hinton // *Ophthalmology.* – 2007. – Vol.114. – P.99-103.

72. Kumaramanickavel G. Age-Related Macular Degeneration: Genetics and Biology // G. Kumaramanickavel // *Asia Pac J Ophthalmol (Phila)*. –2016.–Vol.5(4).–P.229-235.
73. Hirata F. E. Association of LOC387715/ARMS2 (rs10490924) Gene Polymorphism with Age-Related Macular Degeneration in the Brazilian Population / F. E. Hirata, J. P. de Vasconcellos, F. M. Medina, P. H. Rim, E. A. Fulco, M. B. de Melo // *Ophthalmic Genet*. – 2015. – Vol.36(3). – P.224-228.
74. Gaofeng W. Coding Variants in ARMS2 and the Risk of Age-Related Macular Degeneration / W. Gaofeng, W. K. Scott, A. Agarwal, J. L. Haines, M. A. Pericak-Vance // *JAMA Ophthalmol*. – 2013. – 131(6). – P.804-805.
75. Auton A. A global reference for human genetic variation / A. Auton [et al.] // *Proect 1000 Genomes*. – 2015. – Vol. 526. – P.68-74.
76. Grassmann F. Recombinant Haplotypes Narrow the ARMS2/HTRA1 Association Signal for Age-Related Macular Degeneration / F. Grassmann, I. M. Heid, B. H. Weber // *Genetics*. – 2017. – Vol.205(2). – P.919-924.
77. 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.
78. Cruz-González F. Influence of CFH, HTRA1 and ARMS2 haplotype polymorphisms in the development of age-relatedmacular disease / F. Cruz- González, R. Lorenzo-Pérez, C. Cañete-Campos, E. Hernández-Galilea, R.González-Sarmiento // *Arch. Soc. Esp. Oftalmol*. – 2013. – Vol.88(1). – P.3-10.
79. Cruz-González F. CFH (rs1410996), HTRA1 (rs112000638) and ARMS2 (rs10490923) gene polymorphisms are associated with AMD risk in Spanish patients / F. Cruz-González, C. Cieza-Borrella, G. López Valverde, R. Lorenzo-Pérez, E. Hernández-Galilea, R. González-Sarmiento // *Ophthalmic Genet*. – 2014. – Vol.35(2). – P.68-73.
80. Almeida L. N. Association analysis of CFH and ARMS2 gene polymorphisms in a Brazilian cohort with age-related macular degeneration / L. N. Almeida, R. Melilo-Carolino, C. E. Veloso [et al.] // *Ophthalmic. Res*. – 2013. – Vol.50(2). – P.117-122.

81. Simonett J. M. A Validated Phenotyping Algorithm for Genetic Association Studies in Age-related Macular Degeneration / J. M. Simonett, M. A. Sohrab, J. Pacheco [et al.] // *Sci. Rep.* – 2015. – 10. – Vol.5. – P.2191-2196.
82. Yoneyama S. Genetic factors associated with choroidal vascular hyperpermeability and subfoveal choroidal thickness in polypoidal choroidal vasculopathy / S. Yoneyama, Y. Sakurada, W. Kikushima [et al.] // *Retina.* – 2016. – Vol.36(8). – P.1535-1541.
83. 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.
84. Kawa M. P. Complement system in pathogenesis of AMD: dual player in degeneration and protection of retinal tissue / M. P. Kawa, M. A. Machalinska, D. Roginska, B. Machalinski // *J. Immunol. Res.* – 2014. – Vol.48. – P.39-60.
85. Anand A. Using current data to define new approach in age related macular degeneration: need to accelerate translational research / A. Anand, K. Sharma, W. Chen, N. K. Sharma // *Curr. Genomics.* – 2014. – Vol.15(4). – P.266-77.
86. Sparrow J. R. Complement dysregulation in AMD: RPE-Bruch's membrane-choroid / J. R. Sparrow, K. Ueda, J. Zhou // *Molecular Aspects of Medicine.* – 2012. – Vol.33(4). – P.436-445.
87. Gorin M. B. Genetic insights into age-related macular degeneration: controversies addressing risk, causality, and therapeutics / M. B. Gorin // *Molecular Aspects of Medicine.* – 2012. – Vol.33(4). – P.467-486.
88. Contreras A. V. CFH haplotypes and ARMS2, C2, C3, and CFB alleles show association with susceptibility to age-related macular degeneration in Mexicans / A. V. Contreras, J. C. Zenteno, J. C. Fernández-López [et al.] // *Mol Vis.* – 2014. – Vol.20. – P.105-116.
89. Ristau T. Impact of the common genetic associations of age-related macular degeneration upon systemic complement component C3d levels / T. Ristau, C. Paun, L. Ersoy [et al.] // *PLoS One.* – 2014. – Vol.9(3). – e.93459.
90. Micklisch S. Age-related macular degeneration associated polymorphism rs10490924

- in ARMS2 results in deficiency of a complement activator / S.Micklisch, Y. Lin, S. Jacob [et al.] // J. Neuroinflammation. – 2017. – Vol.14(1). – P.1-4.
91. Soheilian R. C-reactive protein and complement factor H polymorphism interaction in advanced exudative age-related macular degeneration / R. Soheilian, M. H. Jabbarpour Bonyadi, H. Moein [et al.] // Int. Ophthalmol. – 2016. – Vol.37(5). – P.1161-1168.
 92. Fritsche L. G. Seven new loci associated with age-related macular degeneration / L. G. Fritsche, W. Chen, M. Schu [et al.] // Nature Genetics. – 2013. – Vol.45(4). – P.433-439.
 93. Karkhane R. Complement factor H and LOC387715/ARMS2/HTRA1 variant's frequencies and phenotypic associations in neovascular age-related macular degeneration, a pilot study / R. Karkhane, A. Ahmadraji, M. Riazi Esfahani [et al.] // J. Curr. Ophthalmol. – 2016. – Vol.28(1). – P.32-36.
 94. Wang Z. Y. Systematic review and meta-analysis of the association between complement factor H I62V polymorphism and risk of polypoidal choroidal vasculopathy in Asian populations / Z. Y. Wang, K. Zhao, J. Zheng [et al.] // PLoS One. – 2014. – Vol.9(2). – e. 88324.
 95. 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.
 96. Altay L. Association of Hyperreflective Foci Present in Early Forms of Age-Related Macular Degeneration With Known Age-Related Macular Degeneration Risk Polymorphisms / L. Altay, P. Scholz, T. Schick [et al.] // Invest Ophthalmol Vis Sci. – 2016. – Vol.57(10). – P.4315-4320.
 97. Cruz-González F. A (rs699947 and rs833061) and VEGFR2 (rs2071559) gene polymorphisms are not associated with AMD susceptibility in a Spanish population / F. Cruz-González, C. Cieza-Borrella, L. Cabrillo-Estévez // Curr. Eye Res. – 2013. – Vol.38(12). – P.1274-1277.
 98. Liao X. Four complement factor H gene polymorphisms in association with AMD: A meta-analysis / X. Liao, C. J. Lan, I. W. Cheuk, Q. Q. Tan // Arch. Gerontol. Geriatr.

- 2016. – Vol.64. – P.123-129.
99. Popp N. A. No Sex Differences in the Frequencies of Common Single Nucleotide Polymorphisms Associated with Age-Related Macular Degeneration / N. A. Popp, E. Agrón, G. S. Hageman [et al.] // *Curr. Eye. Res.* – 2016. – Vol.15. – P.1-6.
 100. Wang Z. Y. Systematic review and meta-analysis of the association between complement factor H I62V polymorphism and risk of polypoidal choroidal vasculopathy in Asian populations / Z. Y. Wang, K. Zhao, J. Zheng [et al.] // *PLoS One.* – 2014. – Vol.9(2). – e. 88324.
 101. Babanejad M. Investigating the CFH Gene Polymorphisms as a Risk Factor for Age-related Macular Degeneration in an Iranian Population / M. Babanejad, H. Moein, M. R. Akbari [et al.] // *Ophthalmic. Genet.* – 2016. – Vol.37(2). – P.144-149.
 102. 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.
 103. Sakurada Y. Prevalence and Genetic Characteristics of Geographic Atrophy among Elderly Japanese with Age-Related Macular Degeneration / Y. Sakurada, S. Yoneyama, A. Sugiyama [et al.] // *PLoS One.* – 2016. – Vol.11(2). – e. 0149978.
 104. García M. CFH polymorphisms in a Northern Spanish population with neovascular and dry forms of age-related macular degeneration / M. García, L. Álvarez, A. M. Nogacka [et al.] // *Acta Ophthalmol.* – 2015. – Vol.93(8). – P.658-666.
 105. Woo S. J. Analysis of Genetic and Environmental Risk Factors and Their Interactions in Korean Patients with Age-Related Macular Degeneration / S. J. Woo, J. Ahn, M. A. Morrison [et al.] // *PLoS One.* – 2015. – Vol.10(7). – e. 0132771.
 106. Miyake M. Pachychoroid neovascuopathy and age-related macular degeneration / M. Miyake, S. Ooto, K. Yamashiro [et al.] // *Sci. Rep.* – 2015. – Vol.5. – e. 16204.
 107. Miyake M. The Contribution of Genetic Architecture to the 10-Year Incidence of Age-Related Macular Degeneration in the Fellow Eye / M. Miyake, K. Yamashiro, H. Tamura [et al.] // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 2015. – Vol.56(9) . – P.5353-5361.
 108. Tamura H. Association of ARMS2 genotype with bilateral involvement of exudative

- age-related macular degeneration / H. Tamura, A. Tsujikawa, K. Yamashiro [et al.] // *Am. J. Ophthalmol.* – 2012. – Vol.154(3). – P.542-548.
109. Tateno Y. Risk Factors for Second Eye Involvement in Eyes with Unilateral Polypoidal Choroidal Vasculopathy / Y. Tateno, Y. Sakurada, S. Yoneyama [et al.] // *Ophthalmic Genet.* – 2016. – Vol.37(2). – P.177-182.
 110. Fauser S. Genetic predictive biomarkers of anti-VEGF treatment response in patients with neovascular age-related macular degeneration / S. Fauser, G. N. Lambrou // *Surv. Ophthalmol.* – 2015. – Vol.60(2). – P.138-152.
 111. Park U. C. Pharmacogenetic associations with long-term response to anti-vascular endothelial growth factor treatment in neovascular AMD patients / U. C. Park, J. Y. Shin, L. C. McCarthy // *Mol. Vis.* – 2014. – Vol.20. – P.1680-1694.
 112. Habibi I. Effect of Risk Alleles in CFH, C3, and VEGFA on the Response to Intravitreal Bevacizumab in Tunisian Patients with Neovascular Age-related Macular Degeneration / I. Habibi, F. Kort, I. Sfar [et al.] // *Klin. Monbl. Augenheilkd.* – 2016. – Vol.233(4). – P.465-670.
 113. Hagstrom S. A. VEGFA and VEGFR2 gene polymorphisms and response to anti-vascular endothelial growth factor therapy: comparison of age-related macular degeneration treatments trials (CATT) / S. A. Hagstrom, G. S. Ying, G. J. Pauer [et al.] // *JAMA Ophthalmol.* – 2014. – Vol.132(5). – P.521-527.
 114. Zhao L. Common variant in VEGFA and response to anti-VEGF therapy for neovascular age-related macular degeneration / L. Zhao, S. Grob, R. Avery [et al.] // *Curr. Mol. Med.* – 2013. – Vol. 13(6). – P.929-934.
 115. Smailhodzic D. Cumulative effect of risk alleles in CFH, ARMS2, and VEGFA on the response to ranibizumab treatment in age-related macular degeneration // D. Smailhodzic, P. S. Muether, J. Chen [et al.] // *Ophthalmology.* – 2012. – Vol.119(11). – P.2304-2311.
 116. Fang A. M. Polymorphisms in the VEGFA and VEGFR-2 genes and neovascular age-related macular degeneration / A. M. Fang, A. Y. Lee, M. Kulkarni, M. P. Osborn, M. A. Jr. Brantley // *Mol. Vis.* – 2009. – Vol.15. – P.2710-2019.
 117. Фролова С. С. Прогнозування розвитку ВМД в залежності від клінічних та

генетичних показників, визначених при первинному скринінгу / С. С. Фролова // Вісник проблем біології і медицини. – 2017. – Полтава. – Випуск 3. – Т.1(137). – С.243-25.

118. Ehrlich R. Age-related macular degeneration and aging eye / R. Ehrlich, A. Harris, N. S. Kheradiya, D. M. Winston, T. A. Ciulla, B. Wirostko // Clin Interv Aging. – 2008. – Vol. 3 (3). – P.473-482.
119. Акопян В. С. Классификация возрастной макулярной дегенерации / В. С. Акопян // «Макула – 2004»: тез. докл., стеногр. дискус. – Ростов-на-Дону: Фактор времени. – 2004. – С.90-93.
120. Пасечникова Н. В. Новая клиническая классификация возрастной макулярной дегенерации / Н. В. Пасечникова // Новости медицины и фармации. – 2012. – №4(402) – 90 с.

РОЗДІЛ 3

ДІАГНОСТИЧНА ЗНАЧИМІСТЬ ДОСЛІДЖУВАНИХ ЧИННИКІВ В РОЗВИТКУ «СУХОЇ» ФОРМИ ВІКОВОЇ ДЕГЕНЕРАЦІЇ МАКУЛИ

3.1 Визначення ролі генетичного поліморфізму у розвитку «сухої» форми ВДМ

Особливості розвитку та фенотипична неоднорідність вікової дегенерації макули обумовлюють складність виявлення генетичних мутацій [1-3]. Як правило, у генетичних дослідженнях неможливо однозначно встановити конкретний ген або групу генів, якщо в аналіз включені всі форми ВДМ. Завдяки проведенню великої кількості досліджень, відомо, що за розвиток вікової дегенерації макули можуть відповідати близько 50 генів [2, 3]. Але, незважаючи на застосування різноманітних підходів для виявлення точної ділянки генома, який відіграє вирішальну роль в патогенезі ВДМ, вирогідна асоціація з розвитком і прогресуванням захворювання встановлена лише у кількох з них [1]. Переважна більшість інших робіт – суперечливі та неоднозначні.

3.1.1. Зв'язок поліморфізму rs10490924 гена ARMS2 з розвитком «сухої» форми ВДМ

Задля визначення можливого впливу генотипу за дослідженими поліморфізмами на виникнення «сухої» форми ВДМ ми провели порівняння розподілу генотипів та алелей у хворих, які мали підтверджену специфічними методами дослідження «суху» форму ВДМ (ІІ група) проти групи порівняння (І група), без ВДМ. Результати розподілу представлені на рисунку 3.1.

Аналіз даних показав (рис.3.1), що відмінності між групами не мали статистичної значущості в жодному порівнянні ($P_{\text{Fet}} > 0,05$ за Фішером). Отриманий результат був свідченням відсутності жодних зв'язків поліморфізму гена ARMS2 (rs10490924) з розвитком «сухої» форми ВДМ. У хворих з «сухою» формою ВДМ (група ІІ) частота предкової гомозиготи G/G та алелі G знижувалася у 1,5 рази та 1,2 рази відповідно, тоді як частота гетерозиготи G/T збільшувалася у 1,1 рази. Крім того, 4 хворих з «сухою» формою ВДМ були носіями мінорної гомозиготи T/T (6,2%), однак всі відмінності були статистично не значущі ($P_{\text{Fet}} > 0,05$) [4].

Крім того, в ході дослідження проаналізовано ступінь асоціації генотипів

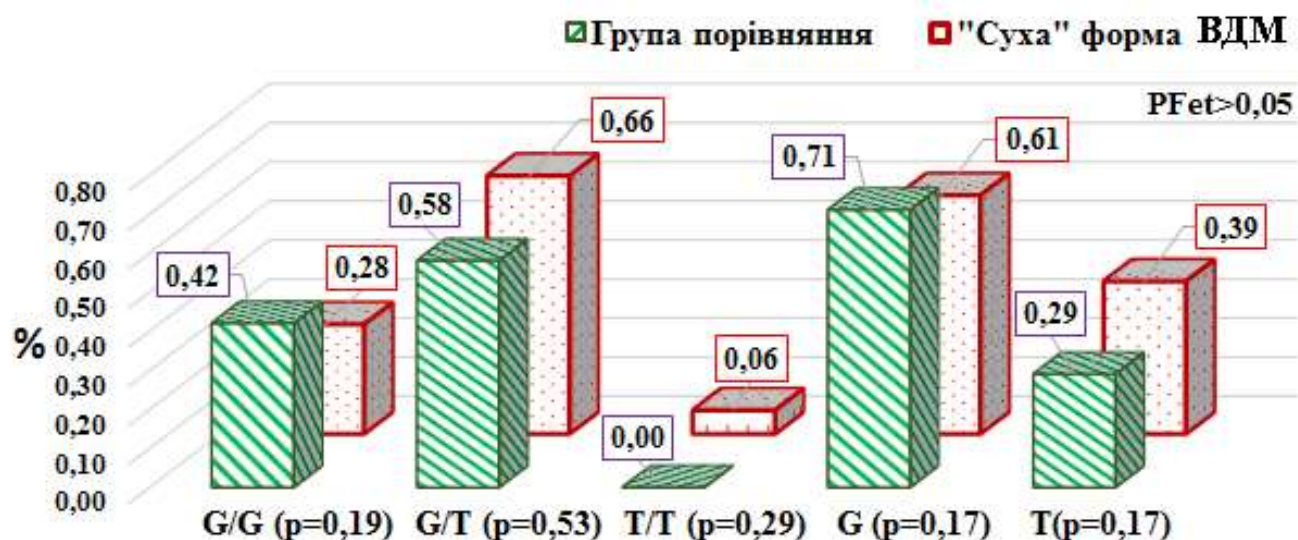


Рис. 3.1. Частоти розподілу генотипів та алелей поліморфізму rs10490924 гена ARMS2 в групі порівняння (І група) та у хворих з «сухою» формою ВДМ (ІІ група)

Таблиця 3.1

Результати аналізу ступеня асоціації генотипів та алелей поліморфізму rs10490924 гена ARMS2 між пацієнтами ІІ групи та групи порівняння із розвитком «сухої» форми ВДМ, n= 102

Фактори, між якими проводили аналіз		Генотипи			Алелі	
		G/G	G/T	T/T	G	T
ІІ група, n=64		18	42	4	78	50
Група порівняння, n=38		16	22	0	54	22
χ^2		4,00			2,14	
p		0,14			0,14	
OR	значення	0,54	1,39	5,73	0,64	1,57
	95% BI	0,23 – 1,25	0,61 – 3,17	0,30 – 109,38	0,35 – 1,17	0,86 – 2,90

поліморфізму rs10490924 гена ARMS2 із захворюванням («суха» форма ВДМ) між пацієнтами досліджуваної групи та групи порівняння при вірогідному інтервалі 95% (таблиця 3.1).

Результати аналізу показали (табл.3.1) відсутність вірогідного розподілу генотипів та алелей в обох досліджуваних групах ($p_{\chi^2}=0,14$). Таким чином, поліморфізм rs10490924 гена ARMS2 не мав асоціативного зв'язку з виникненням «сухої» форми ВДМ у пацієнтів в Україні [4].

Результати досліджень, отримані іншими вченими [5], свідчили про те, що у бразильських хворих поліморфізм гена ARMS2 також не був пов'язаний з розвитком як ексудативної, так і атрофічної форм ВДМ.

3.1.2. Зв'язок поліморфізму rs800292 гена CFH з розвитком «сухої» форми ВДМ

Отримані дані щодо асоціації поліморфізму гена CFH (rs800292) з розвитком «сухої» форми ВДМ розподілу генотипів та алелей цього поліморфізму представлені на рис.3.2.

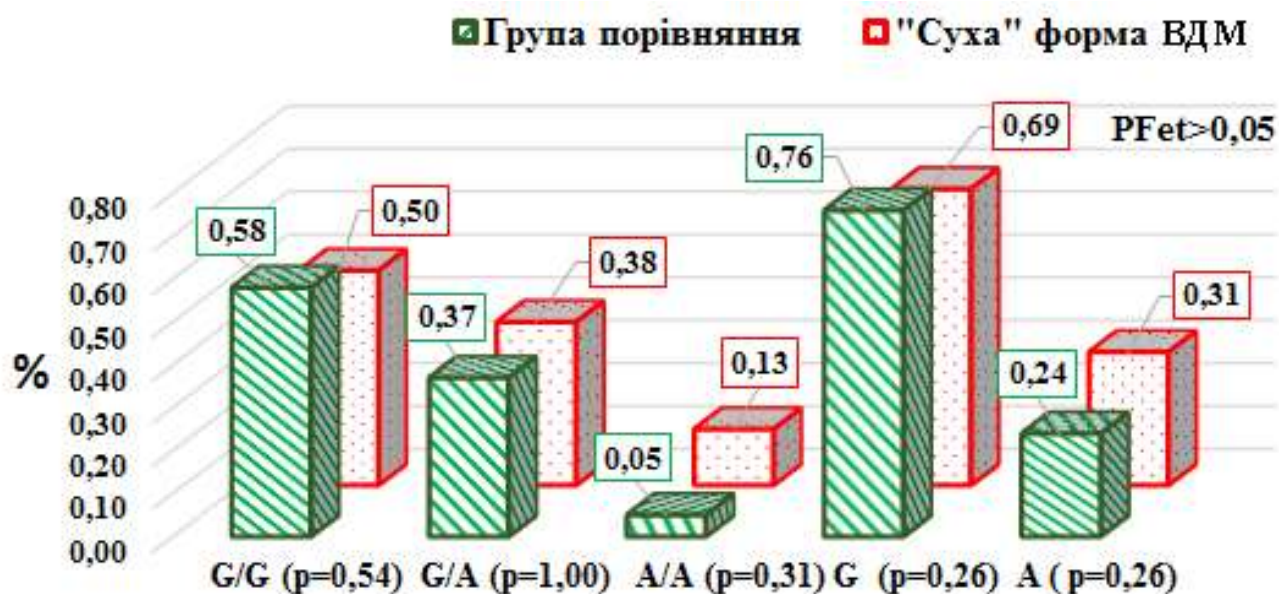


Рис. 3.2. Частоти розподілу генотипів та алелей поліморфізму rs800292 гена CFH в групі порівняння (I група) та у хворих з «сухою» формою ВДМ (II група)

Аналіз результатів (рис.3.2) визначив відсутність статистично значущої

відмінності між групами в жодному порівнянні ($P_{\text{Fet}} > 0,05$ за Фішером). Тенденція до зменшення частоти предкового генотипу G/G та збільшення частоти гетерозиготи G/A і мінорної гомозиготи A/A зберігалася. Частота генотипу G/G зменшувалася у 1,4 рази, частота гетерозиготи G/A збільшувалася у 1,5, а мінорної гомозиготи A/A – у 2,6 рази відповідно ($P_{\text{Fet}} > 0,05$). Такі дані свідчили про відсутність зв'язку поліморфізму гена CFH (rs800292) з виникненням «сухої» форми ВДМ [4].

Отже, як і для гена ARMS2 (rs10490924), розподіл генотипів гена CFH (rs800292) у хворих, які мали «суху» форму ВДМ (табл.3.2), суттєво не відрізнявся від пацієнтів із групи порівняння ($p_{\chi^2} = 0,46$) без ВДМ. Також не було різниці і у розподілі алелей поліморфізму rs800292 гена CFH між хворими II групи, на очах яких було діагностовано «суху» форму ВДМ, та групою порівняння ($p_{\chi^2} = 0,25$), що свідчило про відсутність асоціації цього алельного поліморфізму з її виникненням.

Таблиця 3.2

**Результати аналізу ступеню асоціації генотипів та алелей поліморфізму
rs800292 гена CFH між пацієнтами II групи та групи порівняння
із розвитком «сухої» форми ВДМ, n= 102**

Фактори, між якими проводили аналіз		Генотипи			Алелі	
		G/G	G/A	A/A	G	A
II група, n=64		32	24	8	88	40
Група порівняння, n=38		22	14	2	58	18
χ^2		1,56			1,34	
p		0,46			0,25	
OR	значення	0,73	1,03	2,57	0,68	1,46
	95% BI	0,32 – 1,63	0,45 – 2,36	0,52 – 12,80	0,36 – 1,30	0,77 – 2,80

Результати досліджень інших вчених [1, 6] свідчили про ефект поліморфізму гена CFH, який посилювався при хоріоїдальній неваскуляризації у порівнянні з

географічною атрофією. Схожі результати були отримані за даними великого мета-аналізу і для азіатської популяції [7].

Таким чином, наші дослідження показали, що пацієнтам в Україні не була притаманна вірогідна асоціація вивчених поліморфізмів генів ARMS2 та CFH з «сухою» формою ВДМ.

3.1.3. Зв'язок поліморфізму rs2010963 гена VEGFA з розвитком «сухої» форми ВДМ

У ході дослідження нами також було проаналізовано можливий зв'язок поліморфізму rs2010963 гена VEGFA з розвитком «сухої» форми вікової дегенерації макули у пацієнтів в Україні.

Аналіз дозволив констатувати, що відмінності між групами щодо поліморфізму rs2010963 гена VEGFA були статистично значущі лише за генотипом G/G і за алелями G та C ($P_{Fet}=0,04$; $P_{Fet}=0,048$ відповідно), в інших випадках – не значущі ($P_{Fet}>0,05$) (рис.3.3). Генотип G/G у хворих з «сухою» формою ВДМ зустрічався у 1,7 рази рідше, ніж у контролі (31,2% проти 52,6%, відповідно; $p_{Fet}=0,04$). Тобто, у пацієнтів, які мали «суху» форму ВДМ, частота предкового генотипу G/G rs2010963 гена VEGFA суттєво зменшувалася, що відповідало збільшенню частоти гетерозиготи G/C у 1,3 рази та мутантної гомозиготи C/C у 2,6 рази ($p_{Fet}=1,0$ та $p_{Fet}=0,31$ відповідно) (рис.3.3) [4].

Результати свідчили (рис.3.3, табл.3.3), що між II групою та групою порівняння розподіл алелей поліморфізму rs2010963 гена VEGFA значуще відрізнявся. Предкова алель G зустрічалася у хворих з «сухою» формою ВДМ у 1,3 рази рідше ($p_{Fet}=0,048$), а мінорна алель C – у 1,6 рази частіше ($p_{Fet}=0,048$) [4].

Разом з тим, генотипи поліморфізму rs2010963 гена VEGFA не були пов'язані з розвитком «сухої» форми ВДМ ($p_{\chi^2}=0,08$) (табл. 3.3).

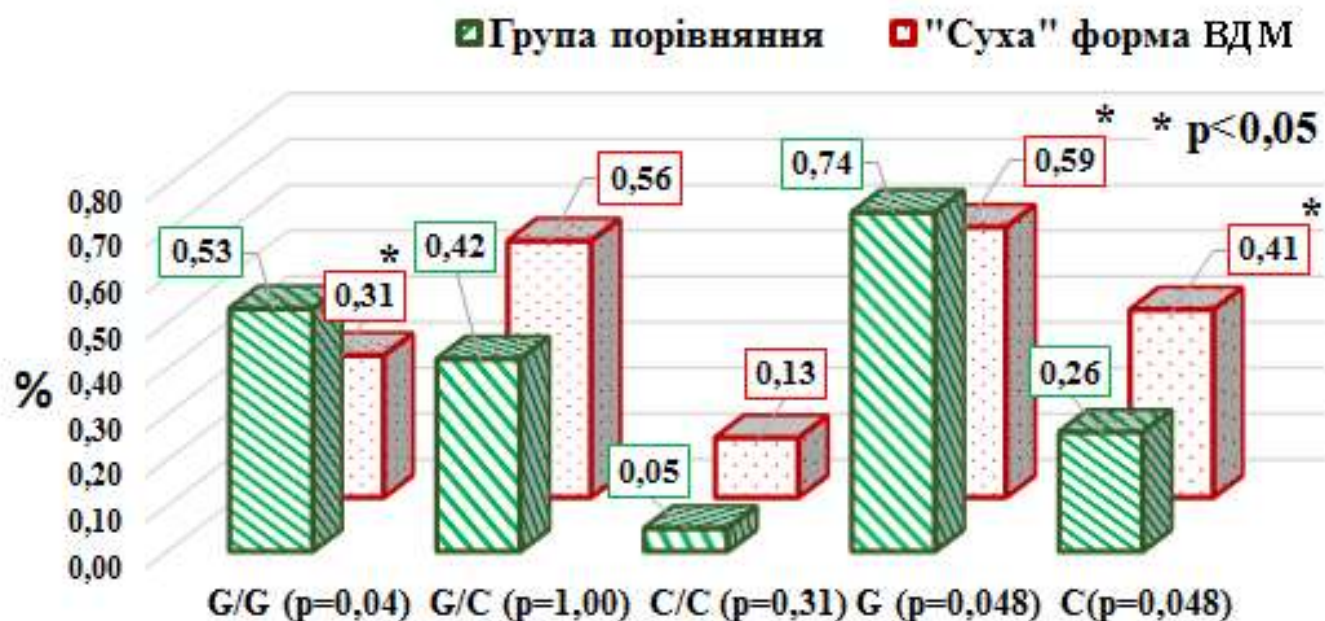


Рис. 3.3. Частоти розподілу генотипів та алелей поліморфізму rs2010963 гена VEGFA в групі порівняння (І група) та у хворих з «сухою» формою ВДМ (ІІ група)

Таблиця 3.3

Результати аналізу ступеня асоціації генотипів та алелей поліморфізму rs2010963 гена VEGFA між пацієнтами ІІ групи та групи порівняння із розвитком «сухої» форми ВДМ, n= 102

Фактори, між якими проводили аналіз		Генотипи			Алелі	
		G/G	G/C	C/C	G	C
ІІ група, n=64		20	36	8	76	56
Група порівняння, n=38		20	16	2	56	20
χ^2		4,99			4,28	
p		0,08			0,04	
OR	значення	0,41	1,77	2,57	0,52	1,92
	95% BI	0,18 – 0,94	0,79 – 3,98	0,52 – 12,80	0,28 – 0,97	1,03 – 3,56

Встановлено (табл.3.3) наявність статистичної значущості зв'язку алельного поліморфізму rs2010963 гена VEGFA із розвитком захворювання ($p_{(\chi^2)}=0,04$). Мутантна алель С поліморфізму rs2010963 гена VEGFA у 1,9 рази збільшувала шанси розвитку «сухої» форми ВДМ ($OR=1,92$; 95% BI 1,03-3,56). В той же час дика алель G зменшувала такі шанси у 1,9 рази ($OR=0,52$; 95% BI 0,28-0,97) [4].

Отже, аналіз асоціації із «сухою» формою ВДМ характеризував відсутність такого зв'язку для генотипів поліморфізму rs2010963 гена VEGFA, тоді як для алелей такий зв'язок зберігався, хоча і став менш вираженим ($\chi^2=4,28$; $p=0,04$).

3.1.4. Зв'язок поліморфізму rs699947 гена VEGFA з розвитком «сухої» форми ВДМ

У ході дослідження ми аналізували можливий зв'язок іншого поліморфізму гена VEGFA – rs699947 з розвитком «сухої» форми вікової дегенерації макули у пацієнтів в Україні.

Розподіл генотипів та алелей цього поліморфізму гена VEGFA при порівнянні у пацієнтів II групи з «сухою» формою ВДМ та групи порівняння без ВДМ наведено на рисунку 3.4. Як свідчив аналіз результатів, відмінності між групами не мали статистичної значущості в жодному порівнянні ($P_{Fet}>0,05$). У пацієнтів з «сухою» формою ВДМ відмічено збільшення частоти предкової гомозиготи С/С у 1,6 рази та зменшення частоти гетерозиготи у 1,2 рази, але ці розбіжності не мали статистичної значущості при оцінці за двостороннім точним методом Фішера ($P_{Fet}=0,18$ та $P_{Fet}=0,12$ відповідно). Розподіл алелей також показував деякий зсув у бік предкової алелі (рисунок 3.4) [4].

Під час дослідження нами також проведено аналіз ступіню асоціації генотипів поліморфізму rs699947 гена VEGFA із захворюванням («суха» форма ВДМ) між пацієнтами II групи та групи порівняння при вірогідному інтервалі 95% (таблиця 3.4).

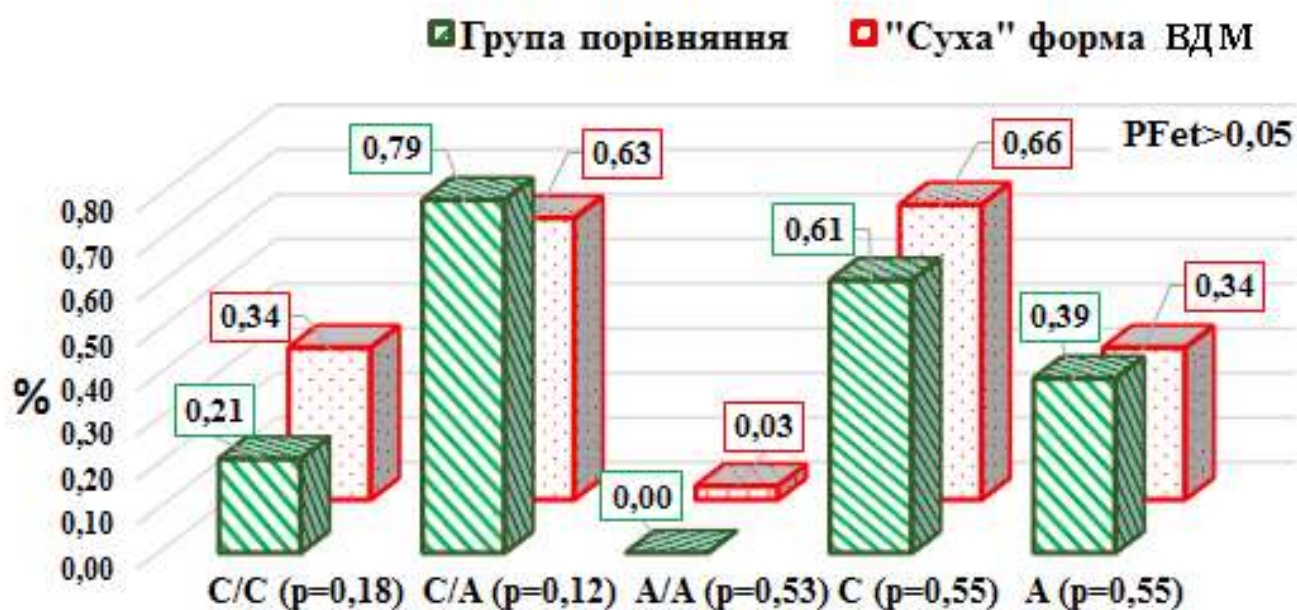


Рис. 3.4. Частоти розподілу генотипів та алелей поліморфізму rs699947 гена VEGFA в групі порівняння (І група) та у хворих з «сухою» формою ВДМ (ІІ група)

Таблиця 3.4

**Результати аналізу ступеня асоціації генотипів та алелей поліморфізму
 rs699947 гена VEGFA між пацієнтами ІІ групи та групи порівняння
 із розвитком «сухої» форми ВДМ, n= 102**

Фактори, між якими проводили аналіз		Генотипи			Алелі	
		C/C	C/A	A/A	C	A
ІІ група, n=64		22	40	2	84	44
Група порівняння, n=38		8	30	0	46	30
χ^2		3,57			0,54	
p		0,17			0,46	
OR	значення	1,96	0,44	3,08	1,25	0,08
	95% BI	0,77 – 5,00	0,18 – 1,13	0,14 – 65,88	0,69 – 2,24	0,45 – 1,44

Відповідно до такого розподілу генотипів та алелей значущості відмінностей за критерієм χ^2 не виявлено, що свідчить про відсутність асоціативного зв'язку генотипів та алелей поліморфізму rs699947 гена VEGFA при стратифікації хворих II групи з ВДМ за наявністю «сухої» форми захворювання (табл. 3.4).

3.2. Визначення значущості клініко-лабораторних показників в розвитку «сухої» форми ВДМ

З метою вивчення асоціації виникнення «сухої» форми ВДМ в залежності від клініко-лабораторних показників з вивчених генотипів у ході дослідження було проаналізовано залежність захворювання окремо за кожним показником. Аналіз результатів у пацієнтів основної групи, які мали «суху» форму ВДМ (II група), представлено в табл.3.5, де наведені дані тільки для тих показників, значення яких статистично значимо розрізнялися у залежності від генотипу ($p < 0,05$).

Носіям мінорної алелі T поліморфізму rs10490924 ARMS2 були притаманні менша тривалість розвитку хвороби та більший вміст у крові холестерину та ЛПНЩ, а також більші значення ІА, які вже знаходилися у зоні патологічних значень. Аналогічні дані отримані й для мінорної алелі A rs800292 гена CFH, для носіїв якої були характерні більші значення вмісту у крові холестерину, ЛПНЩ та ЛПДНЩ, індексу атерогенності, а також збільшення кількості у крові еритроцитів та тромбоцитів [8].

Отже, ці дані вказують на патогенетичне значення мінорних (ризикових по виникненню до ВДМ) алелей цих поліморфізмів, які, на відміну від групи порівняння, обумовлюють гіперхолестеринемію, атерогенну дисліпідемію та згущення крові [8].

Всі ці фактори мають певне патогенетичне значення для ВДМ [9-11].

Водночас носії ризикових алелей поліморфізмів гена VEGFA відрізнялися більшими значеннями у крові ТГ і глюкози (rs2010963), ІМТ, холестерину, ЛПДНЩ (rs699947). Тобто, в цілому, також мали патогенетичне значення для розвитку ВДМ [8].

Таблиця 3.5

**Залежність клініко-лабораторних показників від генотипів вивчених
поліморфізмів у пацієнтів з «сухою» формою ВДМ (II група), n= 64**

Показник	ARMS2, rs10490924			Критерій F	Рівень значущості відмінності, p
	G/G (n=18)	G/T (n=42)	T/T (n=4)		
ТХ, роки	7,56±1,80	2,33±0,50	4,50±2,02	7,193	0,002
Хол, ммоль/л	5,48±0,26	5,57±0,17	7,40±1,56	4,123	0,021
ЛПНЩ, ммоль/л	3,41±0,21	3,70±0,15	5,45±1,36	5,620	0,006
ІА, ум.од.	3,04±0,31	3,44±0,20	5,20±0,92	4,379	0,017
	CFH, rs800292				
	G/G (n=32)	G/A (n=24)	A/A (n=8)		
ТХ, роки	4,06±0,98	1,58±0,16	10,50±2,51	10,965	8,55E-05
Хол, ммоль/л	5,53±0,17	5,26±0,21	7,35±0,72	10,071	1,66E-04
ЛПНЩ, ммоль/л	3,73±0,16	3,25±0,19	5,13±0,62	9,597	2,38E-04
ЛПДНЩ, ммоль/л	0,24±0,02	0,21±0,02	1,45±1,11	4,569	0,014
ЛПВЩ, ммоль/л	1,27±0,05	1,51±0,07	1,21±0,06	4,948	0,010
ІА, ум.од.	3,49±0,19	2,92±0,31	4,83±0,44	6,767	0,002
Еритроцити, Т/л	4,79±0,07	4,60±0,07	4,90±0,03	3,324	0,043
Тромбоцити, Г/л	210,4±6,3	234,9±9,4	248,5±18,1	3,876	0,026
	VEGFA rs2010963				
	G/G (n=22)	G/C (n=30)	C/C (n=12)		
ТХ, роки	3,55±1,07	2,60±0,67	8,00±2,19	5,011	0,010
ТГ, ммоль/л	1,24±0,13	1,05±0,05	1,67±0,21	5,952	0,004
Глюкоза, ммоль/л	5,26±0,12	5,11±0,10	6,05±0,26	9,434	2,69E-04
Тромбоцити, Г/л	235,4±11,6	227,9±5,3	195,3±12,2	3,753	0,029
Гемоглобін, г/л	133,73±3,0 7	140,00±1,6 1	151,00±3,5 4	8,543	0,001
	VEGFA rs699947				
	C/C (n=22)	C/A (n=40)	A/A (n=2)		
ТХ, роки	5,36±1,37	2,45±0,51	18,00±2,00	12,609	2,61E-05
ІМТ, кг/м ²	25,88±0,53	26,79±0,53	32,66±0,67	4,658	0,013
Хол, ммоль/л	6,10±0,34	5,31±0,15	7,70±0,90	5,777	0,005
ЛПДНЩ, ммоль/л	0,27±0,03	0,22±0,02	4,75±4,51	29,072	1,36E-09
Глюкоза, ммоль/л	5,70±0,19	5,16±0,08	5,10±0,20	4,666	0,013

Примітка: ІА – індекс атерогенності; ІМТ – індекс маси тіла; ЛПНЩ – ліпопротеїди низької щільності; ЛПДНЩ – ліпопротеїди наднизької щільності; ЛПВЩ – ліпопротеїди високої щільності; ТГ – тригліцериди; ТХ – тривалість хвороби; Хол – холестерин

3.3. Вивчення ролі офтальмологічних показників в розвитку «сухої» форми ВДМ

Задля порівняльної оцінки та вирішення протиріч проведених раніше досліджень [12-14] щодо визначення асоціації поліморфізмів генів ARMS2, VEGFA і CFH з маркерами морфологічної структури макули у хворих на «суху» форму вікової дегенерації макули, нами було проведено аналіз зв'язку чотирьох визначених поліморфізмів генів із показниками клінічного обстеження пацієнтів, які описували товщину сітківки в ділянці фовеоли і зміни морфологічної структури макули при «сухій» формі захворювання та узгоджувались з діючими класифікаціями ВДМ [15-17]. Ми проаналізували асоціацію генотипів та алелей поліформізмів: rs10490924 гена ARMS2, rs800292 гена CFH, rs2010963 гена VEGFA і rs699947 гена VEGFA з товщиною сітківки в ділянці фовеоли, множинними мілкими друзами, невеликою кількістю друз середнього розміру (діаметр від 63 до 124 мікрон), множинними друзами середнього розміру, великою друзою (діаметр більше 125 мікрон) або географічною атрофією, початковими змінами пігментного епітелію у пацієнтів II групи з «сухою» формою ВДМ (таблиці 3.6-3.9).

Таблиця 3.6

Результати кореляційного аналізу між генотипами та алелями поліморфізму rs10490924 гена ARMS2 і маркерами морфологічної структури макули пацієнтів з «сухою» формою ВДМ (II група), n = 64

Фактори, між яким проводиться кореляційний аналіз		Значення коефіцієнта лінійної регресії Пірсона					
		Товщина сітківки в області фовеоли, μm	Множинні мілкі друзи (діаметр < 63 мікрон)	Поодинокі друзи середнього розміру (діаметр від 63 до 124 мікрон)	Множинні друзи середнього розміру	Велика друза (діаметр більше 125 мікрон) або географічна атрофія	Початкові зміни пігментного епітелію
Геноти-пи	G/G	0,18 *	0,09 *	0,14 *	0,05 *	0,16 *	0,11 *
	G/T	0,32 *	0,21 *	0,23 *	0,18 *	0,25 *	0,16 *
	T/T	0,16 *	0,05 *	0,04 *	0,09 *	0,11 *	0,17 *
Алелі	G	0,27 *	0,19 *	0,15 *	0,18 *	0,26 *	0,23 *
	T	0,20 *	0,13 *	0,21 *	0,11 *	0,18 *	0,19 *

Примітка: * - вказані значення коефіцієнта лінійної кореляції Пірсона (різниця статистично вірогідна, $p < 0,05$)

Таблиця 3.7

**Результати кореляційного аналізу між генотипами та алелями поліморфізму
rs800292 гена CFH і маркерами морфологічної структури макули
пацієнтів з «сухою» формою ВДМ (II група), n = 64**

Фактори, між яким проводиться кореляційний аналіз		Значення коефіцієнта лінійної регресії Пірсона					
		Товщина сітківки в ділянці фовеоли, μm	Множинні мілкі друзи (діаметр < 63 мікрон)	Поодинокі друзи середнього розміру (діаметр від 63 до 124 мікрон)	Множинні друзи середнього розміру	Велика друза (діаметр більше 125 мікрон) або географічна атрофія	Початкові зміни пігментного епітелію
Геноти пи	G/G	0,22 *	- 0,17 *	- 0,12 *	- 0,09 *	- 0,19 *	- 0,21 *
	G/A	0,09 *	0,02 *	0,06 *	0,04 *	0,08 *	0,07 *
	A/A	0,27 *	0,15 *	0,13 *	0,21 *	0,23 *	0,14 *
Алелі	G	0,13 *	- 0,05 *	- 0,08 *	- 0,13 *	- 0,11 *	- 0,09 *
	A	0,25 *	0,18 *	0,24 *	0,21 *	0,17*	0,19*

Примітка: * - вказані значення коефіцієнта лінійної кореляції Пірсона (різниця статистично вірогідна, $p < 0,05$)

Таблиця 3.8

**Результати кореляційного аналізу між генотипами та алелями поліморфізму
rs2010963 гена VEGFA і маркерами морфологічної структури макули
пацієнтів з «сухою» формою ВДМ (II група), n = 64**

Фактори, між яким проводиться кореляційний аналіз		Значення коефіцієнта лінійної регресії Пірсона					
		Товщина сітківки в ділянці фовеоли, μm	Множинні мілкі друзи (діаметр < 63 мікрон)	Поодинокі друзи середнього розміру (діаметр від 63 до 124 мікрон)	Множинні друзи середнього розміру	Велика друза (діаметр більше 125 мікрон) або географічна атрофія	Початкові зміни пігментного епітелію
Геноти пи	G/G	0,44 *	- 0,21 *	- 0,25 *	- 0,39 *	- 0,45 *	- 0,38 *
	G/C	0,23 *	0,16 *	0,12 *	0,19 *	0,15 *	0,08 *
	C/C	0,11 *	0,05 *	0,04 *	0,14 *	0,12	0,06
Алелі	G	0,51 *	- 0,49 *	- 0,37 *	- 0,29 *	- 0,30 *	- 0,42 *
	C	0,48 *	0,31 *	0,42 *	0,52 *	0,47*	0,45*

Примітка: * - вказані значення коефіцієнта лінійної кореляції Пірсона (різниця статистично вірогідна, $p < 0,05$)

Кореляційний аналіз (таблиця 3.6) показав відсутність залежності маркерів морфологічної структури макули від генотипів та алелей поліморфізму rs10490924 гена ARMS2 у пацієнтів II групи. Лише для гетерозиготи (G/T) ($r=0,32$) і предкової алелі G ($r=0,27$) відзначено пряму кореляцію слабого ступеня з товщиною сітківки в області фовеоли. Також слабка пряма залежність зафіксована для предкової алелі G та наявності великої друзи. Коефіцієнт кореляції Пірсона склав $r=0,26$ ($p<0,05$). Дані засвідчили (таблиця 3.6), що множинні мілкі друзи, друзи середнього розміру, географічна атрофія та початкові зміни пігментного епітелію не залежали від досліджуваних генотипів та алелей поліморфізму rs10490924 гена ARMS2.

Результати дослідження демонстрували відсутність впливу генотипів та алелей поліморфізму rs800292 гена CFH на маркери морфологічної структури макули у пацієнтів групи II (табл.3.7).

Зафіксовано пряму слабку залежність величини товщини сітківки в ділянці фовеоли від показника мінорної гомозиготи (A/A) і мінорної алелі A. Сила кореляції за Пірсоном складала - $r=0,27$ та $r=0,25$ відповідно ($p<0,05$) (табл.3.7).

Аналіз результатів (таблиця 3.8) демонстрував, що серед маркерів морфологічної структури макули у пацієнтів II групи з «сухою» формою ВДМ залежність від генотипів і алелей поліморфізму rs2010963 гена VEGFA мали деякі з них. Так, наявність предкової гомозиготи G/G впливала на товщину сітківки в області фовеоли при коефіцієнті кореляції Пірсона $r=0,44$ ($p<0,05$), як і предкової алелі G ($r=0,51$; $p<0,05$) та мінорної алелі C ($r=0,48$; $p<0,05$). Крім того генотип G/G впливав на наявність великої друзи, множинних друз середнього калібру та початкові зміни пігментного епітелію ($r=-0,45$; $r=-0,39$; $r=-0,38$ відповідно, $p<0,05$). Відзначено зворотню кореляцію середнього ступеня між алеллю G поліморфізму rs2010963 гена VEGFA з множинними мілкими друзами ($r=-0,49$) і змінами пігментного епітелію сітківки ($r=-0,42$) ($p<0,05$) та пряму кореляцію середнього ступеня між мінорною алеллю C з множинними друзами середнього розміру ($r=0,52$), географічною атрофією ($r=0,47$) та змінами пігментного епітелію ($r=0,45$) ($p<0,05$).

Необхідно також відзначити (таблиця 3.8), що виявлені в результаті нашого дослідження маркери морфологічної структури макули у пацієнтів групи II не залежали від генотипів G/C та C/C поліморфізму rs2010963 гена VEGFA.

Таблиця 3.9

Результати кореляційного аналізу між генотипами та алелями поліморфізму rs699947 гена VEGFA і маркерами морфологічної структури макули пацієнтів з «сухою» формою ВДМ (II група), n = 64

Фактори, між яким проводиться кореляційний аналіз		Значення коефіцієнта лінійної регресії Пірсона					
		Товщина сітківки в ділянці фовеоли, μm	Множинні мілкі друзи (діаметр < 63 мікрон)	Поодинокі друзи середнього розміру (діаметр від 63 до 124 мікрон)	Множинні друзи середнього розміру	Велика друза (діаметр більше 125 мікрон) або географічна атрофія	Початкові зміни пігментного епітелію
Геноти-пи	C/C	0,19 *	0,11 *	0,09 *	0,15 *	0,17 *	0,07 *
	C/A	0,24 *	- 0,08 *	- 0,10 *	- 0,12 *	- 0,14 *	- 0,15 *
	A/A	0,11 *	0,08 *	0,07 *	0,04 *	0,06 *	0,03 *
Алелі	C	0,19 *	0,09 *	0,14 *	0,11 *	0,15 *	0,09 *
	A	0,15 *	- 0,05 *	- 0,06 *	- 0,09 *	- 0,03 *	- 0,11 *

Примітка: * - вказані значення коефіцієнта лінійної кореляції Пірсона (різниця статистично вірогідна, $p < 0,05$)

Як видно з таблиці 3.9, серед маркерів морфологічної структури макули у пацієнтів II групи не визначалася залежність від генотипів і алелей поліморфізму rs699947 гена VEGFA. Лише фіксувався прямий слабкий зв'язок гетерозиготи C/A з товщиною сітківки в ділянці фовеоли при коефіцієнті кореляції Пірсона $r=0,24$ ($p<0,05$).

Таким чином, аналіз результатів виявив, що серед усіх проаналізованих маркерів морфологічної структури макули у пацієнтів II групи з «сухою» формою ВДМ нам вдалося встановити вірогідний взаємозв'язок середнього ступеня між наявністю генотипів та алелей поліформізмів тільки для: гомозиготи (G/G) і алелей G та C поліморфізму rs2010963 гена VEGFA; вірогідний взаємозв'язок слабого ступеня для: гетерозиготи (G/T) і предкової алелі G поліморфізму rs10490924 гена

ARMS2; мінорної гомозиготи (A/A) і мінорної алелі A поліморфізму rs800292 гена CFH; та гетерозиготи C/A поліморфізму rs699947 гена VEGFA.

Резюме до розділу 3

Встановлено, що з розвитком «сухої» форми ВДМ у хворих в Україні мали асоціацію тільки алелі поліморфізму rs2010963 гена VEGFA. Одночасно при стратифікації за наявністю «сухої» форми ВДМ асоціацію з захворюванням втрачали поліморфні генотипи та алелі rs10490924 гена ARMS2, rs800292 гена CFH та rs699947 гена VEGFA.

При «сухій» формі ВДМ поліморфізми rs10490924 гена ARMS2 і rs800292 гена CFH мали патогенетичне значення та сприяли гіперхолестеринемії, атерогенній дисліпідемії та згущенню крові. Меншою мірою це було характерно для поліморфізмів гена VEGFA.

Встановлено, що зі зміною морфологічної структури макули, яка характерна для «сухої» форми вікової дегенерації макули, вірогідний взаємозв'язок середнього ступеня мали генотип G/G ($r=0,44$) і алелі G ($r=0,51$) та C ($r=0,48$) поліморфізму rs2010963 гена VEGFA з товщиною сітківки в ділянці фовеоли ($p<0,05$). Генотип G/G поліморфізму rs2010963 гена VEGFA впливав на наявність великої друзи, множинних друз середнього калібру та початкові зміни пігментного епітелію ($r=-0,45$; $r=-0,39$; $r=-0,38$ відповідно, $p<0,05$). Наявність алелі G поліморфізму rs2010963 гена VEGFA впливало на розвиток множинних мілких друз ($r=-0,49$) і зміни пігментного епітелію сітківки ($r=-0,42$) ($p<0,05$). Присутність алелі C поліморфізму rs2010963 гена VEGFA впливало на розвиток множинних друз середнього розміру ($r=0,52$), географічної атрофії ($r=0,47$) та зміни пігментного епітелію ($r=0,45$) ($p<0,05$). Крім того, встановлено вірогідний слабкий взаємозв'язок з товщиною сітківки в ділянці фовеоли для генотипу G/T ($r=0,32$) і алелі G ($r=0,27$) поліморфізму rs10490924 гена ARMS2 ($p<0,05$); генотипу A/A ($r=0,27$) і алелі A ($r=0,25$) поліморфізму rs800292 гена CFH та генотипу C/A ($r=0,24$) поліморфізму rs699947 гена VEGFA ($p<0,05$).

Перелік друкованих праць, опублікованих за матеріалами, викладеними в цьому розділі:

1. Фролова С. С. Зв'язок поліморфізмів генів ARMS2 (rs10490924), CFH (rs800292), VEGFA (rs2010963 та rs699947) з наявністю «сухої» форми ВМД у хворих української популяції / С. С. Фролова, С. О. Риков, І. В. Шаргородська // Збірник наукових праць співробітників НМАПО імені П.Л. Шупика – 2017. – Київ. – Випуск 27. – С.307-320.
2. Frolova S. The influence of ARMS2/LOC387715 A69S gene polymorphism on the development of age-related macular degeneration / S. Frolova, S. Rykov, S. Ziablitsev, I. Shargorodska // Congress of the European Society of Ophthalmology (SOE), 10–13 June, 2017, Barcelona, Spain: abstract book EP-RET-577. – Barcelona, 2017. – P.166.
3. Фролова С. С. Дослідження значимості асоціації поліморфізму гена CFH (rs800292) з розвитком вікової макулярної дегенерації / С. С. Фролова, С. О. Риков, І.В. Шаргородська, С.В. Зябліцев // Підсумкова науково-практична конференція, присвячена 60-річчю ТДМУ «Здобутки клінічної та експериментальної медицини», 14 червня 2017 р., Тернопіль: матеріали. – Тернопіль, 2017. – С.209-210.
4. Фролова С. С. Нові можливості активного медичного менеджменту хворих на ВМД на поліклінічному етапі / С. С. Фролова, І. В. Шаргородська, С. О. Риков // Архів офтальмології України. – 2017. – Київ. – Т.5, №2 (8). – С.44-53.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ У РОЗДІЛІ 3

1. 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.
2. Allikmets R. Mutation of the Stargardt disease gene (ABCR) in age-related macular degeneration / R. Allikmets, N. F. Shroyer, Singh N. [et al.] // Science. – 1997. – Vol.277(5). – P.1805–1807.

3. Souied E. H. ABCR gene analysis in familial exudative age-related macular degeneration / E. H. Souied, D. Ducroq, J. M. Rozet [et al.] // *Invest Ophthalmol Vis Sci.* – 2000. – Vol.41(1). – P.244–247.
4. Риков С. О. Зв'язок поліморфізмів генів ARMS2 (rs10490924), CFH (rs800292), VEGFA (rs2010963 та rs699947) з наявністю «сухої» форми ВМД у хворих української популяції / С. О. Риков, І. В. Шаргородська С. С. Фролова // *Збірник наукових праць співробітників НМАПО імені П. Л. Шупика* – 2017. – Київ. – Випуск 27. – С.307-320.
5. Cruz-González F. The presence of CFH, HTRA1, ARMS2, VEGF-A and VEGF-R and the appearance of age-related macular degeneration sub-types / F. Cruz-González, L. Cabrillo Estévez, C. Cañete Campos [et al.] // *Arch. Soc. Esp. Oftalmol.* – 2016. – Vol.91(4). – P.177-183.
6. Gass D. J. Drusen and disciform macular detachment and degeneration / D. J. Gass // *Trans Am Ophthalmol Soc.* – 1972. – Vol.70. – P.409-436.
7. Haines J. L. Complement factor H variant increases the risk of age-related macular degeneration / J. L. Haines, M. A. Hauser, S. Schmidt [et al.] // *Science.* – 2005. – Vol.308. – P.419-421.
8. Фролова С. С. Прогнозування розвитку ВМД в залежності від клінічних та генетичних показників, визначених при первинному скринінгу / С. С. Фролова // *Вісник проблем біології і медицини.* – 2017. – Полтава. – Випуск 3. – Т.1(137). – С.243-251.
9. Ермакова Н. А. Основные этиологические факторы и патогенетические механизмы развития возрастной макулярной дегенерации / Н. А. Ермакова, О. Ц. Рабданова // *Клиническая офтальмология.* – 2007. – Т.8. – №3. – С.125-128.
10. Egorov E. A. Modern directions in the treatment of involutinal central chorioretinal dystrophy / E. A. Egorov, D. V. Katz // *Topical issues of therapy.* – 2006. – Vol.5. – P.2-6.
11. Nashenkova O. V. The use of biologically active substances in the treatment of age-related macular degeneration / O. V. Nashchenkova // *Klin. Ophthalmology.* – 2004. –

Vol.5 (2). – P.82-84.

12. Yoneyama S. Genetic factors associated with choroidal vascular hyperpermeability and subfoveal choroidal thickness in polypoidal choroidal vasculopathy / S. Yoneyama, Y. Sakurada, W. Kikushima [et al.] // *Retina*. – 2016. – Vol.36(8). – P.1535-1541.
13. Kumaramanickavel G. Age-Related Macular Degeneration: Genetics and Biology / G. Kumaramanickavel // *Asia Pac J Ophthalmol (Phila)*. – 2016. – Vol.5(4). – P.229-235.
14. Nowak J. Z. Age-related macular degeneration (AMD): pathogenesis and therapy / J. Z. Nowak // *Pharmacol Rep*. – 2006. – Vol.58. – P.353-363.
15. Пасечникова Н. В. Новая клиническая классификация возрастной макулярной дегенерации / Н. В. Пасечникова // *Новости медицины и фармации*. – 2012. – №4(402) – 90 с.
16. Иванишко Ю. А. Возрастные поражения макулы: «естественное» течение, попытка классификации, возможности превентивного лечения / Ю. А. Иванишко, М. А. Лотошников, Е. А. Зарезина // *ИнтерЮНА*. – 2016. – С.107-117.
17. Акопян В. С. Классификация возрастной макулярной дегенерации / В. С. Акопян // «Макула – 2004»: тез. докл., стеногр. дискус. – Ростов-на-Дону: Фактор времени. – 2004. – С.90-93.

РОЗДІЛ 4

ДІАГНОСТИЧНА ЗНАЧИМІСТЬ ДОСЛІДЖУВАНИХ ЧИННИКІВ У РОЗВИТКУ «ВОЛОГОЇ» ФОРМИ ВІКОВОЇ ДЕГЕНЕРАЦІЇ МАКУЛИ

Більшість дослідників відзначає прямий зв'язок ВДМ з процесами старіння організму. Передбачається, що це пов'язано з акумуляцією продуктів обміну речовин в клітинах пігментного епітелію сітківки і зниженням його фагоцитарної активності внаслідок порушення хоріоретинального кровообігу, облітерації капілярів сітківки і хоріоїдеї, зниження швидкості ретинального кровотока, дегенерацією і потовщенням еластичної тканини мембрани Бруха [1, 2]. Однак доведено, що ряд змін в макулярній ділянці сітківки стосується процесів нормального старіння, а саме: скупчення продуктів обміну в клітинах пігментного епітелію, зміни колагенових сполучнотканинних волокон та потовщення мембрани Бруха, вікові зміни судин хоріоїдеї [3, 4]. Тільки у 30% осіб старіше 60 років розвивається ВДМ [5]. Лишаються нез'ясованими процеси фізіологічного старіння, що сприяють розвитку ВДМ, а також питання про те, чи є ВДМ самостійною чи супутньою процесам старіння патологією. Рівень макулярної пігментації також відіграє велику роль в розвитку ВДМ. Макулярний пігмент є єдиним антиоксидантом сітківки, що працює як активно (нейтралізує дію вільних радикалів), так і пасивно (обмежує блакитний колір, що викликає фотооксидантне ураження, активує фільтр для блакитного кольору на дорецепторному рівні) [6].

4.1. Визначення ролі генетичного поліморфізму у розвитку «волоγοї» форми ВДМ

Останнім часом важливу роль в патогенезі ВДМ відводять окислювальному стресу, тобто ураженню тканин ока внаслідок дисбалансу в системі утворення вільних радикалів та антиоксидантного захисту. Токсична дія вільних радикалів реалізується через ураження ліпідів мембрани, поверхневих протеїнів та трансмембранних глікопротеїдів. Чутливість сітківки до продуктів окислювального стресу та вільних радикалів визначається трьома основними факторами: по-перше, сітківка постійно піддається впливу світла та кисню, що створює ідеальні умови для

синтезу вільних радикалів; по-друге, сітківка містить у великій кількості поліненасичені жирні кислоти, які найбільш чутливі до окислення; по-третє, сітківка як похідна нервової тканини особливо чутлива до гіпоксії [7]. Дослідження останніх років демонструють важливість локальних змін гомеостазу з розвитком метаболічного ацидозу, який обумовлений активацією вільнорадикальних процесів та перикисного окислювання ліпідів [1, 2, 8].

Зміни локального імунітету, які виявляються у хворих ВДМ, свідчать про формування та персистенцію вогнища хронічного запалення в задньому полюсі очного яблука [9, 10]. Наявність дисбалансу системних імунорегуляторних механізмів ускладнює перебіг патологічного процесу. Часто в складі друз виявляють біологічно активні фрагменти компонентів системи комплементу (C3 і C5a) [11]. Дослідниками виявлено наявність макрофагів поблизу ділянок витончення або розриву мембрани Бруха в очах з СНМ [12]. Подібні дослідження створюють підстави для гіпотези про те, що ексудативна ВДМ є віковим запальним захворюванням. Ангіогенез може бути пов'язаний із запаленням, що підтверджується розвитком СНМ при запальних захворюваннях очей [13]. Активовані макрофаги секретують протеолітичні ферменти, колагенази і еластази, що може сприяти розплавленню пошкодженої мембрани Бруха і міграції ендотеліоцитів [14].

Деякі роботи [1, 10, 15-17] є свідченням керівної ролі у розвитку патологічних змін в макулярній ділянці біологічно активних речовин (факторів росту), які стимулюють міграцію клітин, їх адгезію і проліферацію, продукцію інших активаторів росту, а також неоваскулогенез.

Новоутворення судин в субретинальних відділах при прогресуванні патологічного процесу, відповідно до результатів дослідження, відбувається за рахунок мітозу ендотеліоцитів судин з формуванням «почок зростання» [10, 17]. Основу формування субретинальних фіброзних мембран складають ті ж репаративні процеси, що спостерігаються при загоєнні рани: клітинний хемотаксис і мітоз, синтез екстрацелюлярного матриксу, процеси ремоделювання в новоствореній рубцевій тканині [1].

Як визначено деякими вченими [18], значну роль у розвитку ВДМ мають загальні і місцеві судинні захворювання, які призводять до погіршення трофічних процесів в оці. Таким чином, була сформульована гемодинамічна модель розвитку ВДМ [18]: ВДМ є результатом збільшення опору току крові в судинній оболонці, що викликано залежним від віку та харчування зменшенням біомеханічних властивостей склери. Ця модель передбачає, що індукована форма вікової дегенерації макули може залежати від відносної резистентності очного та мозкового кровообігів.

На сьогодні також значну роль в патогенезі ВДМ відводять атеросклерозу. Встановлено, що у багатьох хворих на ВДМ виявляються біохімічні порушення, які властиві цьому захворюванню: гіперхолестеринемія, підвищений рівень β -ліпопротеїнів, зрушений лецитин-холестериновий індекс [19-21]. Визначено, що ураження фіброзно-еластичних тканин ока і мембрани Бруха при ВДМ ідентично характеру ураження м'язово-еластичних артерій при атеросклерозі. Зокрема, спостерігається інфільтрація ліпідами стінок судин, мембрани Бруха з подальшим утворенням друз, кальцинозом і формуванням субретинальної атеросклеротичної бляшки. Однак в експериментальних і клінічних дослідженнях ряду авторів показано відсутність прямої залежності між виразністю загального атеросклерозу і інтенсивністю дистрофічних змін в сітківці [1]. Так, наприклад, при важких атеросклеротичних процесах у судинній системі організму не виявлено відповідної патології очного дна, в той же час при виражених дистрофічних змінах макулярної ділянки були відсутні явні ознаки атеросклерозу. У багатьох роботах [1-2] показано негативний вплив як гіпертонічної, так і гіпотонічної хвороб на формування дистрофічних змін в макулярній ділянці, які, провокуючи судинні стази, значно порушують гемодинаміку на рівні мікроциркуляторного русла сітківки і хоріоїдеї.

Більшістю робіт останніх років доведено провідну роль в патогенезі ВДМ первинних генетичних дефектів. Роботи в цьому напрямку ще тривають, але особливості розвитку захворювання ускладнюють ці дослідження. Як правило, ВДМ виникає у людей похилого віку, таким чином, можливо досліджувати лише одне покоління. Батьки на цей час, як правило, вже померли, а у дітей ще відсутній дебют

цього захворювання. Фенотипічна неоднорідність ВДМ також впливає на результати дослідження і викликає труднощі. Високовирогідна асоціація з розвитком і прогресуванням захворювання встановлена лише у кількох генів, хоча доведено, що за розвиток ВДМ можуть відповідати близько 50 з них. Для виявлення точної ділянки генома, що визначає важливу роль в патогенезі ВДМ, використовувалися різні підходи. Первісна стратегія полягала у вивченні генів, які брали участь у розвитку спадкових макулярних дистрофій, що мали клінічні прояви, подібні до ВДМ [22-24]. Отримані результати щодо наявності асоціацій поліморфізмів цих генів з розвитком ВДМ суперечливі. Крім того, відсутня систематизація в наукових дослідженнях, яка достеменно доводила б залежність розвитку різних форм ВДМ та прогресування захворювання від тих чи інших генотипів. Тактика і динаміка робіт по вивченню патогенезу ВДМ на сучасному етапі характеризуються неоднорідністю і відсутністю конструктивного підходу до вивчення явищ, що лежать в основі розвитку і прогресування патологічних змін в задньому полюсі очного яблука. З'ясування тонких механізмів різних форм макулярної дегенерації визначило сучасний напрямок нашого дисертаційного дослідження. Відкриття і вивчення нових ланок патогенезу як «сухої», так і «вологої» форми макулярної дегенерації дозволять розробити оптимальні схеми лікування даної патології та знизити відсоток слабкості та сліпоти при ураженнях сітківки [25].

З метою з'ясування можливого впливу генотипу за дослідженими поліморфізмами rs10490924 гена ARMS2, rs800292 гена CFH, rs2010963 гена VEGFA та rs699947 гена VEGFA на виникнення «вологої» форми ВДМ нами було проведено порівняння розподілу генотипів та алелей у хворих основної групи, які мали підтверджену специфічними методами дослідження «вологоу» форму ВДМ (ІІІ група) з даними групи порівняння (І група), без ВДМ. Крім того, ми вважали за доцільне перевірити зв'язки всіх вивчених поліморфізмів з формами ВДМ за умов порівняння даних у хворих з «сухою» та «вологою» формами між собою.

4.1.1. Зв'язок поліморфізму rs10490924 гена ARMS2 з розвитком «вологої» форми ВДМ

Як свідчать результати нашого дослідження (рис.4.1), розподіл генотипів та алелей поліморфізму rs10490924 гена ARMS2 при порівнянні I та III груп пацієнтів відбувався наступним чином.

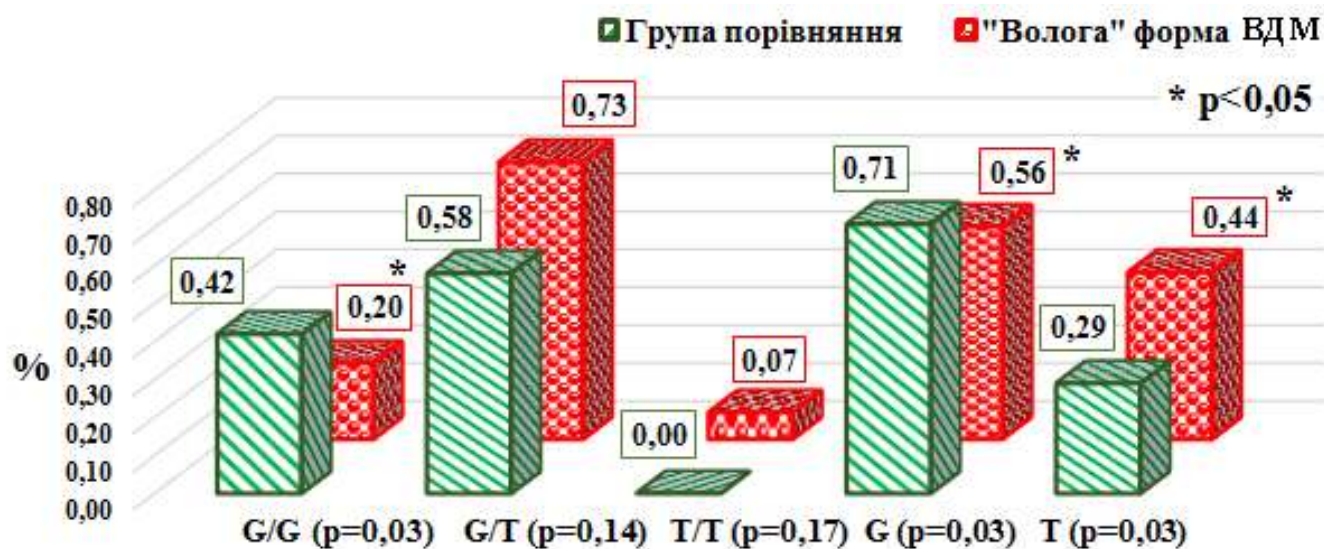


Рис. 4.1. Частоти розподілу генотипів та алелей поліморфізму rs10490924 гена ARMS2 в групі порівняння (I група) та у хворих з «вологою» формою ВДМ (III група)

В основній групі пацієнтів з «вологою» формою ВДМ генотип G/G зустрічався у 2,1 рази рідше, ніж у групі порівняння (20,0% проти 42,1% відповідно) (рис.4.1). 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%) пацієнтів основної групи, які мали «вологу» форму ВДМ. Таким чином, при розвитку «вологої» форми ВДМ рівновага розподілу генотипів зсувалася у бік гетерозиготи та мінорної гомозиготи T/T. Про це свідчила більша частота мутантної алелі T (рис.4.1), яка збільшувалася у 1,5 рази і була статистично значуща ($p_{\text{Fet}}=0,03$). У той же час частота предкової алелі G зменшувалася у 1,3 рази ($p_{\text{Fet}}=0,03$). Результати аналізу показали, що відмінності між групами за генотипами G/G і за алелями були статистично значущі (за двостороннім точним методом Фішера $P_{\text{Fet}}=0,03$) у обох випадках (рис.4.1) [26].

Упродовж дослідження ми аналізували ступінь асоціації генотипів поліморфізму rs10490924 гена ARMS2 із розвитком «вологої» форми ВДМ між пацієнтами основної групи (III група) і групи порівняння (I група). Для цього були побудовані таблиці спряженості при вірогідному інтервалі 95% (табл.4.1).

Таблиця 4.1

**Результати аналізу ступеню асоціації генотипів та алелей поліморфізму
rs10490924 гена ARMS2 між пацієнтами III групи та групи порівняння
з розвитком «вологої» форми ВДМ, n= 118**

Фактори, між якими проводили аналіз		Генотипи			Алелі	
		G/G	G/T	T/T	G	T
III група, n=80		16	58	6	90	70
Група порівняння, n=38		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% BI	0,15 – 0,80	0,85 – 4,31	0,37 – 122,42	0,29 – 0,94	1,06 – 3,43

Результати дослідження показали (табл.4.1), що гетерозиготний генотип G/T поліморфізму rs10490924 гена ARMS2 мав вірогідний зв'язок із розвитком «вологої» форми ВДМ ($p_{(\chi^2)}=0,02$) та у 1,9 рази збільшував шанси її розвитку (OR=1,92; 95% BI 0,85-4,31). Мінорний гомозиготний генотип T/T також збільшував шанси розвитку ВДМ у 6,7 рази (OR=6,72; 95% BI 0,37-122,42). Разом з тим дика гомозига G/G зменшувала шанси розвитку «вологої» форми ВДМ у 2,9 рази (OR=0,34; 95% BI 0,15-0,80) [26].

Як свідчив аналіз таблиці спряженості (2×2), відзначався статистично значущий зв'язок алельного поліморфізму з розвитком захворювання ($p_{(\chi^2)}=0,03$). При цьому мінорна алель T збільшувала (OR=1,91; 95% BI 1,06-3,43), а предкова алель G зменшувала ризик розвитку ВДМ (OR=0,52; 95% BI 0,29-0,94) [26].

Таким чином, отримані результати свідчили про те, що дика гомозигота G/G та алель G мали протективні властивості щодо розвитку «вологої» форми ВДМ, тоді як генотипи з наявністю мінорної гомозиготи T та вона сама були факторами ризику цієї хвороби.

Отримані в нашому дослідженні результати узгоджувалися із результатами відомого світового дослідження [27], що було проведене у 7 країнах Європи та включало 4750 пацієнтів у віці старше 65 років. Вченими було доведено, що наявність мінорної гомозиготи T/T більш ніж у 10 разів підвищує ризик розвитку пізньої ВДМ ($P < 3 \times 10^{-20}$).

У нашому дослідженні ми також порівнювали дані розподілу генотипів та алелей поліморфізму rs10490924 гена ARMS2 між групами із «сухою» (II група) та «вологою» (III група) формами ВДМ. Результати розподілу наведені на рисунку 4.2.

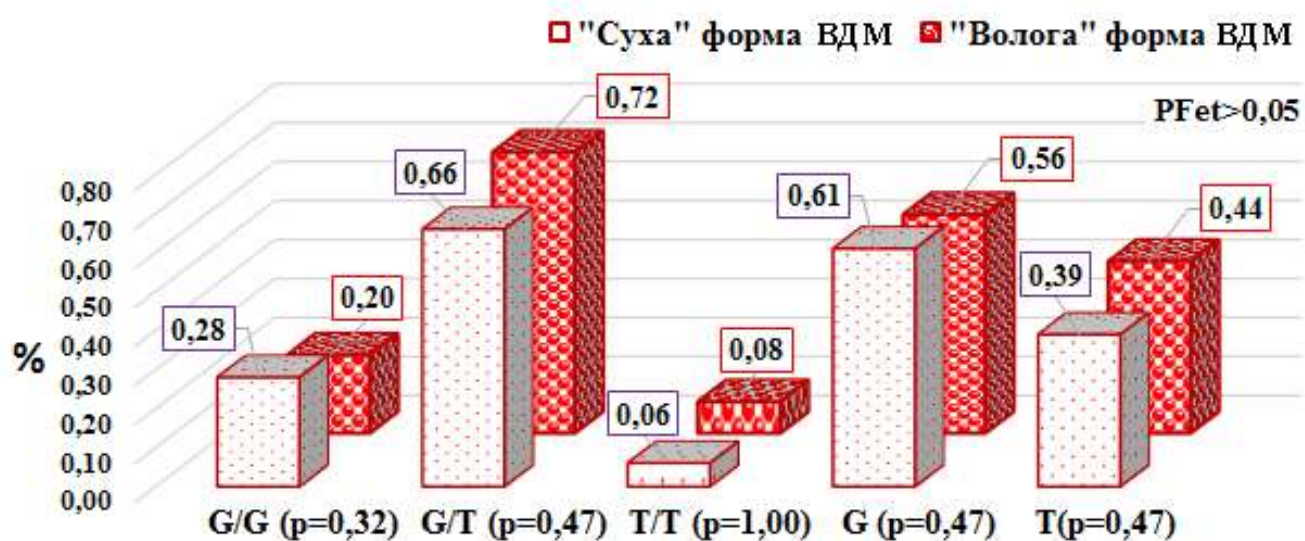


Рис. 4.2. Частоти розподілу генотипів та алелей поліморфізму rs10490924 гена ARMS2 в групі з «сухою» (II група) та з «вологою» формою ВДМ (III група)

Відмінності між групами не мали статистичної значущості в жодному порівнянні (за двостороннім точним методом Фішера $P_{Fet} > 0,05$) (рис.4.2).

Таблиця 4.2

**Результати аналізу ступеня асоціації генотипів та алелей поліморфізму
rs10490924 гена ARMS2 між пацієнтами II та III груп із формою ВДМ, n= 144**

Фактори, між якими проводили аналіз		III група, n=80	II група, n=64	χ^2	p	OR	
						знач.	95% BI
Генотипи	G/G	16	18	1,32	0,52	0,64	0,30 – 1,38
	G/T	58	42			1,38	0,68 – 2,81
	T/T	6	4			1,22	0,33 – 4,51
Алелі	G	90	78	0,64	0,42	0,82	0,51 – 1,32
	T	70	50			1,21	0,76 – 1,95

Виявляється зниження частоти предкових генотипу та алелі G при збільшенні мінорних генотипу та алелі T, але у жодному випадку розбіжності не мали статистичної значущості (табл. 4.2).

4.1.2. Зв'язок поліморфізму rs800292 гена CFH з розвитком «вологої» форми ВДМ

У ході нашого дослідження було проаналізовано розподіл генотипів та алелей поліморфізму rs800292 гена CFH з розвитком «вологої» форми ВДМ. Результати аналізу представлено на рисунку 4.3.

Визначено (рис.4.3) статистично значущі відмінності між основною групою і групою порівняння як за генотипами G/G, A/A, так і за алелями G та A (за двостороннім точним методом Фішера $P_{Fet}=0,01$; $P_{Fet}=0,01$; $P_{Fet}<0,001$ відповідно). За генотипом G/A результат був недостовірний ($P_{Fet}>0,05$) [26].

Відзначено 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 ($P_{\text{Fet}}=0,43$) і мінорної гомозиготи A/A у 5,0 рази ($P_{\text{Fet}}=0,01$). Дані розподілу по групах алелей також були статистично значущі: частота предкової алелі G була у 1,5 рази меншою ($P_{\text{Fet}}<0,001$), а частота мінорної алелі A – у 2,0 рази більшою ($P_{\text{Fet}}<0,001$). Такі результати свідчили про наявність зв'язку поліморфізму гену CFH (rs800292) з виникненням «волової» форми ВДМ [26].

Таким чином, як і для гена ARMS2, розподіл генотипів гена CFH (rs800292) у хворих в Україні, які мали «вологу» форму ВДМ (табл. 4.3), суттєво відрізнявся від пацієнтів із групи порівняння ($p_{\chi^2}=0,003$).

Аналіз результатів побудови таблиці спряженості (табл.4.3) свідчив про збільшення у 1,5 рази шансів розвитку «волової» форми ВДМ 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.4.3) також мали вірогідні відмінності по відношенню до розвитку «волової» форми ВДМ ($p_{\chi^2}<0,001$) в порівнянні з групою пацієнтів без ВДМ. Так, предкова алель G знижувала шанси розвитку «волової» форми ВДМ 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 1.62-5.52) [26].

Під час дослідження нами було проведено порівняння результатів розподілу генотипів та алелей поліморфізму rs800292 гена CFH між групами із «сухою» (II група) та «воловою» (III група) формами ВДМ. Результати аналізу наведені на рисунку 4.4. і в таблиці 4.4. При порівнянні отриманих даних було з'ясовано, що зниження частоти предкової гомозиготи G/G у 1,7 рази при «вологій» формі було статистично значущим (28,7% проти 50,0% при «сухій» формі; $P_{\text{Fet}}=0,01$). Теж саме стосувалося й мінорної гомозиготи A/A, різниця розподілу якої також була значимою (25,0% проти 12,5% при «сухій» формі; $P_{\text{Fet}}=0,047$). Отже, при «вологій» формі ВДМ достеменно рідше зустрічалася предкова гомозигота G/G (у 1,7 рази) та частіше – мінорна гомозигота A/A (у 2,0 рази).

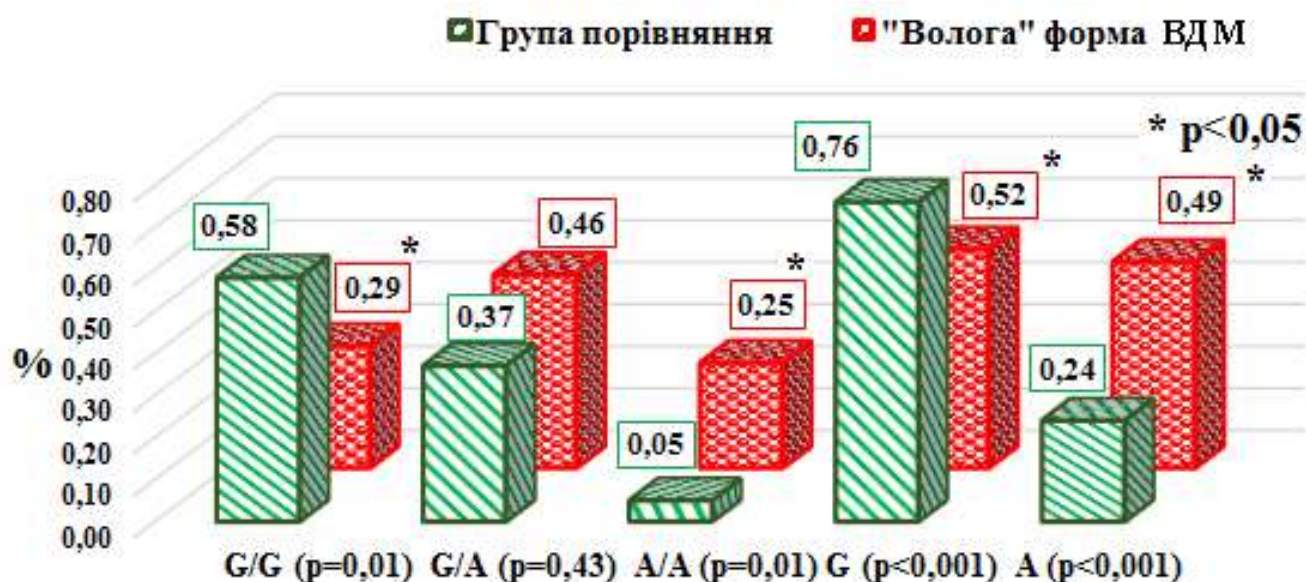


Рис. 4.3. Частоти розподілу генотипів та алелів поліморфізму rs800292 гена CFH в групі порівняння (І група) та у хворих з «вологою» формою ВДМ (ІІІ група)

Таблиця 4.3

Результати аналізу ступеня асоціації генотипів поліморфізму rs800292 гена CFH між пацієнтами основної групи та групи порівняння із розвитком «вологої» форми ВДМ, n= 118

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

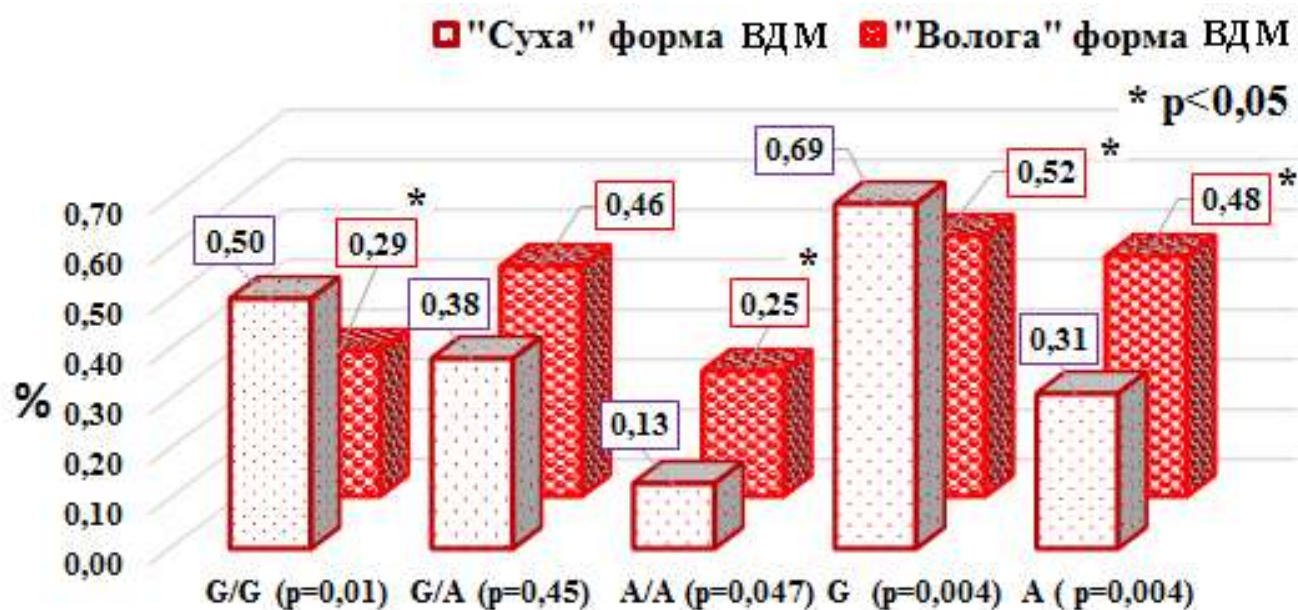


Рис. 4.4. Частоти розподілу генотипів та алелей поліморфізму rs800292 гена CFH в групі з «сухою» (II група) та з «вологою» формою ВДМ (III група)

Таблиця 4.4

Результати аналізу ступеня асоціації генотипів та алелей поліморфізму rs800292 гена CFH між пацієнтами II та III груп із формою ВДМ, n= 144

Фактори, між якими проводили аналіз		III група, n=80	II група, n=64	χ^2	p	OR	
						знач.	95% BI
Генотипи	G/G	23	32	7,70	0,02	0,40	0,20 – 0,80
	G/A	37	24			1,43	0,73 – 2,80
	A/A	20	8			2,33	0,95 – 5,72
Алелі	G	83	88	8,40	0,004	0,49	0,30 – 0,80
	A	77	40			2,04	1,26 – 3,32

Відмінності між групами за генотипом G/G і A/A та обома алелями статистично значущі (за двостороннім точним методом Фішера $P_{\text{Fet}}=0,01$; $P_{\text{Fet}}=0,047$; $P_{\text{Fet}}=0,004$ відповідно), в інших випадках – незначущі ($P_{\text{Fet}}>0,05$).

Як наведено у таблиці 4.4, ця тенденція відобразилася у значущій різниці розподілу генотипів за критерієм χ^2 ($p_{\chi^2}=0,02$). Гетерозигота G/A підвищувала шанси розвитку «вологої» у 1,4 рази (OR=1,43; 95% BI 0,73-2,80); мінорна гомозигота – у 2,3 рази (OR=2,33; 95% BI 0,95-5,72). Предкова гомозигота G/G такі шанси знижувала у 2,5 рази (OR=0,40; 95% BI 0,20-0,80).

Розподіл алелей також відрізнявся – предкова алель G зустрічалася частіше при «сухій» формі (68,7% проти 51,8% при «вологій»; $P_{\text{Fet}}=0,004$), тоді як мінорна алель A переважала при «вологій» формі (62,5% проти 48,1% при «сухій» формі; $P_{\text{Fet}}=0,004$) (рис.4.4). Аналіз таблиці спряженості показав (табл. 4.4) наявність статистичної значущості цього розподілу ($p_{\chi^2}=0,004$). Мінорна алель A підвищувала у два рази шанси розвитку «вологої» форми ВДМ у порівнянні з «сухою» формою (OR=2,04; 95% BI 1,26-3,32), тоді як предкова алель G такі шанси у два рази знижувала (OR=0,49; 95% BI 0,30-0,80).

Отримані результати свідчили про те, що поліморфізм rs800292 гена CFH підвищував шанси розвитку «вологої» форми ВДМ у порівнянні з «сухою» формою – носії мінорної алелі мали удвічі вищий шанс розвитку саме «вологої» форми.

Подібні результати були отримані іншими науковцями [28-29], які вказували на факт посилення зв'язку поліморфізму гена CFH при «вологій» формі ВДМ у порівнянні із «сухою». Найбільший ризик виникнення ВДМ [27] був притаманний поєднанню гомозигот генів ARMS2 та CFH – OR=62,3 (95% BI 16-242), одночасно рівень P нарастає від значення 0,03 (при ранній стадії ВДМ) до 1×10^{-26} (при пізній стадії ВДМ) [26]. Цікаві результати були отримані в іншому дослідженні [30], яке, аналізуючи Європейську генетичну базу (EGD 2006-2010), показало, що для носіїв ризикових гомозигот гена CFH «неоваскулярна» форма ВДМ 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 ВДМ на 12,2 років раніше (95% BI 6,2-18,3; $P<0,001$), ніж у пацієнтів без наявності алелей

такого ризику. Результати досліджень інших вчених [31] свідчили про сумісний ефект поліморфізму гена ARMS2 (rs10490924) і гена CFH (rs800292), які обумовлювали високий ризик розвитку «неоваскулярної» ВДМ та ретинальної ангиоматозної проліферації. Схожі результати були отримані за даними великого мета-аналізу ($P < 0,001$) і для китайської популяції [32]. Максимальний ризик у китайській популяції був виявлений [33] у хворих з «неоваскулярною» ВДМ при поєднанні генотипів з мінорними алелями гена CFH – $OR = 9,76$ (95% BI 4,65-20,51).

4.1.3. Зв'язок поліморфізму rs2010963 гена VEGFA з розвитком «вологої» форми ВДМ

Для виявлення зв'язку поліморфізму rs800292 гена CFH з розвитком «вологої» форми ВДМ нами було проаналізовано розподіл генотипів та алелей в групі порівняння та у хворих на «вологу» форму ВДМ основної групи.

Аналіз показав (рис. 4.5), що 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 незначущі ($P_{Fet} > 0,05$) [26].

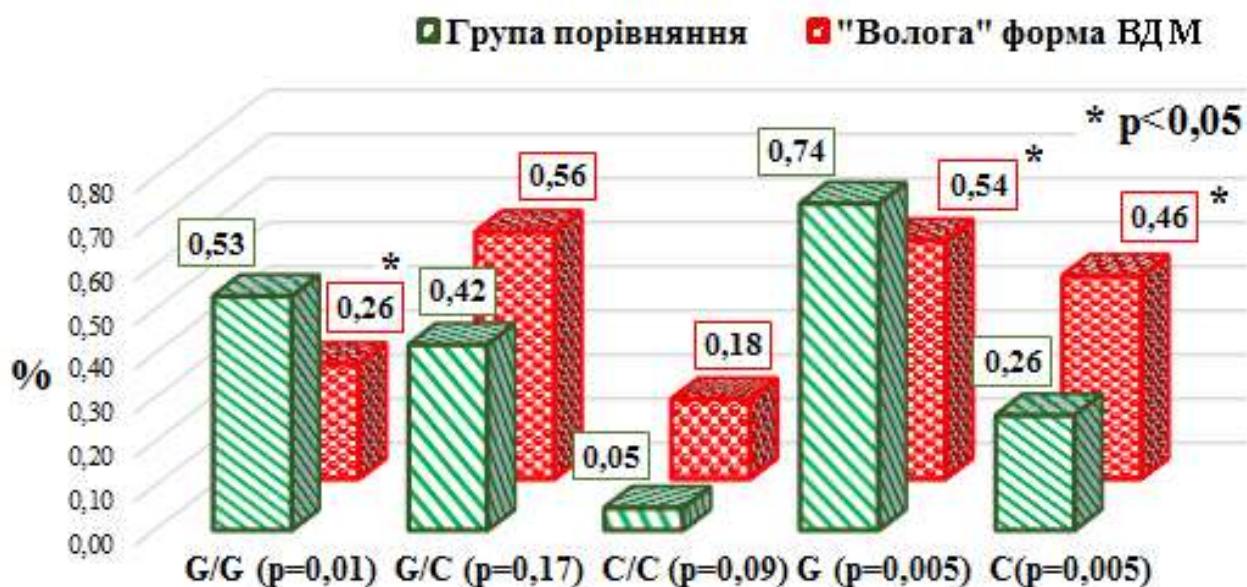


Рис. 4.5. Частоти розподілу генотипів та алелей поліморфізму rs2010963 гена VEGFA в групі порівняння (І група) та у хворих з «вологою» формою ВДМ (ІІІ група)

Як видно з рис.4.5, у пацієнтів з «волоогою» формою ВДМ розподіл предкової гомозиготи G/G статистично значуще розрізнявся з групою порівняння. Генотип G/G у хворих з «волоогою» формою ВДМ зустрічався у 2,0 рази рідше, ніж в групі порівняння (52,6% проти 26,2% відповідно; $p_{\text{Fet}}=0,01$). Таким чином, при «вологій» формі ВДМ частота предкового генотипу G/G rs2010963 суттєво зменшувалася. Водночас частоти гетерозиготи G/C та мінорної гомозиготи C/C збільшувалися у 1,3 рази і у 3,6 разів відповідно (рис.4.5), але їх розподіл не мав статистичної значущості відмінностей ($p_{\text{Fet}}=0,17$ та $p_{\text{Fet}}=0,09$). Аналіз розбіжності у розподілі алелей в групі хворих з «волоогою» формою ВДМ та в групі порівняння демонстрував статистичну значущість результату: предкова алель зустрічалася у 1,4 раза рідше (54,5% проти 73,7% відповідно; $p_{\text{Fet}}=0,005$), разом з тим мінорна алель – у 1,7 рази частіше (45,6% проти 26,3% відповідно; $p_{\text{Fet}}=0,005$) (рис.4.5) [26].

Аналізуючи таблиці спряженості (табл.4.5), можна зробити висновок, що між основною групою та групою порівняння поліморфізм rs2010963 гена VEGFA мав зв'язок із розвитком «вологої» форми ВДМ ($p_{(\chi^2)}=0,01$). Гетерозигота G/C збільшувала шанси розвитку ВДМ у 1,8 разів (OR=1,77; 95% ВІ 0,81-3,86), тоді як мінорна гомозигота такі шанси збільшувала у 3,8 рази (OR=3,82; 95% ВІ 0,82-17,74). Разом з тим предкова гомозигота G/G зменшувала шанси розвитку ВДМ у 3,1 рази (OR=0,32; 95% ВІ 0,14-0,72). Таким чином, предковий генотип можна вважати протекторним щодо розвитку «вологої» форми ВДМ.

Крім того, аналіз показав наявність статистичної значущості зв'язку алельного поліморфізму з розвитком захворювання ($p_{(\chi^2)}=0,005$) (табл.4.5). Мутантна алель С поліморфізму rs2010963 гена VEGFA мала зв'язок із розвитком ВДМ та у 2,35 рази збільшувала шанси розвитку ВДМ (OR=2,35; 95% ВІ 1,29-4,27). Водночас дика алель G зменшувала такі шанси у 2,3 рази (OR=0,43; 95% ВІ 0,23-0,77) [26].

Розподіл генотипів та алелей поліморфізму rs2010963 гена VEGFA при порівнянні II та III груп наведено на рис. 4.6.

Таблиця 4.5

**Результати аналізу ступеня асоціації генотипів поліморфізму
rs2010963 гена VEGFA між пацієнтами III групи та групи порівняння
із розвитком «вологої» форми ВДМ, n= 118**

Фактори, між якими проводили аналіз		Генотипи			Алелі	
		G/G	G/C	C/C	G	C
III група, n=80		21	45	14	87	73
Група порівняння, n=38		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

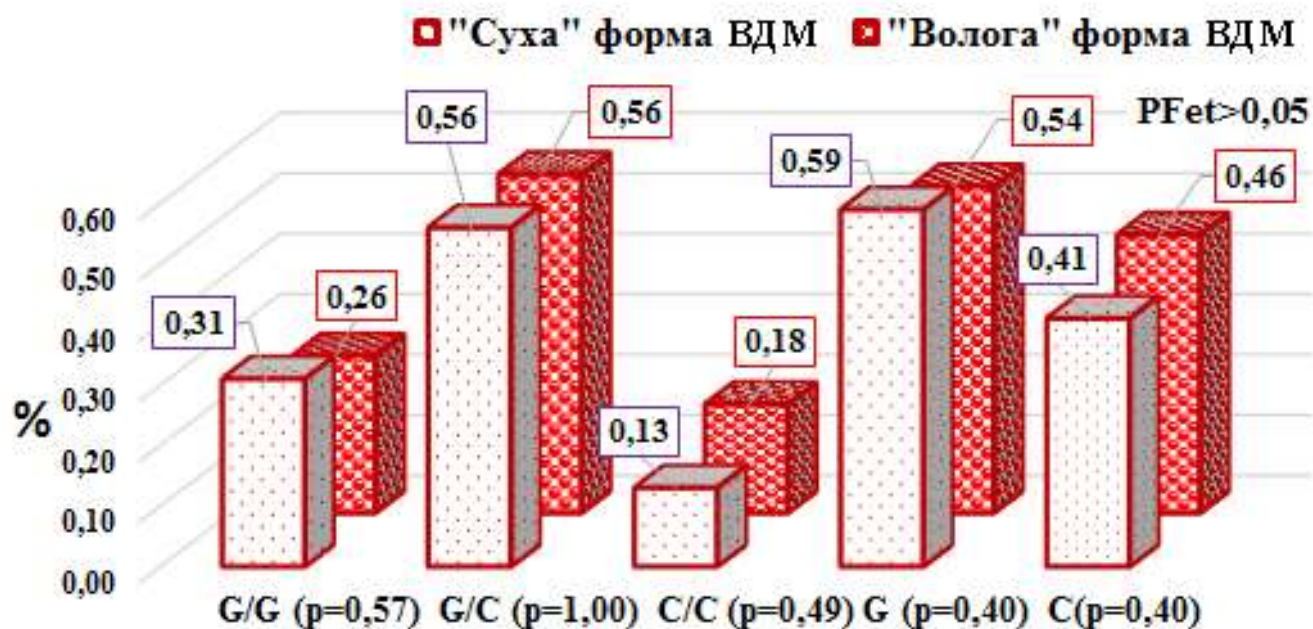


Рис. 4.6. Частоти розподілу генотипів та алелей поліморфізму rs2010963 гена VEGFA в групі з «сухою» (II група) та з «вологою» формою ВДМ (III група)

Відмінності між групами не мали статистичної значущості в жодному порівнянні (за двостороннім точним методом Фішера $P_{\text{Fet}} > 0,05$)

Таким чином, має місце загальна тенденція до зниження частоти предкових генотипу та алелі G при збільшенні мінорних генотипу та алелі C, але у жодному випадку розбіжності не мали статистичної значущості (табл. 4.6).

Таблиця 4.6

Значущість відмінностей (p за критерієм χ^2) в розподілі генотипів та алелей поліморфізму rs2010963 гена VEGFA між II та III групами, ступінь асоціації генотипів із формою ВДМ (OR) при вірогідному інтервалі 95%, n=144

Фактори, між якими проводили аналіз		III група, n=80	II група, n=64	χ^2	p	OR	
						знач.	95% BI
Генотипи	G/G	21	20	0,89	0,64	0,78	0,38 – 1,62
	G/C	45	36			1,00	0,52 – 1,94
	C/C	14	8			1,48	0,58 – 3,80
Алелі	G	87	76	0,72	0,40	0,82	0,51 – 1,31
	C	73	52			1,21	0,77 – 1,96

Результати свідчили про відсутність зв'язку з формами ВДМ поліморфізму rs2010963 гена VEGFA, як і поліморфізму rs10490924 гена ARMS2.

4.1.4. Зв'язок поліморфізму rs699947 гена VEGFA з розвитком «вологої» форми ВДМ

В ході виконання роботи ми також проаналізували розподіл генотипів та алелей іншого поліморфізму гена VEGFA – rs699947, порівнюючи обидві досліджувані групи (рис.4.7). Як свідчать отримані дані (рис.4.7), розподіл генотипів та алелей поліморфізму rs699947 гена VEGFA суттєво не відрізнявся для пацієнтів, які мали «вологу» форму ВДМ, так і для пацієнтів без ВДМ ($P_{\text{Fet}} > 0,05$). Виняток становила мінорна гомозигота A/A. У групі порівняння вона взагалі не зустрічалася, тоді як при наявності «вологої» форми ВДМ була виявлена у 12 хворих (15,0%; за

двостороннім точним методом Фішера $P_{\text{Fet}}=0,01$).

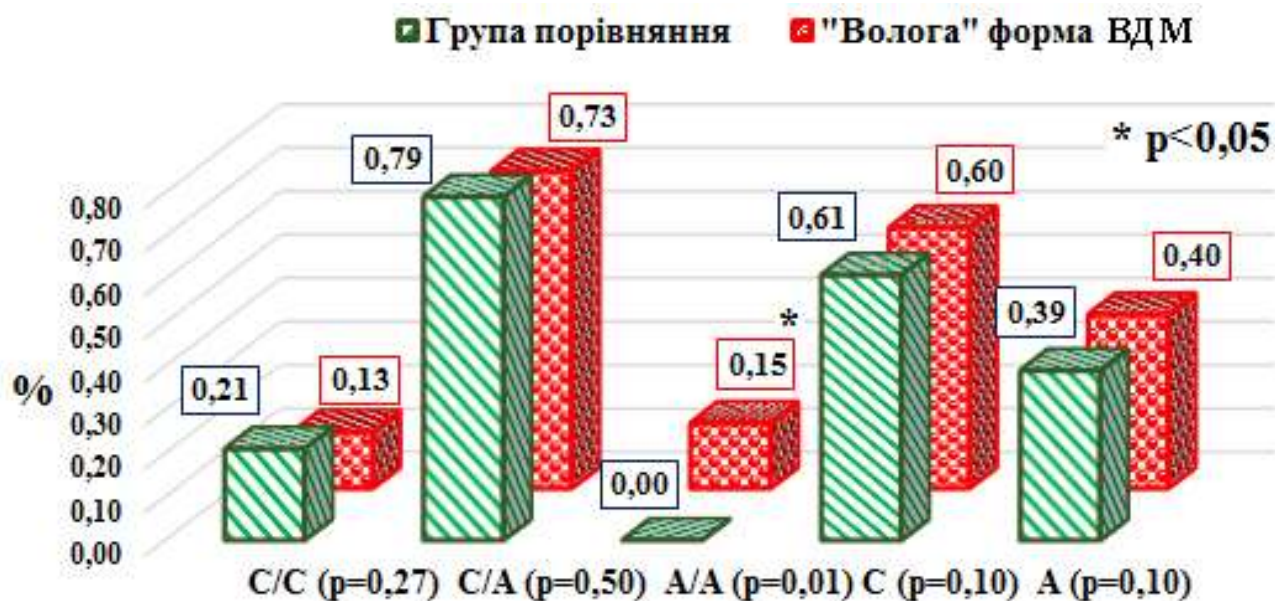


Рис. 4.7. Частоти розподілу генотипів та алелів поліморфізму rs rs699947 гена VEGFA в групі порівняння (І група) та у хворих з «вологою» формою ВДМ (ІІІ група)

Таблиця 4.7

Результати аналізу ступеня асоціації генотипів поліморфізму rs699947 гена VEGFA між пацієнтами основної групи та групи порівняння із розвитком «вологої» форми ВДМ, n= 118

Фактори, між якими проводили аналіз		Генотипи			Алелі	
		C/C	C/A	A/A	C	A
ІІ та ІІІ група, n=80		10	58	12	78	82
Група порівняння, n=38		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% BI	0,19 – 1,49	0,28 – 1,77	0,81 – 243,93	0,36 – 1,08	0,93 – 2,81

В результаті аналізу таблиць 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 ВДМ (табл. 4.7) [26].

У роботі нами було проаналізовано розподіл генотипів та алелей поліморфізму rs699947 гена VEGFA при порівнянні даних II та III груп. Результати наведені на рис. 4.8. Порівняння отриманих даних показало, що зниження частоти предкової гомозиготи C/C у 2,6 рази при «вологій» формі було статистично значущим (12,5% проти 34,4% при «сухій» формі; $P_{Fet}=0,001$). Теж саме стосувалося й мінорної гомозиготи A/A, яка у 4,8 рази частіше зустрічалася при «вологій» формі (15,0% проти 3,1% при «сухій» формі; $P_{Fet}=0,02$). Отже, при «вологій» формі ВДМ достеменно рідше зустрічалася предкова гомозигота C/C (у 2,6 рази) та частіше – мінорна гомозигота A/A (у 4,8 рази).

Аналіз таблиці спряженості (3×3) показав (табл. 4.8), що саме поліморфізм rs699947 гена VEGFA визначає розвиток «вологої» форми ВДМ ($\chi^2=13,34$; $p_{\chi^2}=0,001$).

Відмінності між групами за генотипами C/C, A/A і алелями статистично значущі (за двостороннім точним методом Фішера $P_{Fet}=0,001$; $P_{Fet}=0,02$; $P_{Fet}=0,004$ відповідно); інші відмінності не мали статистичної значущості ($P_{Fet}>0,05$).

Мінорна гомозигота у 5,5 рази ($OR=5,47$; 95% BI 1,18-25,42) підвищувала шанси розвитку «вологої» форми ВДМ. Гетерозигота C/A теж підвищувала такі шанси у 1,6 рази ($OR=1,58$; 95% BI 0,78-3,20). Разом з тим предкова гомозигота C/C такі шанси знижувала у 3,7 рази ($OR=0,27$; 95% BI 0,12-0,63).

Таким чином, можна зробити висновок, що генотип A/A поліморфізму rs699947 гена VEGFA сприяв розвитку «вологої» форми ВДМ.

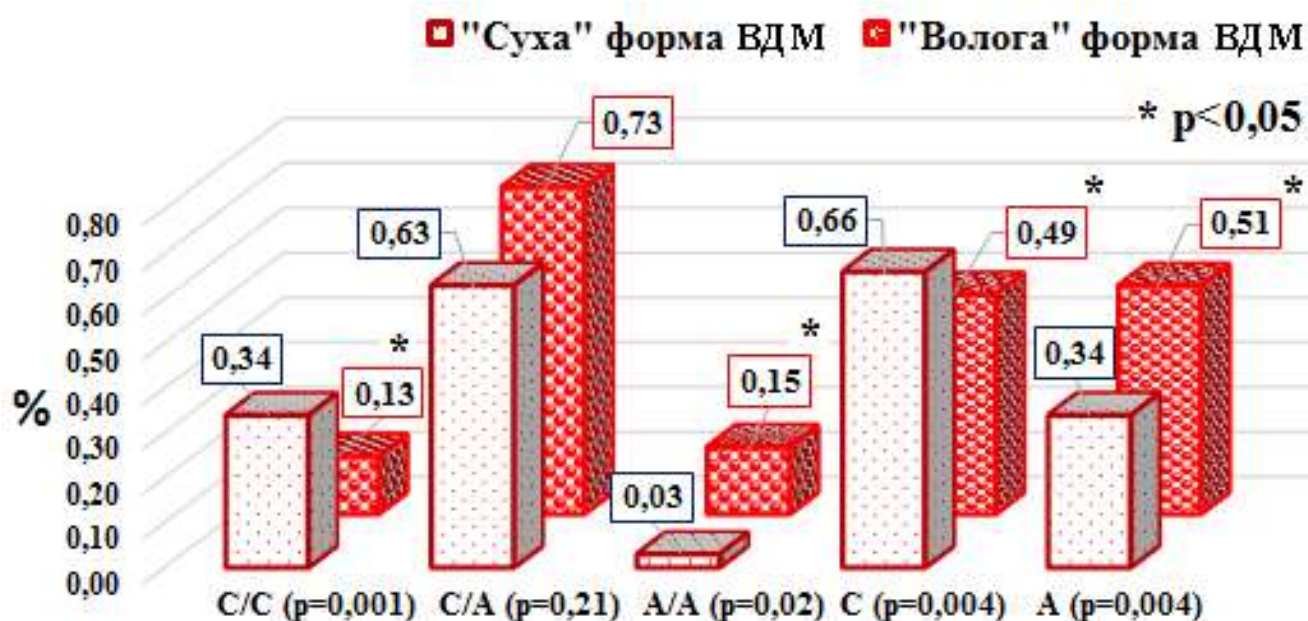


Рис. 4.8. Частоти розподілу генотипів та алелей поліморфізму rs699947 гена VEGFA в групі з «сухою» (II група) та з «вологою» формою ВДМ (III група)

Таблиця 4.8

Значущість відмінностей (р за критерієм χ^2) в розподілі генотипів та алелей поліморфізму rs699947 гена VEGFA між II та III групами, ступінь асоціації генотипів із формою ВДМ (OR) при вірогідному інтервалі 95%, n=144

Фактори, між якими проводили аналіз		III група, n=80	II група, n=64	χ^2	p	OR	
						знач.	95% BI
Генотипи	C/C	10	22	13,34	0,001	0,27	0,12 – 0,63
	C/A	58	40			1,58	0,78 – 3,20
	A/A	12	2			5,47	1,18 – 25,42
Алелі	C	78	84	8,23	0,004	0,50	0,31 – 0,80
	A	82	44			2,01	1,24 – 3,24

Розподіл алелей поліморфізму rs699947 гена VEGFA також відрізнявся – предкова алель С зустрічалася частіше при «сухій» формі (65,6% проти 48,7% при «вологій»; $P_{Fet}=0,004$), тоді як мінорна алель А переважала при «вологій» формі (51,2% проти 34,4% при «сухій» формі; $P_{Fet}=0,004$).

Аналіз таблиці спряженості (2×2) показав (табл. 4.8) наявність статистичної значущості розподілу алелей ($p_{\chi^2}=0,004$). Мінорна алель А підвищувала у два рази шанси розвитку «вологої» форми ВДМ у порівнянні з «сухою» формою ($OR=2,01$; 95% ВІ 1,24-3,24), а предкова алель С такі шанси у два рази знижувала ($OR=0,50$; 95% ВІ 0,31-0,80).

Отримані результати свідчили про те, що поліморфізм як rs699947 гена VEGFA, так і rs800292 гена CFH, підвищували шанси розвитку «вологої» форми ВДМ у порівнянні з «сухою» формою – носії мінорних алелей цих поліморфізмів мали удвічі вищий шанс розвитку саме «вологої» форми. На противагу їм предкові алелі визначали розвиток «сухої» форми ВДМ.

Таким чином, при стратифікації за формою ВДМ у хворих в Україні та порівнянні груп з «сухою» та «вологою» ВДМ між собою визначено, що поліморфізми rs10490924 гена ARMS2 і rs2010963 гена VEGFA значення не мали, тоді як поліморфізми rs800292 гена CFH та rs699947 гена VEGFA саме і визначали форму ВДМ. «Суха» форма була асоційована з наявністю предкових алелей (G та C), тоді як «волога» форма – з наявністю мінорних алелей (в обох випадках А).

4.2. Визначення значущості клініко-лабораторних показників в розвитку «вологої» форми ВДМ

У процесі дослідження нами була вивчена асоціація виникнення «вологої» форми ВДМ в залежності від клініко-лабораторних показників по дослідженим генотипам та проаналізовано залежність захворювання окремо по кожному показнику. Аналіз показників у пацієнтів III групи, які мали «вологу» форму ВДМ, подано в табл. 4.9. В таблиці наведені дані тільки для показників, значення яких статистично значуще розрізнялися у залежності від генотипу ($p<0,05$).

Таблиця 4.9

Залежність клініко-лабораторних показників від генотипів вивчених поліморфізмів у пацієнтів з «вологою» формою ВДМ (ІІІ група), n= 80

Показник	ARMS2, rs10490924			Критерій F	Рівень значущості відмінності, p
	G/G (n=16)	G/T (n=58)	T/T (n=6)		
ТГ, ммоль/л	1,71±0,19	1,31±0,09	0,85±0,09	4,011	0,022
ЛПДНЩ, ммоль/л	0,39±0,04	0,26±0,02	0,16±0,03	7,503	0,001
Лейкоцити, Г/л	7,63±0,54	6,34±0,17	5,57±0,52	6,192	0,003
Гемоглобін, г/л	153,69±2,63	137,00±1,75	139,50±5,51	0,586	8,67E-05
	CFH, rs800292				
	G/G (n=23)	G/A (n=37)	A/A (n=20)		
Хол, ммоль/л	6,26±0,22	5,34±0,16	6,34±0,27	8,289	0,001
ТГ, ммоль/л	0,98±0,08	1,41±0,11	1,69±0,19	6,362	0,003
ЛПНЩ, ммоль/л	4,40±0,18	3,38±0,15	4,13±0,27	8,452	4,80E-04
ІА, ум.од.	3,15±0,25	3,42±0,17	4,10±0,28	3,817	0,026
Лейкоцити, Г/л	6,01±0,21	7,05±0,28	6,21±0,35	3,968	0,023
ШОЕ, мм/год	10,09±0,94	10,70±0,64	6,95±0,45	6,865	0,002
	VEGFA rs2010963				
	G/G (n=21)	G/C (n=45)	C/C (n=14)		
ТХ, роки	2,48±0,30	3,84±0,52	5,21±1,07	3,175	0,047
Хол, ммоль/л	6,50±0,26	5,44±0,14	6,21±0,29	8,358	0,001
ЛПНЩ, ммоль/л	4,51±0,22	3,45±0,16	4,21±0,18	9,316	2,38E-04
ШОЕ, мм/год	11,00±0,69	9,89±0,65	6,50±0,49	6,385	0,003
	VEGFA rs699947				
	C/C (n=10)	C/A (n=58)	A/A (n=12)		
ТХ, роки	1,50±0,27	3,47±0,41	6,83±0,94	9,637	1,84E-04
Тромбоцити, Г/л	188,50±14,00	210,71±6,30	242,17±11,11	3,847	0,026
Гемоглобін, г/л	149,60±2,33	140,52±1,98	133,00±3,03	3,931	0,024

Примітка: ІА – індекс атерогенності; ІМТ – індекс маси тіла; ЛПНЩ – ліпопротеїди низької щільності; ЛПДНЩ – ліпопротеїди наднизької щільності; ЛПВЩ – ліпопротеїди високої щільності; МГЗК – максимальна гострота зору з корекцією; ТГ – тригліцериди; ТХ – тривалість хвороби; Хол – холестерин

Як видно з табл.4.9., носії мінорної алелі Т поліморфізму rs10490924 гена ARMS2, на відміну від пацієнтів II групи («суха» форма ВДМ) (табл.3.5), мали менші значення рівнів у крові ТГ, ЛПДНЩ, глюкози, а також лейкоцитів та гемоглобіну [34].

Носії мінорної алелі А поліморфізму rs800292 гена CFH також мали вищий рівень у крові ТГ та більше значення індексу атерогенності. Крім того, ШОЕ у них була нижчою. Загалом, зміни клініко-лабораторних показників у пацієнтів III групи були не такі виражені, як у пацієнтів, що мали «суху» форму ВДМ (табл.3.5; 4.9).

Отже, при «вологій» формі мінорні ризикові алелі цих поліморфізмів не були пов'язані з такими патогенетичними факторами, як гіперхолестеринемія, атерогенна дисліпідемія та гемоконцентрація [34].

Носії ризикових алелей поліморфізмів гена VEGFA відрізнялися більшими показниками тривалості хвороби та кількості тромбоцитів в крові. Причому фактор кількості тромбоцитів був найбільш виражений для rs699947 гена VEGFA (табл.4.9). Чіткого зв'язку з показниками ліпідограми визначено не було. Тобто, патогенетичне значення гена VEGFA у розвитку «вологої» форми ВДМ, також як і генів ARMS2 (rs10490924) та CFH (rs800292), полягало у інших патогенетичних механізмах [34].

4.3. Вивчення ролі офтальмологічних показників у розвитку «вологої» форми ВДМ

Враховуючи відсутність переконливого свідчення щодо асоціації поліморфізмів генів ARMS2, VEGFA і CFH з маркерами морфологічної структури макули у хворих на вікову макулярну дегенерацію та пацієнтів без ВДМ [35-36], під час дослідження ми проводили аналіз зв'язку чотирьох визначених поліморфізмів генів ARMS2, CFH і VEGFA із наступними показниками клінічного обстеження пацієнтів, які описували зміни морфологічної структури макули при «вологій» формі ВДМ згідно діючої класифікації ВДМ [37-38].

Виходячи з цього, ми аналізували кореляцію між генотипами та алелями поліморфізмів: rs10490924 гена ARMS2, rs800292 гена CFH, rs2010963 гена VEGFA і rs699947 гена VEGFA та товщиною сітківки в ділянці фовеоли, кістозним набряком

нейроепітелію, трансудативним відшаруванням пігментного епітелію, класичною СНМ, хоріоретинальною судинною проліферацією, субретинальним фіброзом (таблиці 4.10-4.13).

Таблиця 4.10

Результати кореляційного аналізу між генотипами та алелями поліморфізму rs10490924 гена ARMS2 і маркерами морфологічної структури макули пацієнтів з «вологою» формою ВДМ (ІІІ група), n = 80

Фактори, між яким проводиться кореляційний аналіз		Значення коефіцієнта лінійної регресії Пірсона					
		Товщина сітківки в ділянці фовеоли, μm	Кістозний набряк нейроепітелію	Трансудативне відшарування пігментного епітелію	Класична СНМ	Хоріоретинальна судинна проліферація	Субретинальний фіброз
Геноти-пи	G/G	0,37 *	0,19 *	0,18 *	0,17 *	0,22 *	0,28 *
	G/T	0,22 *	0,23 *	0,25 *	0,21 *	0,19 *	0,13 *
	T/T	0,13 *	0,09 *	0,14 *	0,12 *	0,16 *	0,12 *
Алелі	G	0,41 *	0,21 *	0,26 *	0,22 *	0,31 *	0,29 *
	T	0,39 *	0,16 *	0,23 *	0,21 *	0,27 *	0,30 *

Примітка: * - вказані значення коефіцієнта лінійної кореляції Пірсона (різниця статистично вірогідна, $p < 0,05$)

Кореляційний аналіз (таблиця 4.10) залежності маркерів морфологічної структури макули від генотипів та алелей поліморфізму rs10490924 гена ARMS2 у пацієнтів ІІІ групи свідчив про пряму кореляцію слабого ступеня з товщиною сітківки в ділянці фовеоли для генотипу (G/G) і алелей G та T. Коефіцієнт кореляції Пірсона склав $r=0,37$, $r=0,41$ і $r=0,39$ відповідно ($p < 0,05$). Крім того, відмічено слабкий взаємозв'язок для алелей G і T rs10490924 гена ARMS2 з хоріоретинальною судинною проліферацією та субретинальним фіброзом ($r=0,31$, $r=0,29$, $r=0,27$ і $r=0,30$ відповідно; $p < 0,05$). Результати виявили (таблиця 4.10), що кістозний набряк нейроепітелію, трансудативне відшарування пігментного епітелію, класична СНМ не залежали від досліджуваних генотипів та алелей поліморфізму rs10490924 гена ARMS2.

Таблиця 4.11

**Результати кореляційного аналізу між генотипами та алелями поліморфізму
rs800292 гена CFH і маркерами морфологічної структури макули
пацієнтів з «воловою» формою ВДМ (ІІІ група), n = 80**

Фактори, між яким проводиться кореляційний аналіз		Значення коефіцієнта лінійної регресії Пірсона					
		Товщина сітківки в ділянці фовеоли, μm	Кістозний набряк нейроепітелію	Транссудативне відшарування пігментного епітелію	Класична СНМ	Хоріоретинальна судинна проліферація	Субретинальний фіброз
Геноти пи	G/G	0,25 *	- 0,12 *	- 0,16 *	- 0,14 *	- 0,22 *	- 0,24 *
	G/A	0,27 *	0,18 *	0,21 *	0,09 *	0,14 *	0,16 *
	A/A	0,46 *	0,36 *	0,31 *	0,44 *	0,53 *	0,55 *
Алелі	G	0,23 *	- 0,19 *	- 0,22 *	- 0,16 *	- 0,24 *	- 0,26 *
	A	0,44 *	0,38 *	0,27 *	0,33 *	0,46*	0,52*

Примітка: * - вказані значення коефіцієнта лінійної кореляції Пірсона (різниця статистично вірогідна, $p < 0,05$)

Таблиця 4.12

**Результати кореляційного аналізу між генотипами та алелями поліморфізму
rs2010963 гена VEGFA і маркерами морфологічної структури макули
пацієнтів з «воловою» формою ВДМ (ІІІ група), n = 80**

Фактори, між яким проводиться кореляційний аналіз		Значення коефіцієнта лінійної регресії Пірсона					
		Товщина сітківки в ділянці фовеоли, μm	Кістозний набряк нейроепітелію	Транссудативне відшарування пігментного епітелію	Класична СНМ	Хоріоретинальна судинна проліферація	Субретинальний фіброз
Геноти пи	G/G	0,11 *	- 0,07 *	- 0,14 *	- 0,06 *	- 0,11 *	- 0,16 *
	G/C	0,32 *	0,19 *	0,28 *	0,29 *	0,27 *	0,30 *
	C/C	0,31 *	0,26 *	0,25 *	0,30 *	0,24	0,28
Алелі	G	0,22 *	- 0,09 *	- 0,15 *	- 0,06 *	- 0,10 *	- 0,17 *
	C	0,19 *	0,11 *	0,15 *	0,18 *	0,22*	0,24*

Примітка: * - вказані значення коефіцієнта лінійної кореляції Пірсона (різниця статистично вірогідна, $p < 0,05$)

Результати дослідження демонстрували кореляційний зв'язок середнього ступеня між генотипом А/А і алелю А поліморфізму rs800292 гена CFH та маркерами морфологічної структури макули у пацієнтів групи ІІІ (табл.4.11). Так була зафіксована пряма середня залежність величини товщини сітківки в ділянці фовеоли від показника мінорної гомозиготи (А/А) ($r=0,46$), алелі А ($r=0,46$) і пряма слабка залежність від генотипів G/A ($r=0,27$) і G/G ($r=0,25$) та алелі G ($r=0,23$) ($p<0,05$) (табл.4.11). Наявність генотипу А/А поліморфізму rs800292 гена CFH впливала на розвиток класичної СНМ ($r=0,44$), кістозного набряку нейроепітелію ($r=0,36$), хоріоретинальної судинної проліферації ($r=0,53$), субретинального фіброзу ($r=0,55$), як і мінорної алелі А. Сила кореляції, за Пірсоном, складала - $r=0,33$, $r=0,38$, $r=0,46$ та $r=0,52$ відповідно ($p<0,05$) (табл.4.11).

Таблиця 4.13

Результати кореляційного аналізу між генотипами та алелями поліморфізму rs699947 гена VEGFA і маркерами морфологічної структури макули пацієнтів з «волоогою» формою ВДМ (ІІІ група), n = 80

Фактори, між яким проводиться кореляційний аналіз		Значення коефіцієнта лінійної регресії Пірсона					
		Товщина сітківки в ділянці фовеоли, μm	Кістозні набряк нейроепітелію	Трансудативне відшарування пігментного епітелію	Класична СНМ	Хоріоретинальна судинна проліферація	Субретинальний фіброз
Геноти-пи	C/C	0,25 *	0,09 *	0,13 *	0,23 *	0,26 *	0,14 *
	C/A	0,34 *	- 0,11 *	- 0,15 *	- 0,39 *	- 0,36 *	- 0,23 *
	A/A	0,53 *	0,45 *	0,36 *	0,51 *	0,63 *	0,54 *
Алелі	C	0,27 *	0,26 *	0,19 *	0,24 *	0,22 *	0,25 *
	A	0,56 *	- 0,53 *	- 0,38 *	- 0,61 *	- 0,49*	- 0,55*

Примітка: * - вказані значення коефіцієнта лінійної кореляції Пірсона (різниця статистично вірогідна, $p < 0,05$)

Необхідно також зазначити (таблиця 4.12), що виявлені в результаті нашого дослідження маркери морфологічної структури макули у пацієнтів з «волоогою» формою ВДМ (група ІІІ) не залежали від генотипів та алелей поліморфізму

rs2010963 гена VEGFA. Було лише відмічено пряму слабку кореляцію між товщиною сітківки в ділянці фовеоли з гомозиготою C/C ($r=0,31$; $p<0,05$) та гетерозиготою G/C ($r=0,32$; $p<0,05$).

Слід зауважити, що аналіз результатів (таблиця 4.13) виявив середній ступінь залежності маркерів морфологічної структури макули у пацієнтів III групи з «волоогою» формою ВДМ від генотипів і алелей поліморфізму rs699947 гена VEGFA. Так, наявність гомозиготи A/A впливало на товщину сітківки в ділянці фовеоли при коефіцієнті кореляції Пірсона $r=0,53$; розвиток хоріоретинальної судинної проліферації ($r=0,63$), субретинальний фіброз ($r=0,54$), класичну СНМ ($r=0,51$) та розвиток кістозного набряку нейроепітелію ($r=0,45$). Присутність гетерозиготи C/A впливала на товщину сітківки в ділянці фовеоли ($r=0,34$), класичну СНМ ($r=-0,39$) та розвиток хоріоретинальної судинної проліферації ($r=-0,36$). Крім того, для алелі A визначено пряму кореляцію середнього ступеня з товщиною сітківки в ділянці фовеоли – $r=0,56$ ($p<0,05$) та зворотню кореляцію середнього ступеня з класичною СНМ ($r=-0,61$), субретинальним фіброзом ($r=-0,55$), кістозним набряком нейроепітелію ($r=-0,53$), хоріоретинальною судинною проліферацією – $r=-0,49$ ($p<0,05$) (табл.4.13).

Отже, аналіз результатів виявив, що серед усіх проаналізованих маркерів морфологічної структури макули у пацієнтів III групи («волоого» форма ВДМ) нам вдалося встановити виражений взаємозв'язок середнього ступеня: мінорного генотипу A/A і мінорної алелі A поліморфізму rs800292 гена CFH та поліморфізму rs699947 гена VEGFA. Виразний взаємозв'язок слабкого ступеня визначено для: алелей G та T поліморфізму rs10490924 гена ARMS2, предкової гомозиготи G/G та гетерозиготи G/C поліморфізму rs2010963 гена VEGFA та гетерозиготи C/A поліморфізму rs699947 гена VEGFA.

Резюме до розділу 4

При стратифікації за наявністю «волоогої» форми ВДМ у хворих в Україні сила зв'язку у порівнянні з хворими без розподілу по формі ВДМ 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 (при «сухій» формі – тільки для алелей). Мінорний генотип А/А поліморфізму rs699947 гена VEGFA виявив асоціацію тільки з «вологою» формою ВДМ.

При порівнянні груп з «сухою» та «вологою» ВДМ між собою визначено, що поліморфізми rs10490924 гена ARMS2 і rs2010963 гена VEGFA значення не мали, тоді як поліморфізми rs800292 гена CFH та rs699947 гена VEGFA саме і визначали форму ВДМ. «Суха» форма була асоційована з наявністю предкових алелей (G та C), тоді як «волога» форма – з наявністю мінорних алелей (в обох випадках А).

При стратифікації за можливістю розвитку ВДМ в залежності від клініко-лабораторних та генетичних показників виявлено, що при «вологій» формі ВДМ поліморфізми вказаних генів не були пов'язані з цими патогенетичними факторами, але сприяли істотно нижчій гостроті зору та набряку сітківки.

Встановлено, що зі зміною морфологічної структури макули, яка характерна «вологій» формі вікової дегенерації макули вивірний взаємозв'язок середнього ступеня мали мінорний генотип та мінорна алель А поліморфізму rs699947 гена VEGFA та поліморфізму rs800292 гена CFH. Кореляцію середнього ступеня з товщиною сітківки в ділянці фовеоли мали: геноти А/А ($r=0,46$) і алелі А ($r=0,44$) поліморфізму rs800292 гена CFH, генотип А/А ($r=0,53$) і алелі А ($r=0,56$) поліморфізму rs699947 гена VEGFA та алелі G ($r=0,41$) поліморфізму rs10490924 гена ARMS2. На розвиток хоріоретинальної судинної проліферації впливало: присутність гомозиготи А/А ($r=0,63$) і алелі А ($r=-0,49$) поліморфізму rs699947 гена VEGFA; гомозиготи А/А ($r=0,53$) і алелі А ($r=0,46$) поліморфізму rs800292 гена CFH; гетерозиготи С/А поліморфізму rs699947 гена VEGFA ($r=-0,36$); алелі G ($r=0,31$) та Т ($r=0,27$) поліморфізму rs10490924 гена ARMS2. Розвиток субретинального фіброзу залежав від наявності: генотипу А/А ($r=0,54$) і алелі А ($r=-0,55$) поліморфізму rs699947 гена VEGFA; генотипу А/А ($r=0,55$) і алелі А ($r=0,52$) поліморфізму rs800292 гена CFH. На розвиток класичної СНМ впливали генотип А/А ($r=0,51$), алелі А ($r=-0,61$) і генотип С/А ($r=-0,39$) поліморфізму rs699947 гена VEGFA та генотип А/А ($r=0,44$) і алелі А ($r=0,33$) поліморфізму rs800292 гена CFH. Кістозний

набряк нейроепітелію залежав від: гомозиготи A/A ($r=0,45$) і алелі A ($r=-0,53$) поліморфізму rs699947 гена VEGFA; гомозиготи A/A ($r=0,36$) і алелі A ($r=0,38$) поліморфізму rs800292 гена CFH. Трансудативне відшарування пігментного епітелію значною мірою залежало від наявності генотипу A/A ($r=0,36$), алелі A ($r=-0,38$) поліморфізму rs699947 гена VEGFA та меншою мірою від гомозиготи A/A ($r=0,31$) і алелі A ($r=0,27$) поліморфізму rs800292 гена CFH.

Перелік друкованих праць, опублікованих за матеріалами, викладеними в цьому розділі:

1. Риков С. О. Асоціація поліморфізму гена ARMS2/LOC387715 A69S з розвитком вікової макулярної дегенерації / С. О. Риков, І. В. Шаргородська, С. В. Зябліцев, С.С. Фролова // Науково-практична конференція офтальмологів з міжнародною участю «Філатовські читання», 25-26 травня 2017 р., Одеса: матеріали. – Одеса, 2017. – С.123-124.
2. Фролова С. С. Нові підходи до діагностики вікової макулярної дегенерації / С. С. Фролова, С. О. Риков, І. В. Шаргородська, С. В. Зябліцев // Міжнародна науково-практична конференція до всесвітнього дня здоров'я, 6-7 квітня 2017 р., Київ: матеріали. – Київ, 2017. – С.139-141.
3. Shargorodska I.V. New possibilities for determining the risk factors for the development of age-related macular degeneration / I. V. Shargorodska, S.S. Frolova // East European Scientific Journal. – Warsaw, Poland. – 2019. – Vol.6. #5(45). – P.47-52.
4. Шаргородська І.В. Ефективність визначення факторів ризику розвитку вікової дегенерації макули / І. В. Шаргородська, С. С. Фролова // Науково-практична конференція офтальмологів України «Шевальовські читання'19», 20-21 червня 2019 р., Запоріжжя: матеріали. – Запоріжжя, 2019. – С.56-59.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ У РОЗДІЛІ 4

1. Бикбов М. М. Возрастная макулярная дегенерация / М. М. Бикбов, Р. Р. Файзрахманов, Я. Л. Ярмухаметова // М. – 2013. – 196 с.
2. Kansky J. J. Diseases of the macula / J. J. Kansky, S. A. Milewsky // A practical approach. – Mosby International limited – 2002. – P.215.
3. Milam A. H. Dominant late-onset retinal degeneration with regional variation of sub-retinal pigment epithelium deposits, retinal function and photoreceptor degeneration / A. H. Milam, C. A. Curcio, A. V. Cideciyan [et al.] // Ophthalmology. – 2002. – Vol.107. – P.2256-2266.
4. Perry W. Y. Peripapillary chorioretinal atrophy: Bruch membrane changes and photoreceptor loss / W. Y. Perry, A. C. Christine // Ophthalmology. – 2002. – Vol.107. – P.334-343.
5. Klein R. The association of Cataract and Cataract Surgery with the long-term incidence of age-related maculopathy / R. Klein, B. E. K. Klein [et al.] // Arch. Ophthalmol. – 2002. – Vol.102. – P.1551-1557.
6. Smith W. Risk factors for age-related macular degeneration. Pooled finding from three continents / W. Smith, K. J. Assin, R. Klein // Ophthalmology. – 2001. – Vol. 108. – P.697-704.
7. Ермакова Н. А. Основные этиологические факторы и патогенетические механизмы развития возрастной макулярной дегенерации / Н. А. Ермакова, О. Ц. Рабданова // Клиническая офтальмология. – 2007. – Т.8. – №3. – С.125-128.
8. Хороших Ю. И. Современные взгляды на проблему патогенеза и лечения «влажной» формы возрастной макулярной дегенерации / Ю. И. Хороших, О. И. Кривошеина // Соврем. проблемы науки и образования. – 2014. – № 2. – С.1-14.
9. Lauer N. Complement regulation at necrotic cell lesions is impaired by the age-related macular degeneration-associated factor-H His402 risk allele / N. Lauer, M. Mihlan, A. Hartmann, U. Schlotzer-Schrehardt, C. Keilhauer, H. P. N. Scholl, P. C. Issa, F. Holz, B. H. F. Weber, C. Skerka, P. F. Zipfel // J. Immun. – 2011. – Vol.187 – P.4374-4383.

10. Presta L. G. Humanization of an anti-vascular endothelial growth factor monoclonal antibody for the therapy of solid tumors and other disorders / L. G. Presta, H. Chen, S. J. O'Connor [et al.] // *Cancer Res.* – 1997. – Vol.57. – №20. – P.4593-4599.
11. Nowak J. Z. Age-related macular degeneration (AMD): pathogenesis and therapy / J. Z. Nowak // *Pharmacol Rep.* – 2006. – Vol.58. – P.353-363.
12. Grossniklaus H. E. Histopathologic and ultrastructural features of surgically excised subfoveal choroidal neovascular lesions: submacular surgery trials report no. 7 / H. E. Grossniklaus, P. H. Miskala, W. R. Green [et al.] // *Arch Ophthalmol.* – 2005. – Vol.123. – P.914-921.
13. Bressler S. B. Introduction: Understanding the role of angiogenesis and antiangiogenic agents in age-related macular degeneration / S. B. Bressler // *Ophthalmology.* – 2009. – Vol.116. – №10 Suppl. – P.1-7.
14. Werb Z. Secretion of a specific collagenase by stimulated macrophages / Z. Werb, S. Gordon // *J Exp Med.* – 1975. – Vol.142. – P.346-360.
15. Егоров Е. А. Ранибизумаб (луцентис) в лечении пациентов с "влажной" формой возрастной макулярной дегенерации / Е. А. Егоров, И. А. Романенко, Т. Б. Романова, Д. В. Кац // *Клиническая офтальмология.* – 2010. – Т.11. – №2. – С.65-68.
16. Husain D. Safety and efficacy of intravitreal injection of ranibizumab in combination with verteporfin PDT on experimental choroidal neovascularization in the monkey / D. Husain, I. Kim, D. Gauthier [et al.] // *Arch. Ophthalmol.* – 2005. – Vol.123. – P.509-516.
17. Tatar O. Expression of VEGF and PEDF in choroidal neovascular membranes following verteporfin photodynamic therapy / O. Tatar, A. Adam, K. Shinoda [et al.] // *Am. J. Ophthalmol.* – 2006. – Vol.142. – № 1. – P.95-104.
18. Бездетко П. А. Возрастная макулярная дегенерация: метод. указ. для студентов-иностранцев / П. А. Бездетко, Н. В. Панченко, Е. П. Мужичук и др. // Харьков: ХНМУ. – 2015. – С.3-11.

19. Егоров Е. А. Современные направления в лечении инволюционной центральной хориоретинальной дистрофии / Е. А. Егоров, Д. В. Кац // Актуальные вопросы терапии. – 2006. – № 5. – С.2-6.
20. Нащенко О. В. Применение биологически активных веществ в лечении возрастной макулодистрофии / О. В. Нащенко // Клин. офтальмол. – 2004. – Т. 5 – № 2. – С.82-84.
21. Тахчиди Х. П. Экспериментальные результаты фотодинамической терапии в офтальмологии с использованием отечественных препаратов хлоринового ряда / Х. П. Тахчиди, Ю. А. Белый, А. В. Терещенко // Офтальмохирургия. – 2005. – №2. – С.30-35.
22. 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.
23. Allikmets R. Mutation of the Stargardt disease gene (ABCR) in age-related macular degeneration / R. Allikmets, N. F. Shroyer, N. Singh [et al.] // Science. – 1997. – Vol.277(5). – P.1805–1807.
24. Souied E. H. ABCR gene analysis in familial exudative age-related macular degeneration / E. H. Souied, D. Ducroq, J. M. Rozet [et al.] // Invest Ophthalmol Vis Sci. – 2000. – Vol.41(1). – P.244–247.
25. Харинцева С. В. Некоторые аспекты патогенеза макулярной дегенерации / С. В. Харинцева, Л. А. Голуб // Успехи геронтологии. – 2006. – Вып. 18. – С.71-75.
26. Риков С. О. Зв'язок поліморфізмів генів ARMS2 (rs10490924), CFH (rs800292), VEGFA (rs2010963 та rs699947) з наявністю "вологої" форми ВМД у хворих української популяції / С. О. Риков, І. В. Шаргородська, Н. С. Лаврик, С. С. Фролова // Вісник проблем біології і медицини. – 2017. – Полтава. – Випуск 2. – Т.136. – С.181-188.
27. 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.

28. Sardell R. J. Progression Rate From Intermediate to Advanced Age-Related Macular Degeneration Is Correlated With the Number of Risk Alleles at the CFH Locus / R. J. Sardell, P. J. Persad, S. S. Pan [et al.] // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 2016. – Vol.57(14). – P.6107-6115.
29. 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.
30. 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. Smailhodzic [et al.] // *JAMA Ophthalmol.* – 2015. – Vol.133(5). – P.533-541.
31. Jabbarpoor Bonyadi M. H. Association of ARMS2/LOC387715 A69S, CFH Y402H, and CFH I62V polymorphisms with retinal angiomatous 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.38(4). – P.308-313.
32. Huang L. Gene-gene interaction of CFH, ARMS2, and ARMS2/HTRA1 on the risk of neovascular age-related macular degeneration and polypoidal choroidal vasculopathy in Chinese population / L. Huang, Q. Meng, C. Zhang [et al.] // *Eye (Lond).* – 2015. – Vol.29(5). – P.691-698.
33. 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.1819.
34. Фролова С. С. Прогнозування розвитку ВМД в залежності від клінічних та генетичних показників, визначених при первинному скринінгу / С. С. Фролова // *Вісник проблем біології і медицини.* – 2017. – Полтава. – Випуск 3. – Т.1(137). – С.243-251.
35. Yoneyama S. Genetic factors associated with choroidal vascular hyperpermeability and subfoveal choroidal thickness in polypoidal choroidal vasculopathy / S.

- Yoneyama, Y. Sakurada, W. Kikushima, et al. // *Retina*. – 2016. – Vol.36(8). – P.1535-1541.
36. Jager R. D. Age-related macular degeneration / R. D. Jager, W. F. Mieler, J. W. Miller // *N Engl J Med*. – 2008. – Vol.358. – No24. – P.2606-2617.
37. Бойко Э. В. Возрастная макулярная дегенерация (факторы риска, классификация, диагностика, профилактика, лечение) / Э. В. Бойко, Л. В. Журавлева, С. В. Сосновский // *Методические рекомендации*. – М. – 2010. – 48 с.
38. Пасечникова Н. В. Новая клиническая классификация возрастной макулярной дегенерации / Н. В. Пасечникова // *Новости медицины и фармации*. – 2012. – №4 (402) – 90 с.

РОЗДІЛ 5

ОСОБЛИВОСТІ АКТИВНОГО МЕНЕДЖМЕНТУ ХВОРИХ НА ВІКОВУ ДЕГЕНЕРАЦІЮ МАКУЛИ ДЛЯ ПРОФІЛАКТИКИ ЗАХВОРЮВАННЯ ПРИ АМБУЛАТОРНО-ПОЛІКЛІНІЧНІЙ ДОПОМОЗІ

На сьогодні загальновідомо, що ВДМ – хронічне захворювання, що потребує професійної профілактики, постійного моніторингу та лікування [1-3]. Разом з тим цукровий діабет – також хронічне захворювання, але ні в кого не виникає сумнівів, що кожен пацієнт з діабетом повинен бути під постійним наглядом ендокринолога та обов'язково отримувати щорічні курси лікування. Це стосується і хворих на вікову макулярну дегенерацію: пацієнти з ВДМ повинні бути під постійним наглядом офтальмолога, дотримуватися рекомендацій щодо профілактики прогресування захворювання та його розвитку у членів родин, вчасно лікуватися. Однак слід пам'ятати, що на сьогоднішній день вилікувати це захворювання повністю неможливо [3].

Згідно протоколів надання медичної допомоги хворим з дегенерацією макули та заднього полюсу ока [4] (ангіоїдними смугами, отвором, зморщуванням макули, дегенерацією Кунта-Юніуса, друзами, старечою дегенерацією макули тощо), Н 35.3 за МКХ–10, до обов'язкових офтальмологічних обстежень цієї категорії пацієнтів належать: візометрія, периметрія, офтальмоскопія, флуоресцентна ангіографія сітківки. До обов'язкових лабораторних досліджень – загальний аналіз крові, загальний аналіз сечі, кров на RW і цукор крові, визначення Hbs-антигену. За показаннями такий пацієнт має бути проконсультований терапевтом, неврологом та ендокринологом.

У низці світових досліджень останніх років вивчався зв'язок показників активності системної та місцевої запальної реакції, системи комплементу, рівня ферментемії та інших клініко-лабораторних показників з генетичними поліморфізмами при ВДМ [3, 5-8]. Встановлено, що вікова макулярная дегенерація належить до мультифакторіальних захворювань. Провідними факторами ризику якої вважають:

Вік. Сучасні дослідження свідчать, що вік є головним фактором ризику розвитку ВДМ. Відмічено прямий кореляційний зв'язок між віком та частотою виникнення захворювання [9-11]. Так дослідження Beaver Dam Eye Study показали, що серед пацієнтів у віці 43–54 років захворюваність на ВДМ складала 4,2%, а у цієї ж групи через 10 років у осіб 75 років та старше підвищувалася до 46,2% [12].

Стать. Найбільш схильними до розвитку цього захворювання є жінки. Вчені вважають, що це, можливо, зумовлено більшою тривалістю життя жінок у порівнянні з чоловіками [13-14].

Спадковість. Результати досліджень [15, 16] показали підвищення ризику розвитку макулярної дегенерації до 50% у пацієнтів зі спадковими захворюваннями у порівнянні з 12% ризиком осіб, які не мають спадковості по цьому захворюванню. Проведені численні дослідження продемонстрували сімейний, спадковий характер процесу розвитку цього захворювання. Так, за даними авторів [17], у 20 % хворих на ВДМ обтяжений сімейний анамнез, що є важливим фактором ризику. Якщо захворювання зустрічалось у родичів першого покоління, було встановлено триразове зростання ризику розвитку ВДМ [17-18]. Крім того, ряд досліджень [19, 20] свідчив про сувору відповідність перебігу захворювання у монозиготних близнюків та внесок спадковості у виникнення ВДМ на рівні між 45% і 70%. На сьогодні внесок відомих локусів у розвиток захворювання складає приблизно 55% [18, 21]. Так, наприклад, J. M. Seddon наводить дані про клінічні прояви ВДМ у декількох поколіннях великої родини [21]. R. Klein з співавторами описали родину, що складалася з 21 особи, у 10 з яких була діагностована «суха» форма вікової дегенерації макули з фенотипічними проявами — множинні друзи та географічна атрофія ПЕС [22].

Етнічний фактор. Поширеність ВДМ серед представників різних етнічних груп неоднакова. Дані, отримані в дослідженнях Macular Photocoagulation Study і Baltimore Eye Study [23, 24], свідчать про те, що пізні стадії ВДМ у представників білої раси виявляються частіше, ніж у представників негроїдної раси. Результати демонстрували, що найчастіше ВДМ зустрічається у людей європейського походження, потім у вихідців з Азії, Латинської Америки, нарешті, Африки [25].

Механізми, які лежать в основі цього, досі невідомі, проте існує теорія, згідно з якою меланін захищає клітини ПЕС від накопичення ліпофусцину, який є маркером клітинного старіння і грає одну з провідних ролей в патогенезі захворювання [26, 27].

Куріння. Рядом вчених достовірно встановлено [10, 28], що куріння подвоює ризик розвитку ВДМ. При цьому велике значення має кількість викурених «пачко-років»: чим їх більше, тим шанси вище. У той час як припинення куріння може знижувати ймовірність розвитку ВДМ.

Рефракція. Аналіз результатів досліджень останніх років показав [29], що гіперметропія більше 0.75 діоптрій збільшує ризик ексудативної ВДМ до 2.5 разів.

Екстракція катаракти з імплантацією ІОЛ. Великий інтерес викликають дослідження Polack зі співавторами [30], які показали, що екстракція катаракти з імплантацією ІОЛ на одному оці у пацієнтів з двобічною ВДМ на ранніх стадіях через рік призводила до розвитку ексудативної ВДМ в 19.1% випадків, в той час як на неоперованому оці – лише в 4.3% [30].

Надлишкова дія сонячного світла. Результати досліджень [31, 32] свідчать, що фототоксичною для сітківки є короткохвильова частина спектру видимого світла, інфрачервоні та ультрафіолетові промені. Захист сітківки від фотоураження забезпечується за рахунок постійного відновлення світлочутливого зовнішнього сегменту фоторецепторів, системи антиоксидантного захисту та світлофільтруючої системи ока (рогівка, кришталік, макулярний пігмент, меланін). Послаблення чи порушення будь-якої ланки цієї збалансованої системи веде до дистрофічних змін в сітківці [32].

Іонізуюче випромінювання. Результати досліджень [29] підтвердили той факт, що під дією іонізуючого випромінювання відбуваються виражені зміни, перш за все, в хоріокапілярах та перикапілярних структурах судинної оболонки, порушуються основні обмінні та транспортні процеси між структурами хоріоретинального комплексу, що призводить до атрофії ПЕС та деструкції шару фоторецепторів, а в подальшому – до тотальної дистрофії сітківки [29]. В Україні погіршення

екологічної ситуації вчені пов'язують в першу чергу з ростом радіаційного фону внаслідок аварії на ЧАЕС.

Їжа. Теоретично дієта може впливати на розвиток ВДМ, зменшуючи окислювальне ураження сітківки. Рядом досліджень доведено позитивний вплив харчових добавок, що містять лютеїн, зеаксантин, цинк як профілактичних засобів розвитку ВДМ [33].

Системні фактори. До інших чинників ризику, які можуть сприяти виникненню ВДМ, відносять захворювання серцево-судинної системи (атеросклероз і артеріальна гіпертензія), незбалансоване харчування і гіперліпідемія [31]. За даними Т. Е. Clemons зі співавторами встановлено [31], що ризик розвитку ВДМ вище у людей, які надмірно вживають в їжу продукти, багаті насиченими жирами і холестерином. Доведено підвищення практично в 2 рази ризиків розвитку ВДМ при підвищеному вживанні холестерину і при курінні [34]. Крім того визначено [34], що клінічно виражений атеросклероз підвищує ризик ураження макули у 3 рази, а гіпертонічна хвороба – у 7 разів. Показана роль атеросклеротичних бляшок в загальній сонній артерії, які збільшують частоту розвитку ВДМ в 2,5 рази, в той же час бляшки в ділянці біфуркації сонних артерій підвищують такий ризик в 4,7 рази [34].

В останні роки збільшилася кількість публікацій [18, 20, 25, 29], які присвячені вивченню однієї з основних ланок патогенезу ВДМ – первинних генетичних дефектів при цій патології. Але в даний час вплив генів на розвиток захворювання остаточно не з'ясовано та потребує більш детального визначення. Складність виявлення генетичних мутацій, яка зумовлена особливостями розвитку ВДМ, потребує подальшого дослідження із залученням декількох поколінь та нових сучасних методик, що дозволить робити обґрунтовані висновки. Крім того, слід пам'ятати щодо фенотипічної неоднорідності ВДМ, яка також може викликати додаткові труднощі. Не завжди генетичні дослідження спроможні однозначно встановити конкретний ген або групу генів, особливо якщо в аналіз включені всі форми ВДМ. Відомо [35], що біля 50 генів можуть вплинути на розвиток вікової дегенерації макули. Для виявлення точної ділянки генома, який відіграє важливу

роль в патогенезі ВДМ, вчені використовували різні підходи, але лише у кількох з генів було визначено вирогідну асоціацію з розвитком і прогресуванням захворювання [35, 36]. Протягом перших досліджень вченими були вивчені гени, які брали участь у розвитку спадкових макулярних дистрофій, подібних до ВДМ за клінічними проявами [18, 35-36]. Дані щодо наявності асоціацій поліморфізмів цих генів з розвитком ВДМ залишаються суперечливими, а результати досліджень різнобічні та дискусійні. Загалом, такі положення доводять патогенетичну значущість та розкривають механізми впливу поліморфних алелей на виникнення та тяжкість проявів захворювання.

Таким чином, враховуючи результати досліджень багатьох авторів світових наукових шкіл [18, 20, 25, 28, 29], актуальним та своєчасним є визначення ключових показників ліпідограми та показників загального аналізу крові у пацієнтів з ВДМ, які досить легко можна визначити при амбулаторно-поліклінічній допомозі при первинному скринінгу пацієнтів, що дозволить сформувати дієвий алгоритм моніторингу пацієнтів з цією патологією.

5.1. Визначення факторів ризику розвитку ВДМ з ураженням одного або обох очей

Як свідчать результати клінічних досліджень останніх років [37-39], поліморфні варіанти генів, які мають відношення до розвитку ВДМ, сприяють найшвидшому залученню у патологічний процес парного ока [40].

При проведенні дослідження нами було виконано порівняння розподілу генотипів та алелей з ураженням одного або обох очей (табл. 5.1) серед пацієнтів основної групи.

Аналіз отриманих даних показав (табл.5.1), що всі досліджені поліморфізми мають значущий зв'язок із двобічним ураженням при ВДМ. Особливо це стосувалося rs800292 гена CFH: ризик двобічного ураження для носіїв мінорної гомозиготи А/А був збільшений у 19,2 рази (OR=19,24; 95% ВІ 6,01-61,61). Мінорна гомозигота А/А поліморфізму rs699947 гена VEGFA підвищувала такий ризик у 7,4 рази (OR=7,38; 95% ВІ 2,19-24,82), мінорна гомозигота С/С поліморфізму rs2010963

гена VEGFA – у 3,6 рази (OR=3,58; 95% BI 1,23-10,41) і мінорна гомозигота T/T поліморфізму rs10490924 гена ARMS2 – у 1,8 рази (OR=1,84; 95% BI 0,36-9,46). Для останнього поліморфізму зв'язок з двобічним ураженням мала також гетерозигота G/T, яка підвищувала його ризик у 4,0 рази (OR=4,00; 95% BI 0,88-18,21) [40].

Таблиця 5.1

Значущість відмінностей (р за критерієм χ^2) в розподілі генотипів та алелей поліморфізмів між пацієнтами, які мають ВДМ на одному оці або на обох очах, ступінь асоціації генотипів з ураженням одного або обох очей (OR) при вірогідному інтервалі 95%, n= 144

Генотипи	Фактори, між якими проводили аналіз					
	2 ока	1 око	χ^2	р	OR	
					знач.	95% CI
ARMS2 rs10490924						
G/G	0,000	0,270	6,49	0,04	0,07	0,00-1,24
G/T	0,889	0,667			4,00	0,88-18,21
T/T	0,111	0,063			1,84	0,36-9,46
CFH rs800292						
G/G	0,056	0,429	37,18	9,0E-9	0,08	0,01-0,61
G/A	0,222	0,452			0,35	0,11-1,11
A/A	0,722	0,119			19,24	6,01-61,61
VEGFA rs2010963						
G/G	0,111	0,325	7,38	0,02	0,26	0,06-1,18
G/C	0,500	0,524			0,91	0,34-2,44
C/C	0,389	0,151			3,58	1,23-10,41
VEGFA rs699947						
C/C	0,000	0,254	16,37	0,0003	0,08	0,00-1,34
C/A	0,667	0,683			0,93	0,33-2,66
A/A	0,333	0,063			7,38	2,19-24,82

Предкові гомозиготи знижували ризик двобічного ураження у 14,3 рази (поліморфізм rs10490924 гена ARMS2), у 12,5 раза (поліморфізми rs800292 гена CFH і rs699947 гена VEGFA) та у 3,8 раза (поліморфізми rs2010963 гена VEGFA)[40].

Таким чином, отримані результати нашого дослідження свідчили, що мінорні гомозиготні генотипи всіх досліджених поліморфізмів суттєво збільшували ризик двобічного ураження при ВДМ, тоді як предкові гомозиготи такий ризик суттєво зменшували.

5.2. Математичне моделювання ймовірності розвитку ВДМ

У процесі дослідження для з'ясування діагностичної значущості генетичного поліморфізму та прогнозування розвитку ВДМ були використані метод побудови і аналізу логістичних моделей регресії та побудови таблиць спряженості, які дозволили визначати ймовірність розвитку ВДМ та її форм за даними генотипування і прогнозувати вік розвитку ВДМ з урахуванням генотипу і клініко-лабораторних даних.

Для аналізу як факторні ознаки були використані наступні показники: результати генотипування генів ARMS2 (rs10490924), CFH (rs800292), VEGFA (rs2010963 і rs699947). Для виявлення ознак (факторів), які найбільш пов'язані з ризиком розвитку ВДМ було використано метод покрокового виключення. Результующою ознакою служив показник відсутності – «N» (група порівняння) або наявності – «Y» (основна група) ВДМ [41]. Для моделювання вірогідності розвитку ВДМ ($P_{\text{ВДМ}}$) ми використовували індикаторні значення змінних, характеристика яких наведена в таблиці 5.2.

Крім того, для відбору предикторів, які мали найбільший внесок у прогнозування ймовірності розвитку ВДМ, ми провели аналіз результуючих показників з використанням Wald-статистики, а також статистичної значущості їх відмінності порівняно з нульовою гіпотезою для формування/побудови регресійної моделі [41]. Результати аналізу наведені в табл. 5.3.

Таблиця 5.2

**Відповідність факторних ознак категоріальним і індикаторним змінним у
рівнянні регресії**

Показники	Категоріальне значення	Індикаторні значення	Назва змінних регресії	Застосовується
ARMS2 (rs10490924)	G/G	101	G ₁	індикаторне значення
	G/T	102		
	T/T	103		
CFH (rs800292)	G/G	101	G ₂	індикаторне значення
	G/A	102		
	A/A	103		
VEGFA (rs2010963)	G/G	101	G ₃	індикаторне значення
	G/T	102		
	T/T	103		
VEGF (rs699947)	C/C	101	G ₄	індикаторне значення
	C/A	102		
	A/A	103		

Таблиця 5.3

**Значущість предиктора при моделюванні ймовірності розвитку ВДМ
та окремо «вологої» форми ВДМ**

Показники	ВДМ		«Волога» форма ВДМ	
	Wald	p	Wald	p
ARMS2 (rs10490924)	4,439	0,035	0,186	0,666
CFH (rs800292)	9,111	0,002	8,135	0,003
VEGFA (rs2010963)	11,202	0,001	0,741	0,389
VEGFA (rs699947)	0,758	0,384	8,545	0,003
Вільний показник	14,778	0,001	10,195	0,001

Примітка: Wald – результуючий показник Wald-статистики; p – значущість різниць показників з нульовою гіпотезою

Аналіз результатів свідчив (табл.5.3), що статистично значущий зв'язок з результирующим показником – наявністю ВДМ – показали індикаторні значення ARMS2 (rs10490924); CFH (rs800292) і VEGFA (rs2010963) при $p=0,035$; $p=0,002$ і $p=0,001$ відповідно. Враховуючи цей факт, при подальшому аналізі та побудові регресійного рівняння ці генотипи ми відібрали в якості предикторів [41].

Результат регресійного аналізу – β -коефіцієнти логістичної регресії та їх значущість у порівнянні з нульовою гіпотезою представлені в табл. 5.4.

Таблиця 5.4

Коефіцієнти логістичної регресії та їх значущість для залежної змінної Р_{вдм}

Показники	β -коефіцієнт	$\pm SE_{\beta}$	95% BI	p
ARMS2 (rs10490924)	0,579	0,277	0,037 – 1,122	0,036
CFH (rs800292)	0,691	0,236	0,227 – 1,154	0,003
VEGFA (rs2010963)	0,803	0,242	0,329 – 1,277	0,001
Вільний показник	-210,166	44,909	- (298,187 – 122,146)	3,00E-06

Примітки: β – коефіцієнт регресії; $\pm SE_{\beta}$ – помилка коефіцієнта регресії; p – значущість відмінностей коефіцієнтів регресії від нульової гіпотези

Таким чином, індикаторні значення генотипів ARMS2 (rs10490924), CFH (rs800292) і VEGFA (rs2010963) мали прямий статистично значущий зв'язок з вірогідністю розвитку ВДМ при $p=0,036$; $p=0,003$ і $p=0,001$ відповідно.

Використовуючи значення результатів генотипування, ми побудували модель визначення ймовірності розвитку ВДМ, крива характеристики якої наведена на рисунку 5.1.

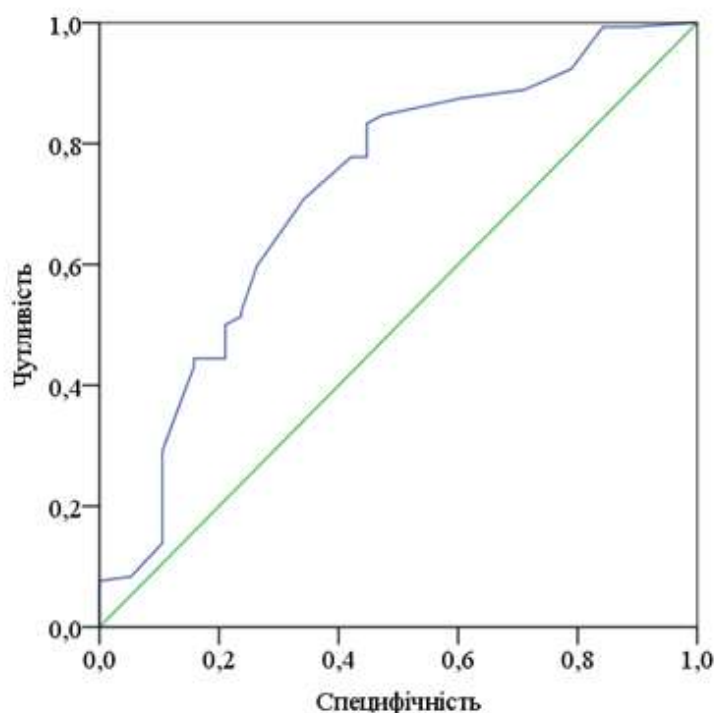


Рис. 5.1. ROC-крива логістичної регресійної моделі визначення

Характер ROC-кривої (рис.5.1) свідчить про адекватність розрахованої нами регресійної моделі. Для визначення значимого зв'язку між ризиком розвитку ВДМ і генотипами пацієнта була розрахована площа під ROC-кривою, яка дорівнювала: $AUC=0,719\pm0,049$ при $95\% \text{ BI}=0,622-0,815$ та статистично значимо відрізнялася від 0,5 (значення, яке прийнято для нульової гіпотези; $p=3,50\times10^{-05}$), що підтверджувало значимість моделі та можливість застосування її для прогнозування ризиків розвитку ВДМ [41].

Для визначення ступенів ризику в запропонованій нами моделі визначення ймовірності розвитку ВДМ було розроблено наступну формулу (ф.1) [41]:

$$P_{\text{ВДМ}} = 1 / (1 + e^{(201,166 - 0,579 \cdot G_1 - 0,691 \cdot G_2 - 0,803 \cdot G_3)}) \quad (\text{ф.1}),$$

де $P_{\text{ВДМ}}$ – ймовірність розвитку ВДМ; G_1 - G_3 – індикаторні значення відповідних генотипів (табл. 5.2).

Крім того, аналізуючи отримані результати, ми оцінювали баланс між чутливістю і специфічністю розробленої нами регресійної моделі порівняно з фактичною наявністю або відсутністю ВДМ у пацієнтів, які взяли участь у

дослідженні. Результат аналізу представлено на діаграмі, яка відображена на рисунку 5.2.

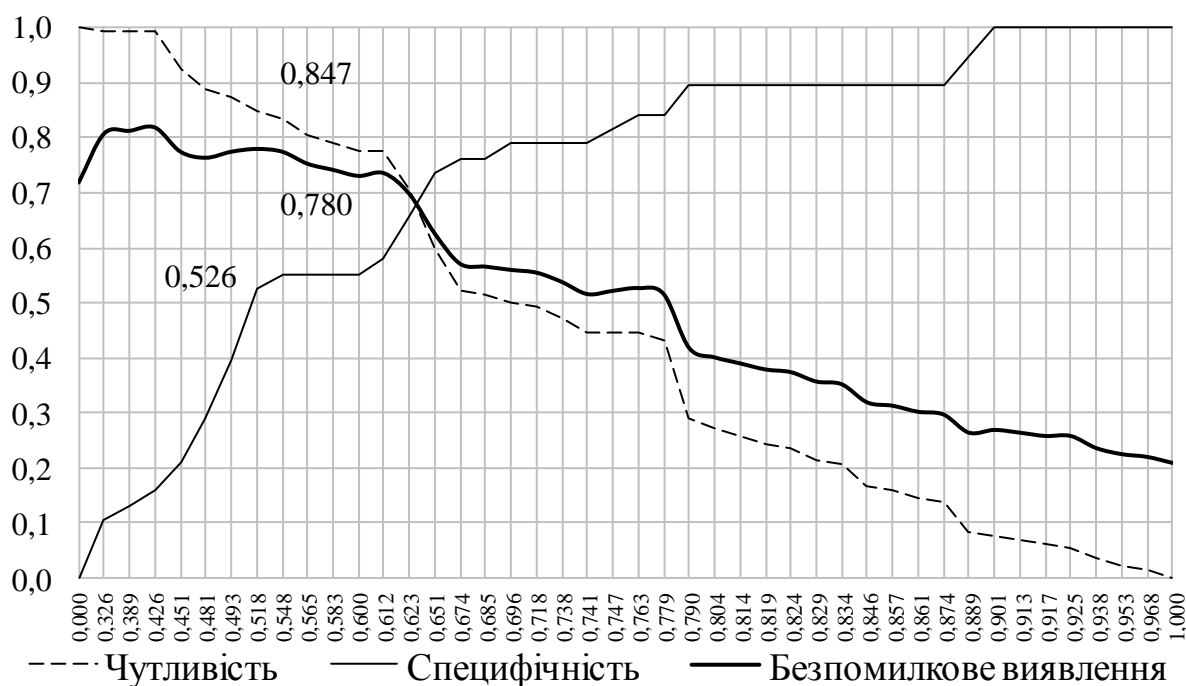


Рис. 5.2. Залежність чутливості та специфічності регресійної моделі від ймовірності розвитку ВДМ ($P_{ВДМ}$)

Аналіз діаграми, а також класифікація результатів за порівняльним аналізом розрахункових і фактичних даних свідчать, що в точці $P_{ВДМ} > 0,493$ досягнутий оптимальний баланс між тією величиною, що безпомилково виявляє патологію і відповідністю прогнозованих результатів фактичним: позитивним і негативним. При обраному критичному значенні тесту його чутливість склала 78,0%, специфічність – 84,7% і точність – 81,4% ($OR=6,162$; $LogOR=1,818$) [41].

Таким чином, застосування розрахунку вірогідності розвитку ВДМ з використанням розробленої нами формули (ф.1) по індикаторним значенням генотипів ARMS2 (rs10490924); CFH (rs800292) і VEGFA (rs2010963) може з безпомилковим прогнозом у 78,0% випадків підтвердити розвиток ВДМ.

5.3. Математичне моделювання ймовірності розвитку «вологої» форми ВДМ

Крім того, під час проведення досліджень, використовуючи аналіз логістичних моделей регресії та побудови таблиць спряженості за результатами генотипування, ми аналізували фактори, що були найбільш пов'язані з ризиком розвитку «вологої» форми ВДМ. Як факторні ознаки були використані результати генотипування генів ARMS2 (rs10490924), CFH (rs800292), VEGFA (rs2010963 і rs699947). Логістична модель регресії була побудована на основі результатів дослідження 144 пацієнтів основної групи [41].

Під час проведення аналізу як результуючу ознаку було використано показник відсутності – «N» (2-а група) або наявності – «Y» (3-я група) «вологої» форми ВДМ. Використовуючи Wald-статистику, ми провели аналіз результуючих показників і відібрали предиктори, які мали найбільший вклад в прогнозування ймовірності розвитку «вологої» форми ВДМ. Враховуючи статистичну значущість їх відмінності порівняно з нульовою гіпотезою (табл.5.3), була сформована регресійна модель.

Як показали результати аналізу (табл.5.3), статистично значущий зв'язок з результуючим показником наявності «вологої» форми ВДМ у пацієнтів виявили індикаторні значення поліморфізмів: CFH (rs800292) і VEGFA (rs699947) з $p=0,003$ в обох випадках. Ці показники генотипування були відібрані нами як предиктори для побудови регресійної моделі визначення ймовірності розвитку «вологої» форми ВДМ [41], крива характеристика якої наведена на рисунку 5.3.

Результат регресійного аналізу – β -коефіцієнти логістичної регресії та їх значущість у порівнянні з нульовою гіпотезою – представлені в таблиці 5.5.

Таким чином, індикаторні значення генотипів CFH (rs800292) і VEGFA (rs699947) мали прямий статистично значущий зв'язок з ймовірністю розвитку «вологої» ВДМ при $p=0,003$ для обох генотипів.

Операційні характеристики діаграми (рис.5.3) є свідченням адекватності розробленої регресійної моделі і підтверджують наявність значущого зв'язку між ризиком розвитку «вологої» форми ВДМ і генотипами пацієнта CFH (rs800292) і VEGFA (rs699947) [41].

Таблиця 5.5

Коефіцієнти логістичної регресії та їх значущість для залежної змінної $P_{\text{ВДМ-вол}}$

Показники	β коеф.	$\pm SE_{\beta}$	95% BI	p
CFH (rs800292)	0,455	0,068	-0,046 – 0,955	0,003
VEGFA (rs699947)	1,108	0,379	0,365 – 1,851	0,003
Вільний показник	-198,012	62,014	-(319,557 – 76,466)	0,001

Примітка: β – коефіцієнт регресії; $\pm SE_{\beta}$ – помилка коефіцієнта регресії; p – значущість відмінностей коефіцієнтів регресії від нульової гіпотези

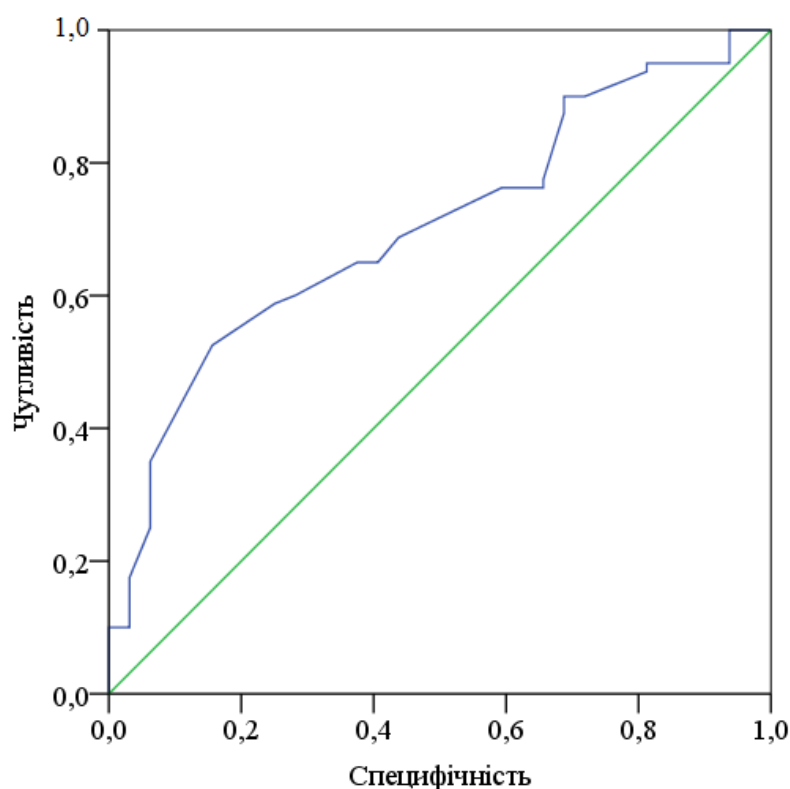


Рис. 5.3. ROC-крива логістичної регресійної моделі визначення ймовірності розвитку «вологоді» форми ВДМ ($P_{\text{ВДМ-вол}}$) за результатами генотипування

Площа під ROC-кривою дорівнювала: $AUC=0,704\pm0,043$ при $95\% \text{ BI}=0,619-0,788$, що статистично значимо відрізнялося від 0,5 (значення, яке прийнято для нульової гіпотези; $p=2,8\times10^{-05}$).

Слід також зазначити, що для встановлення ступенів ризику в розробленій нами моделі визначення ймовірності розвитку «вологої» форми ВДМ була запропонована наступна формула (ф.2) [41]:

$$P_{\text{ВДМ-вол}} = 1 / (1 + e^{(198,012 - 0,455 \cdot G_2 - 1,108 \cdot G_4)}) \quad (\text{ф.2}),$$

де $P_{\text{ВДМ-вол}}$ – ймовірність розвитку «вологої» форми ВДМ; G_2 і G_4 – індикаторні значення відповідних генотипів (табл. 5.2).

Під час дослідження ми також оцінювали баланс між чутливістю і специфічністю розробленої регресійної моделі порівняно з фактичною наявністю або відсутністю «вологої» форми ВДМ у пацієнтів основної групи [41]. Результати аналізу представлено на діаграмі (рис.5.4).

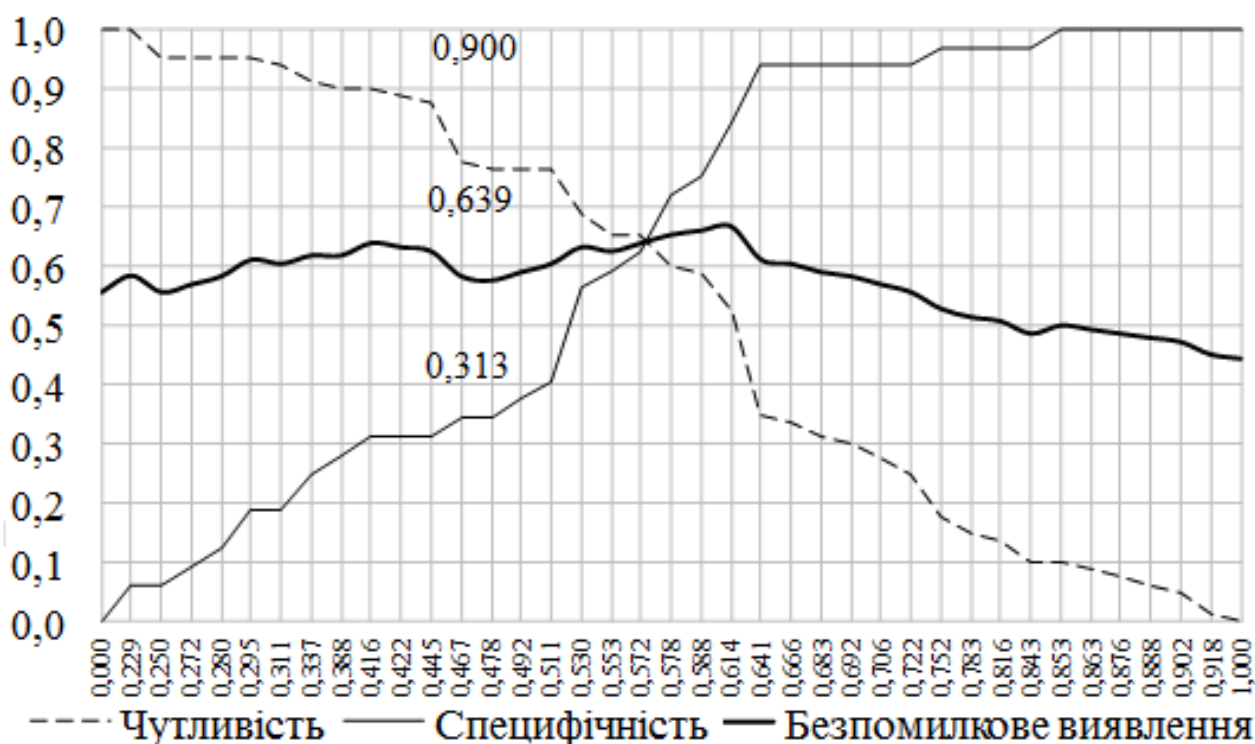


Рис. 5.4. Залежність чутливості та специфічності регресійної моделі від ймовірності розвитку «вологої» форми ВДМ ($P_{\text{ВДМ-вол}}$)

Проведений класифікаційний аналіз результатів регресійної моделі у порівнянні розрахункових і фактичних даних показав, що в точці $P_{\text{ВДМ-вол}} > 0,416$ досягнуто оптимальний баланс між безпомилковим виявленням «вологодії» форми ВДМ і відповідністю прогнозованих результатів фактичним. При обраному критичному значенні тесту його чутливість склала 63,9%, специфічність – 90,0% і точність – 76,9% ($OR=1,926$; $\text{LogOR}=0,656$) [41].

Таким чином, застосування розрахунку вірогідності розвитку «вологодії» форми ВДМ з використанням розробленої нами формули (ф.2) за індикаторними значеннями генотипів CFH (rs800292) і VEGFA (rs699947) може з безпомилковим прогнозом у 63,9% випадків підтвердити розвиток «вологодії» форми ВДМ.

5.4. Математична модель прогнозування «віку розвитку ВДМ»

Під час проведення досліджень ми ставили перед собою завдання розробити спосіб прогнозування віку розвитку ВДМ. Для цього було проведено багатофакторний регресійний аналіз клініко-лабораторних показників у пацієнтів, які могли бути доступні для дослідження у період, що передував розвитку ВДМ. До них було залучено показники, які залишаються незмінними в ході усього життя – результати генотипування ARMS2 (rs10490924), CFH (rs800292), VEGFA (rs2010963 і rs699947) та їх гаплотипи, а також показники, що характеризують соціально-побутові і анамнестичні дані: «стать», «операції і травми очей», а також «куріння», «місце проживання» (місто чи село), «заняття спортом», «вживання алкоголю», «тривала інсоляція», «раціональне харчування», «артеріальна гіпертензія», «робота з іонізуючим випромінюванням».

Для вирішення цього завдання до подальшого аналізу були додані результати обстеження пацієнтів усіх трьох груп, 182 пацієнта. Як результуюча ознака використана кількісна змінна – «вік пацієнта». Як факторні ознаки обрані результати генотипування ARMS2 (rs10490924), CFH (rs800292), VEGFA (rs2010963 і rs699947), їх гаплотипи, а також перераховані вище соціально-побутові і анамнестичні дані. Під час побудови регресійних моделей здійснено перетворення категоріальних величин в індикаторні змінні. Результати перетворення генотипів наведені в таблиці 5.2. Характеристики конвертацій інших змінних – в таблиці 5.6.

Таблиця 5.6.

**Відповідність факторних ознак категоріальним і індикаторним змінним
та їх застосування як змінних у рівняннях регресії**

Показники	Категоріальне значення	Індикаторні значення	Назва змінних регресії	Застосовується, як:
Генотипи	див. табл. 5.2	101-103	G_{1-3}	індикаторне значення
ІМТ	-	-	X_1	кількісне значення
Стать	чоловіча	1	X_2	індикаторне значення
	жіноча	2		
Місце проживання	місто	1	X_3	індикаторне значення
	село	2		
Куріння	ні	0	X_4	індикаторне значення
	так	1		
Вживання алкоголю	ні	0	X_5	індикаторне значення
	так	1		
Заняття спортом	ні	0	X_6	індикаторне значення
	так	1		
Раціональне харчування	ні	0	X_7	індикаторне значення
	так	1		
Тривала інсоляція	ні	0	X_8	індикаторне значення
	так	1		
Робота з іоніз. випромінюв.	ні	0	X_9	індикаторне значення
	так	1		
Артеріальна гіпертензія	ні	0	X_{10}	індикаторне значення
	так	1		
Операції, травми очей	ні	0	X_{11}	індикаторне значення
	так	1		

Для відбору чинників, які мають найбільший зв'язок з віком пацієнтів було проведено множинний лінійний регресійний аналіз. Графічне відображення значущості і вірогідності коефіцієнтів регресії відібраних предикторів представлено на діаграмі Парето (рис. 5.5).

Як видно на діаграмі (рис.5.5), як предиктори регресійної моделі були відібрані наступні чинники: «індекс маси тіла (IMT)» ($t=-2,27$; $p=0,024$); ARMS2 ($t=-2,27$; $p=0,024$); «стать» ($t=-2,31$; $p=0,022$); «місце проживання» ($t=-3,23$; $p=0,001$); «куріння» ($t=-2,20$; $p=0,029$); «заняття спортом» ($t=2,61$; $p=0,010$); «вживання алкоголю» ($t=-2,04$; $p=0,043$); «операції і травми очей» ($t=5,15$; $p<0,0001$); «артеріальна гіпертонія» ($t=4,04$; $p<0,0001$); «робота з іонізуючим випромінюванням» ($t=-2,60$; $p=0,010$) [41].

Результати визначення величин коефіцієнтів регресії (β) для відібраних предикторів, а також значущість їх відмінностей порівняно з нульовою гіпотезою представлені в таблиці 5.7.

Завдяки аналізу основних характеристик множинної лінійної регресії нами була побудована формула для розрахунку результуючої змінної «вік розвитку ВДМ» (ф.3) [41].

$$\text{Вік розвитку ВДМ} = 149,56 - 0,387 * X_1 - 0,678 * G_1 - 5,640 * X_2 - 1,864 * X_3 - 4,791 * X_4 - 1,660 * X_5 + 2,316 X_6 - 5,163 * X_8 + 5,067 * X_{10} + 6,054 * X_{11} \quad (\text{ф.3}),$$

де назви змінних і їх індикаторні значення відповідають даним, наведеним в таблицях 5.2 та 5.6.

Графічне відображення взаємовідносин між фактичним і розрахованим віком розвитку ВДМ, який було розраховано завдяки застосуванню розробленої нами формули (ф.3), представлено на рисунку 5.6.

Таким чином, розроблена нами формула прогнозування віку розвитку ВДМ (ф.3) з високим ступенем вірогідності (коефіцієнт множинної кореляції $r=0,73$; коефіцієнт детермінації $R_2=0,54$ ($F=16,94$; $p<0,0001$)) дозволяє визначити ймовірний вік розвитку ВДМ у кожного конкретного пацієнта [41].



Рис. 5.5. Діаграма Парето: коефіцієнти Стюдента (t) – по горизонтальній вісі відсортовано за зниженням коефіцієнтів регресії предикторів для залежної змінної «вік розвитку ВДМ». Межа значущості (p=0,05) зображена червоною лінією

Таблиця 5.7

Результат регресійного аналізу для залежної змінної «вік розвитку ВДМ»

Показники	Змінна	$\beta \pm SE$	t	p
Вільний показник		149,56±66,96	3,609	3,52E-04
ІМТ	X ₁	-0,387±0,164	-2,357	0,020
ARMS2	G ₁	-0,678±0,104	-2,258	0,025
Стать	X ₂	-5,640±1,626	-3,468	0,001
Місце проживання	X ₃	-1,864±0,885	-2,354	0,021
Куріння	X ₄	-4,791±2,23	-2,145	0,034
Вживання алкоголю	X ₅	-1,660±0,907	-2,990	0,003
Заняття спортом	X ₆	2,316±0,877	3,150	0,002
Робота з іонізуючим випромінюванням	X ₉	-5,163±2,505	-2,061	0,041
Артеріальна гіпертонія	X ₁₀	5,067±1,553	3,262	0,001
Операції, травми очей	X ₁₁	6,054±1,351	4,479	1,60E-05

Примітки: β – коефіцієнт регресії; SE – стандартна помилка β ; t – критерій Стюдента; p – статистична значущість

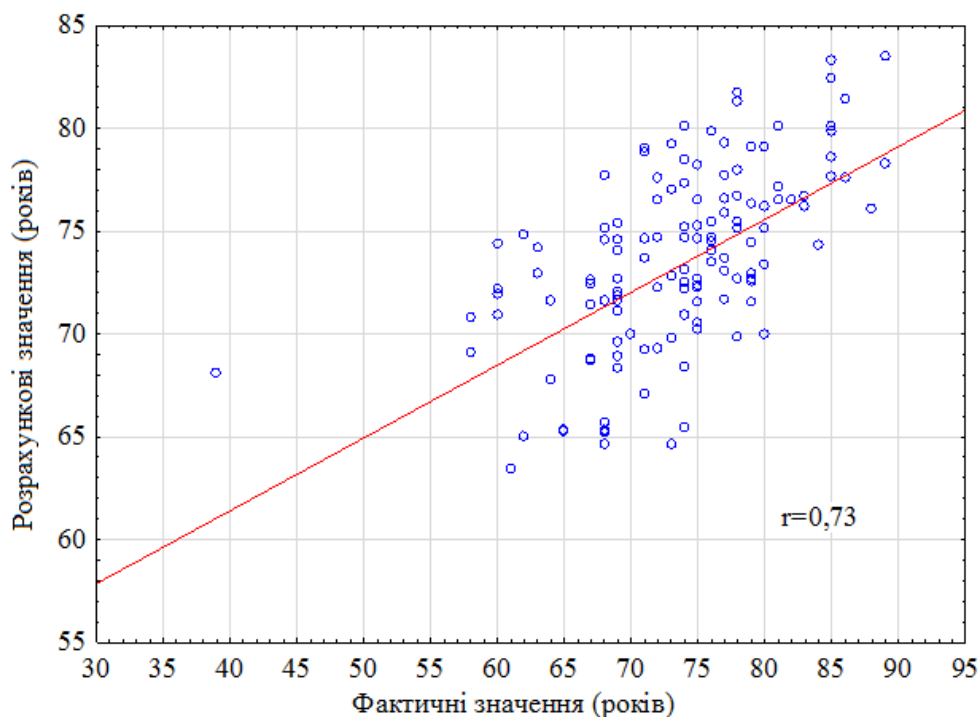


Рис.5.6. Фактичні значення (зображені колами) і розрахункові значення (зображені червоною лінією) віку розвитку ВДМ (років)

Згідно з моделлю та результатами проведеного нами дослідження, до впливових факторів на вік розвитку ВДМ увійшли 10 показників (змінних). Серед них найбільший вплив на вік розвитку ВДМ має генотип rs10490924 ARMS2 пацієнта. Так, при мінімальній величині його індикаторного значення (101) прогнозований вік без урахування інших факторів складає 91,1 роки, тоді як при максимальній величині (103) – 89,7 роки. На другому місці за впливом на вік розвитку ВДМ постає ІМТ, наприклад, при ожирінні I стадії ($\text{ІМТ}=30 \text{ кг/м}^2$) вік розвитку ВДМ «омолоджується» на 11,6 роки [41].

Зменшують вік розвитку ВДМ також жіноча стать (на 1,1 роки), проживання у сільській місцевості (на 3,7 роки), куріння (на 4,8 роки), вживання алкоголю (на 1,7 роки), робота з іонізуючим випромінюванням (на 5,2 роки). На противагу цьому, заняття спортом (на 2,3 роки), артеріальна гіпертензія (на 5,1 роки) та операції, травми очей (на 6,05 роки) збільшують прогнозований вік розвитку ВДМ [41].

При розрахунку прогнозованого віку розвитку ВДМ та порівнянні його з

фактичним для пацієнтів, які були залучені до даного дослідження (табл. 5.8), були отримані майже ідентичні результати (фактичний вік – $73,83 \pm 0,48$ років; розрахований – $73,83 \pm 0,29$ років; $pW=0,27$) [41].

Таблиця 5.8

Результати статистичного аналізу результуючих характеристик регресійної моделі прогнозування віку розвитку ВДМ

Вік ВДМ, роки	Фактичні	Розраховані	Залишки	pW
M±m	$73,83 \pm 0,48$	$73,83 \pm 0,29$	$-1,06E-07 \pm 0,39$	0,27
Min	39,00	62,98	-28,93	
Max	89,00	85,17	11,95	
Med	74,00	73,25	0,46	
95% BI	62,00-85,00	62,54-79,97	-10,42-8,28	
Quartile, low-up	68,50-78,00	70,12-76,05	-3,14-3,23	

Примітки: M±m – середнє значення і стандартна помилка середньої; Min і Max – мінімальне і максимальне значення варіаційних рядів відповідно; Med – медіана варіаційного ряду; Quartile, low-up – нижній і верхній квантилі; pW – непараметричний критерій для оцінки відмінностей залежних змінних

Для прикладу проведемо розрахунок прогнозу віку розвитку ВДМ у гіпотетичного хворого, використовуючи запропоновану формулу 3, результати розрахунку наведено в таблиці 5.9.

Таблиця 5.9

Гіпотетичний приклад розрахунку прогностичного віку розвитку ВДМ

Показники	Категоріальне значення	Індикаторні значення	Значення змінних у моделі	Величина для розрахунку
Генотип ARMS2 rs10490924	G/T	102	- 0,678*G ₁	-69,16
ІМТ, кг/м ²	-	31	- 0,387*X ₁	-12,00
Стать	чоловіча	1	- 0,564*X ₂	-0,56
Місце проживання	місто	1	- 1,864*X ₃	-1,86
Паління	так	1	- 4,791*X ₄	-4,79
Вживання алкоголю	так	1	- 1,660*X ₅	-1,66
Заняття спортом	ні	0	+ 2,316*X ₆	0
Робота з іоніз. випромінюв.	ні	0	- 5,163*X ₉	0
Артеріальна гіпертензія	так	1	+ 5,067*X ₁₀	+5,07
Операції, травми очей	ні	0	+ 6,054*X ₁₁	

ВСЬОГО

64,6

Припустімо, що чоловік з генотипом ARMS2 rs10490924 G/T, ІМТ=31 кг/м², мешкає у місті, курить, вживає алкоголь, не займається спортом, не працював з іонізуючою радіацією, має артеріальну гіпертензію та протягом життя не мав очних операцій та травм. За наведеним розрахунком (ф.3), прогнозований вік розвитку ВДМ у цього хворого дорівнює 64,6 років [41].

5.5. Розподіл гаплотипів вивчених поліморфізмів у групах хворих та їх зв'язок з ВДМ та її формами

Враховуючи чисельні дані результатів інших дослідників щодо наявності зв'язку гаплотипів, які містять алелі ризику, з виникненням та тяжкістю перебігу

ВДМ [42-44], в нашому дослідженні ми проаналізували розподіл гаплотипів вивчених поліморфізмів у групах хворих та вивчили їх зв'язок з формами ВДМ.

Аналізуючи результати за порядком подання матеріалу генотипи у гаплотипі завжди чергували таким чином: rs10490924 гена ARMS2 – rs800292 гена CFH – rs2010963 гена VEGFA – rs966647 гена VEGFA.

Теоретично можливими при наявності гаплотипу з чотирьох поліморфізмів є наявність 81 їх варіанта (3^4). У нашому дослідженні у всіх пацієнтів виявлено 39 варіантів.

У контрольній групі визначено 14 варіантів, з яких найчастішими були п'ять: G/G-G/G-G/C-C/A та G/T-G/G-G/G-C/C (по 13,2%), G/G-G/G-G/G-C/A, G/T-G/G-G/C-C/A та G/T-G/A-G/G-C/A (по 10,5%).

У хворих з ВДМ виявлено 38 варіантів гаплотипу, найчастішими з яких були шість: G/T-G/A-G/C-C/A (13,9%), G/T-G/G-G/C-C/A (11,1%), G/G-G/A-G/C-C/A (7,6%), G/T-G/G-G/G-C/A та G/T-G/A-G/G-C/A (кожний по 6,9%) та G/T-A/A-G/C-C/A (5,6%).

У хворих з «сухою» формою ВДМ виявлено 19 варіантів гаплотипу, найчастішими з яких було три: G/T-G/G-G/C-C/A (15,6%) та G/G-G/A-G/C-C/A і G/T-G/A-G/G-C/A (по 9,4%).

У хворих з «вологою» формою ВДМ виявлено 29 варіантів гаплотипу, найчастішими з яких були G/T-G/A-G/C-C/A (17,5%), G/T-G/G-G/G-C/A (10,0%), G/T-G/G-G/C-C/A та G/T-A/A-G/C-C/A (по 7,5%).

Враховуючи велике різноманіття та малочисельність виявлених гаплотипів, було проведено порівняння їх розподілу у групах за двостороннім точним методом Фішера та обчислення відношення шансів (OR) при ВІ 95%. Результати наведені в таблиці 5.10.

Отже, три гаплотипи значно частіше зустрічаються у контрольній групі, та, таким чином, мають доказово протективний ефект щодо розвитку ВДМ та її «вологої» форми (рис. 5.7).

Таблиця 5.10

Значущість відмінностей (р за точним методом Фішера) в розподілі гаплотипів та ступінь їх асоціації з формою ВДМ (OR) при вірогідному інтервалі 95%

Гаплотип	Фактори, між якими проводили аналіз						
	n	%	n	%	p _(Fet)	OR	BI 95%
	ВДМ		Контроль				
G/G-G/G-G/G-C/A	1	0,69%	4	10,53%	0,007	0,059	0,006 - 0,549
G/G-G/G-G/C-C/A	2	1,39%	5	13,16%	0,005	0,093	0,017 - 0,500
G/T-G/G-G/G-C/C	4	2,78%	5	13,16%	0,020	0,189	0,048 - 0,741
	«Суша» ВДМ		Контроль				
G/G-G/G-G/G-C/A	0	0,00%	4	10,53%	0,017	0,000	0,00 - N/A
	«Волога» ВДМ		Контроль				
G/G-G/G-G/G-C/A	1	1,25%	4	10,53%	0,037	0,108	0,012 - 0,999
G/G-G/G-G/C-C/A	0	0,00%	5	13,16%	0,003	0,000	0,00 - N/A
G/T-G/G-G/G-C/C	0	0,00%	5	13,16%	0,003	0,000	0,00 - N/A
	«Волога» ВДМ		«Суша» ВДМ				
G/G-G/G-C/C-C/C	0	0,00%	4	6,25%	0,037	0,000	0,00 - N/A
G/T-G/G-G/G-C/C	0	0,00%	4	6,25%	0,037	0,000	0,00 - N/A

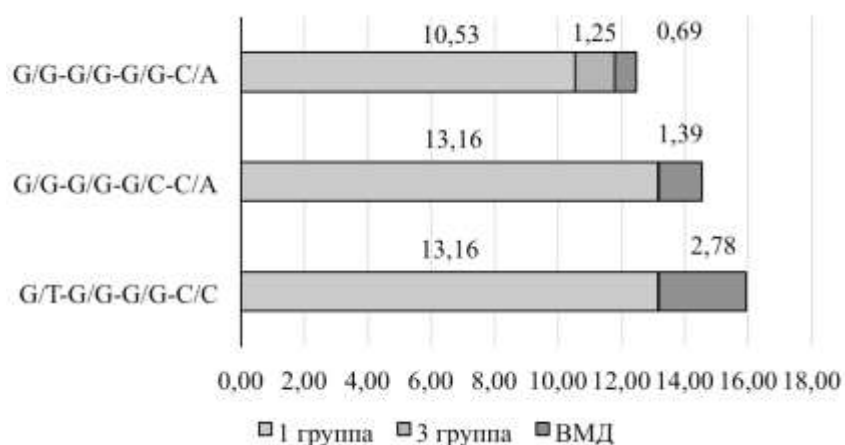


Рис.5.7. Розподіл між групами частот гаплотипів (у %), відмінності між якими були статистично значущі ($P_{Fet} < 0,05$) при $OR > 0$

До таких гаплотипів відносяться:

1. G/G-G/G-G/G-C/A, який знижує шанси розвитку ВДМ у 16,9 рази (OR=0,059; 95% BI 0,006-0,549);
2. G/G-G/G-G/C-C/A, який знижує шанси розвитку ВДМ у 10,8 разів (OR=0,093; 95% BI 0,017-0,500);
3. G/T-G/G-G/G-C/C, який знижує шанси розвитку ВДМ у 5,3 рази (OR=0,189; 95% BI 0,048-0,741).

Тільки для «сухої» форми ВДМ були притаманні гаплотипи G/G-G/G-C/C-C/C та G/T-G/G-G/G-C/C, але розмір OR для них не відрізнялася від 0, тому це було припущенням, яке вимагало подальшого підтвердження при більш значній вибірці хворих.

Для більш наочного представлення значення гаплотипів для розвитку ВДМ в ході дослідження нами було проведено аналіз моделі логістичної регресії, що була побудована за вивченими поліморфізмами.

При побудові моделі було проаналізовано дані пацієнтів всіх трьох груп. Як результуючу ознаку використали відсутність (І група пацієнтів) або наявність (II та III групи пацієнтів) ВДМ, відповідно, індикаторні значення: «N=0» і «Y=1». Аналіз проводився з факторною ознакою «гаплотипи».

Наведені вище результати показали, що гаплотипи в усіх трьох групах представлені 39 поєднаннями генотипів, які виявлені при дослідженні вивчених поліморфізмів. Для виконання регресійного аналізу вироблено конвертацію категоріальної змінної «гаплотипи» в індикаторні значення. Результати перетворень наведені у таблиці 5.11.

Результат регресійного аналізу, отримані β -коефіцієнти логістичної регресії та їх статистична значущість (у порівнянні з нульовою гіпотезою) наведені в таблиці 5.12.

Адекватність регресії характеризує рисунок 5.8, на якому наведена операційна характеристика моделі.

Таблиця 5.11

**Відповідність факторної ознаки «гаплотипи» індикаторним змінним,
застосованим у регресійному аналізі**

Гаплотип	Індикаторне значення	Гаплотип	Індикаторне значення
G/G-G/G-G/G-C/C	101	G/T-G/A-G/C-C/A	121
G/G-G/G-G/G-C/A	102	G/T-G/A-G/C-A/A	122
G/G-G/G-G/C-C/C	103	G/T-G/A-C/C-C/C	123
G/G-G/G-G/C-C/A	104	G/T-G/A-C/C-C/A	124
G/G-G/G-C/C-C/C	105	G/T-G/A-C/C-A/A	125
G/G-G/A-G/G-C/C	106	G/T-A/A-G/G-C/C	126
G/G-G/A-G/G-C/A	107	G/T-A/A-G/G-C/A	127
G/G-G/A-G/C-C/A	108	G/T-A/A-G/C-C/C	128
G/G-G/A-C/C-C/A	109	G/T-A/A-G/C-C/A	129
G/G-A/A-G/G-A/A	110	G/T-A/A-G/C-A/A	130
G/G-A/A-G/C-C/A	111	G/T-A/A-C/C-C/A	131
G/T-G/G-G/G-C/C	112	G/T-A/A-C/C-A/A	132
G/T-G/G-G/G-C/A	113	T/T-G/G-G/G-C/A	133
G/T-G/G-G/C-C/C	114	T/T-G/G-G/C-A/A	134
G/T-G/G-G/C-C/A	115	T/T-G/A-G/C-A/A	135
G/T-G/G-C/C-C/C	116	T/T-G/A-C/C-A/A	136
G/T-G/G-C/C-C/A	117	T/T-A/A-G/G-C/A	137
G/T-G/A-G/G-C/C	118	T/T-A/A-C/C-C/C	138
G/T-G/A-G/G-C/A	119	T/T-A/A-C/C-A/A	139
G/T-G/A-G/C-C/C	120		

Таблиця 5.12

**Коефіцієнти логістичної регресії та їх статистична значущість
для залежної змінної ВДМ**

Показники	β коэфф.	$\pm SE_{\beta}$	Wald	95% BI	p
Гаплотипи	0,085	0,019	19,314	0,047-0,122	3,59E-05
Вільний показник	-9,079	2,197	17,072	-(13,385-4,772)	1,11E-05

Примітка: β – коефіцієнт регресії; $\pm SE_{\beta}$ – помилка коефіцієнта регресії; Wald – Wald-статистика; p – статистична значущість відмінностей коефіцієнтів регресії від 0 гіпотези

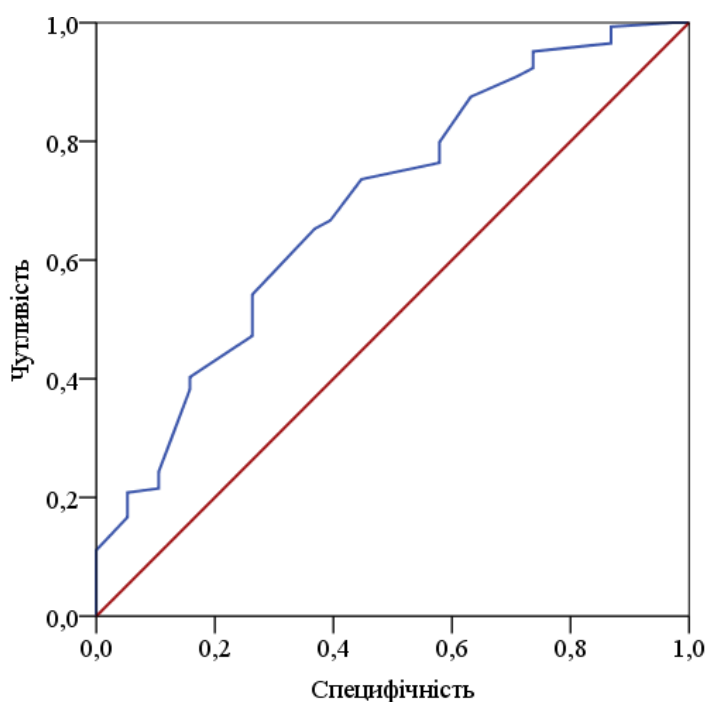


Рис.5.8. ROC-крива логістичної регресійної моделі визначення ймовірності розвитку ВДМ

Площа під кривою $AUC=0,693\pm0,048$ (95% ВІ 0,598-0,787), статистично значуще ($p=2,62e-04$) відрізняється від 0,5 (нульова гіпотеза), що підтверджує наявність зв'язку між ризиком розвитку ВДМ і гаплотипом пацієнта.

Ймовірність розвитку ВДМ в цій моделі може бути представлена у вигляді формули 4:

$$P_{\text{ВДМ}} = 1 / (1 + e^{(\beta_0 - \beta_1 * H)}) \quad (\text{ф.4}),$$

де: $P_{\text{ВДМ}}$ – ймовірність розвитку ВДМ; β_0 – коефіцієнт вільного показника; β_1 – коефіцієнт показника «гаплотип»; H – індикаторне значення показника «гаплотип».

Відповідність результуючої ознаки $P_{\text{ВДМ}}$ факторній ознаці «гаплотип» наведено у таблиці 5.13.

При аналізі розподілу гаплотипів залежно від відсутності та наявності ВДМ було визначено, що у пацієнтів з ВДМ (II і III групи) виявлено 10 гаплотипів з індикаторними значеннями 130-139 (табл. 5.13), які не зустрічалися у осіб контрольної групи (відмічені в таблиці темно-сірим кольором).

Таблиця 5.13

**Відповідність результуючої ознаки $R_{ВДМ}$ факторній ознаці «гаплотип» у
регресійному аналізі**

Гаплотип	$R_{ВДМ}$	Гаплотип	$R_{ВДМ}$
G/G-G/G-G/G-C/C	0,379	G/T-G/A-G/C-C/A	0,770
G/G-G/G-G/G-C/A	0,399	G/T-G/A-G/C-A/A	0,784
G/G-G/G-G/C-C/C	0,420	G/T-G/A-C/C-C/C	0,798
G/G-G/G-G/C-C/A	0,441	G/T-G/A-C/C-C/A	0,812
G/G-G/G-C/C-C/C	0,462	G/T-G/A-C/C-A/A	0,824
G/G-G/A-G/G-C/C	0,483	G/T-A/A-G/G-C/C	0,836
G/G-G/A-G/G-C/A	0,504	G/T-A/A-G/G-C/A	0,848
G/G-G/A-G/C-C/A	0,525	G/T-A/A-G/C-C/C	0,858
G/G-G/A-C/C-C/A	0,546	G/T-A/A-G/C-C/A	0,868
G/G-A/A-G/G-A/A	0,567	G/T-A/A-G/C-A/A	0,878
G/G-A/A-G/C-C/A	0,588	G/T-A/A-C/C-C/A	0,887
G/T-G/G-G/G-C/C	0,608	G/T-A/A-C/C-A/A	0,895
G/T-G/G-G/G-C/A	0,629	T/T-G/G-G/G-C/A	0,903
G/T-G/G-G/C-C/C	0,648	T/T-G/G-G/C-A/A	0,910
G/T-G/G-G/C-C/A	0,667	T/T-G/A-G/C-A/A	0,917
G/T-G/G-C/C-C/C	0,686	T/T-G/A-C/C-A/A	0,923
G/T-G/G-C/C-C/A	0,704	T/T-A/A-G/G-C/A	0,929
G/T-G/A-G/G-C/C	0,721	T/T-A/A-C/C-C/C	0,934
G/T-G/A-G/G-C/A	0,738	T/T-A/A-C/C-A/A	0,939
G/T-G/A-G/C-C/C	0,754		

Використовуючи побудовану модель, ми розрахували ймовірність розвитку ВДМ у пацієнтів з цими гаплотипами, яка була більше 0,868. Інші гаплотипи мали місце в усіх досліджуваних групах. У зв'язку з цим для знаходження оптимальної точки відсікання значень $P_{ВДМ}$, що підтверджують або заперечують наявність ВДМ у пацієнта, було проведено оцінку балансу між чутливістю і специфічністю розробленої регресійної моделі порівняно з фактичною наявністю або відсутністю ВДМ у досліджуваних групах. Результат аналізу представлений у вигляді діаграми, яка відображена на рисунку 5.9.

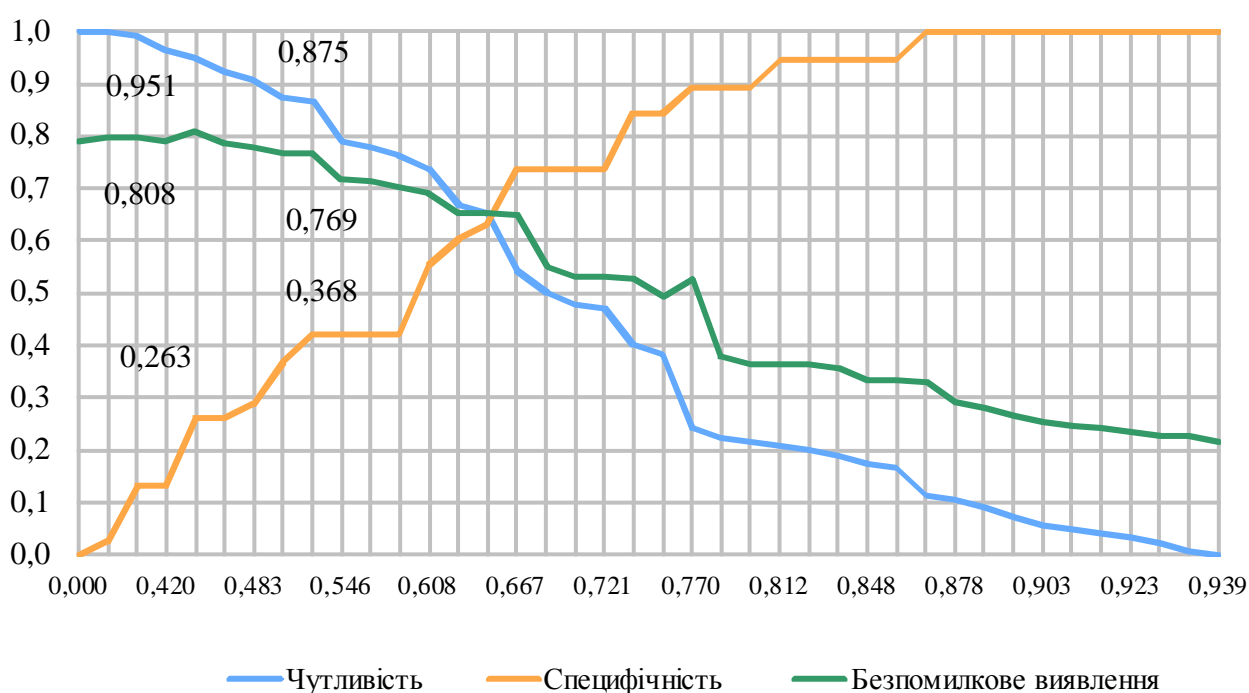


Рис.5.9. Залежність чутливості та специфічності регресійної моделі від ймовірності розвитку ВДМ

Аналіз діаграми (рис.5.9), а також порівняльний аналіз розрахованих і фактичних даних показав, що в точці відсікання, яка прийнята за замовчанням в логістичних регресійних моделях ($P_{ВДМ} > 0,5$), точність виявлення позитивних результатів складала 87,5%, негативних – 36,8%. Безпомилковість прогнозування ВДМ у порівнянні з фактичними даними склала 76,9%. Проте максимальне безпомилкове прогнозування ВДМ розробленої моделі було досягнуте при точці відсікання більше, ніж 0,441 і склало 80,8% (позитивні результати моделі

відповідали фактичним у 95,1% випадків, негативні – у 26,3%).

Таким чином, результати досліджень свідчили, що гаплотипи з ймовірністю розвитку ВДМ більш ніж 0,441 (в таблиці 5.13 відмічені світло-сірим кольором) є гаплотипами ризику відносно цієї патології з безпомилковим прогнозом у 80,8%.

5.6. Модель активного менеджменту хворих на ВДМ при амбулаторно-поліклінічній допомозі

Профілактична спрямованість – важливий принцип сучасної медицини. Доклінічна діагностика та прогнозування ризику розвитку окремих захворювань, своєчасне інформування пацієнта, а також застосування профілактичних заходів – найважливіші фактори, які входять до складових елементів щоденної практики лікаря-офтальмолога першої та другої ланки надання спеціалізованої офтальмологічної допомоги. Інтеграція нових вмінь і знань у постійний процес надання медичної допомоги від народження до завершення життєвого шляху людини підвищує якість такої практики. При цьому пацієнти тільки виграють від цілісного підходу до їх здоров'я і ширших можливостей щодо отримання адекватної своєчасної спеціалізованої офтальмологічної допомоги на місцевому рівні [45].

Результати проведених досліджень засвідчили високу значимість генетичного методу для оцінки можливих факторів ризику розвитку різних форм ВДМ. Широка розповсюдженість вікової дегенерації макули серед старших вікових груп та темпи зростання рівнів захворюваності, складність лікування розвинутих її форм роблять завдання ранньої діагностики та можливості спостереження за перебігом даної хвороби актуальною проблемою сучасної офтальмології. Незважаючи на існуючі світові сучасні можливості виявлення генів-позитивних за даним захворюванням груп, генетичні дослідження, які проводяться в нашій країні, поодинокі та не впроваджені достатньою мірою для проведення скринінгу ВДМ і визначення груп ризику для її ускладнених форм [46, 47].

Результати проведених нами досліджень свідчать, що включення в діагностичний процес визначення генетичного поліморфізму гена ARMS2 (rs10490924), гена CFH (rs800292), гена VEGFA (rs2010963 та rs966647), а також визначення гаплотипів для кожного пацієнта дозволить прогнозувати розвиток

ВДМ.

Хоча ВДМ є хворобою вікового характеру, однак стверджувати, що всі люди, що досягли похилого віку, обов'язково нею захворіють, неможливо. В зв'язку з цим існує необхідність у виявленні об'єктивних ознак максимально раннього початку дегенеративного процесу, а також визначенні критеріїв його прогресування. Загальновідомо щодо великих складнощів у лікуванні пізніх форм вікової дегенерації макули та неможливість повернення втрачених зорових функцій. Проте позитивна відповідь на вчасно почате консервативне лікування робить питання щодо ранньої діагностики ВДМ надзвичайно актуальним і своєчасним. Тому сучасна офтальмологія вимушена шукати такі методи дослідження, які дозволять скласти уявлення про тонкі функціональні порушення структур на самому ранньому етапі втягування в патологічний процес при ВДМ, а в ідеалі на доклінічному етапі розвитку цього захворювання.

Аналіз результатів проведеного дослідження показав, що в модель прогнозування віку розвитку ВДМ входять гаплотип, ІМТ, стать та показники, що характеризують стиль життя та звички пацієнта. Ми запропонували формули, які допоможуть розрахувати ймовірні ризики розвитку ВДМ (ф.1), ризики розвитку «волової» форми ВДМ (ф.2), вік розвитку ВДМ (ф.3).

Завдяки використанню визначення генетичних поліморфізмів та застосуванню зазначених формул під час первинного огляду лікар-офтальмолог поліклініки отримує можливість виділити пацієнтів у групи максимального ризику розвитку дистрофічного процесу центральної ділянки сітківки за різними його формами, для зміни та коригування режиму їх диспансерного спостереження, формування відповідних рекомендацій щодо стилю життя та прийому профілактичних препаратів. Це буде сприяти цільовому максимально довгому збереженню зорових функцій у пацієнтів з такими важкими, інвалідизуючими захворюваннями, як вікова дегенерація макули. Крім того, формування груп ризику та впровадження визначення генетичних маркерів допоможе у плануванні індивідуального менеджменту для кожного пацієнта без ВДМ, що значно підвищить якість офтальмологічної допомоги на первинному та вторинному рівні надання медичної

допомоги населенню України.

Впровадження новітніх технологій та моделей діагностики із застосуванням генетичних маркерів в активний медичний менеджмент хворих на ВДМ при амбулаторно-поліклінічній допомозі дозволить підвищити не тільки якість надання медичної допомоги населенню, але й задовольнить потреби і якість життя конкретного пацієнта, підвищить потенціал суспільного здоров'я. Це медицина майбутнього у вітчизняній охороні здоров'я.

Резюме до розділу 5

Результати дослідження демонструють той факт, що мінорні гомозиготні генотипи всіх аналізованих поліморфізмів суттєво збільшували ризик двобічного ураження при ВДМ, тоді як предкові гомозиготи такий ризик суттєво зменшували.

Застосування розрахунку вірогідності розвитку ВДМ по індикаторним значенням генотипів ARMS2 (rs10490924), CFH (rs800292) і VEGFA (rs2010963) може з безпомилковим прогнозом у 78,0% випадків підтвердити розвиток ВДМ.

Застосування розрахунку вірогідності розвитку «волової» форми ВДМ за індикаторними значеннями генотипів CFH (rs800292) і VEGFA (rs699947) може з безпомилковим прогнозом у 63,9% випадків підтвердити розвиток «волової» форми ВДМ.

До впливових факторів щодо віку розвитку ВДМ увійшли 10 показників (змінних), а саме: генотип rs10490924 ARMS2 пацієнта, ІМТ, стать, місце проживання, куріння, вживання алкоголю, робота з іонізуючим випромінюванням, заняття спортом, артеріальна гіпертензія та операції, травми очей. Зменшують вік розвитку ВДМ наявність жіночої статі, проживання у сільській місцевості, куріння, вживання алкоголю, робота з іонізуючим випромінюванням. В той же час збільшують прогнозований вік розвитку ВДМ заняття спортом, артеріальна гіпертензія та операції, травми очей.

Аналіз за гаплотипами виявив три варіанти, які суттєво знижують шанси розвитку ВДМ (G/G-G/G-G/G-C/A; G/G-G/G-G/C-C/A і G/T-G/G-G/G-C/C). Виявлено 10 гаплотипів, які притаманні тільки хворим на ВДМ. Для розрахунку ймовірності розвитку ВДМ при наявності інших гаплотипів побудована модель логістичної

регресії: гаплотипи з ймовірністю більш, ніж 0,441 є гаплотипами ризику відносно цієї патології з безпомилковістю прогнозу на рівні 80,8%.

Розроблено модель прогнозування віку розвитку ВДМ, яка враховує гаплотип, ІМТ, стать та показники, що характеризують стиль життя та звички пацієнта. Модель має високий ступень вірогідності (коефіцієнт множинної кореляції $R=0,73$; коефіцієнт детермінації $R_2=0,54$ ($F=16,94$; $p<0,0001$) та може бути використана в щоденній практиці лікаря-офтальмолога першої та другої ланки надання спеціалізованої офтальмологічної допомоги.

Перелік друкованих праць, опублікованих за матеріалами, викладеними в цьому розділі:

1. Риков С. О. Нові можливості активного медичного менеджменту хворих на ВМД на поліклінічному етапі / С. О. Риков, І. В. Шаргородська, С. С. Фролова // Архив офтальмології України. – Т.5. - №2 (8). – 2017. – С.44-53.
2. Фролова С. С. Оптимізація алгоритму діагностики хворих на вікову макулярну дегенерацію / С. С. Фролова, С. О. Риков, І. В. Шаргородська // Научно-практична конференція з міжнародною участю «Актуальні питання сімейної медицини та перспективи її розвитку в рамках Всесвітнього дня сімейного лікаря», 18-19 травня 2017 р., Київ: матеріали, додаток журналу «Здоров'я суспільства № 1-2-2017 (спеціальний випуск). – Київ, 2017. – С.114.
3. Риков С. О. Нові можливості прогнозування розвитку вікової макулярної дегенерації в залежності від генетичних та клініко-лабораторних показників / С. О. Риков, І. В. Шаргородська, С. С. Фролова // Науково-практична конференція офтальмологів Чернівецької, Івано-Франківської, Тернопільської, Хмельницької областей України «Актуальні питання офтальмології», 20-21 вересня 2017 р., Чернівці: матеріали. – Чернівці, 2017. – С.182-183.
4. Frolova S. S. New possibilities active medical management of patients with AMD / S. S. Frolova, S. O. Rykov, I. V. Shargorodska // Tbilisi International Ophthalmology Conference (TIOC 2018). – 2018. – Tbilisi. – P.3-4.
5. Фролова С. С. Спосіб прогнозування віку розвитку вікової макулярної дегенерації в залежності від клінічних та генетичних показників / С. С. Фролова,

С. О. Риков, І. В. Шаргородська // Перелік наукової (науково-технічної) продукції призначеної для впровадження досягнень медичної науки у сферу охорони здоров'я №268/4/17 – випуск 4. – Київ. – 2018. – С.249-250.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ У РОЗДІЛІ 5

1. Мирзабекова К. А. Возрастная макулярная дегенерация: профилактика и лечение / К. А. Мирзабекова // Обзор. Офтальмология. – 2014. – №11(2). – С.4-8.
2. Егоров Е. А. Возрастная макулярная дегенерация. Вопросы патогенеза, диагностики и лечения. РМЖ. Клиническая офтальмология / Е. А. Егоров, И. А. Романенко // 2009. – №10(1). – С.42-45.
3. Будзинская М. В. Возрастная макулярная дегенерация / М. В. Будзинская // Вестник офтальмологии. – 2014. – №130(6). – С.56-61.
4. Протоколи надання медичної допомоги за спеціальністю «Офтальмологія». – додаток до наказу МОЗ №117 від 15-03-2007, - [Електронний ресурс] – Режим доступу: medstandart.net/browse/2319.
5. Американская Академия Офтальмологии. Возрастная макулярная дегенерация / Американская Академия Офтальмологии, Экспертный Совет по возрастной макулярной дегенерации, Межрегиональная Ассоциация врачей-офтальмологов // Офтальмол. ведомости. Сер. Ex libris. СПб.: Изд-во Н-Л. – 2009. – 84 с.
6. Нероев В. В. Российское наблюдательное эпидемиологическое неинтервенционное исследование пациентов с влажной формой возрастной макулярной дегенерации / В. В. Нероев // Российский офтальмологический журнал. – 2011. – №4(2). – С.4-9.
7. Nitoda E. Correlation of platelet activating factor and age-related macular degeneration / E. Nitoda, M. Koutsilieris, D. Brouzas, C. Koutsandrea, A. Philippou, D. Ladas, M. Moschos // Expert. Opin. Ther. Targets. – 2014. – Vol.31. – P.1-11.
8. Панова И. Е. Возрастная макулярная дегенерация с неоваскулярным ответом: особенности клинического течения, характеристика клеточного иммунитета / И. Е. Панова, Н. А. Тонких, М. Ю. Прокопьева, Н. В. Бухтиярова // Вестник Оренбургского государственного университета. – 2004. – С.246-248.

9. Астахов Ю. С. Возрастная макулярная дегенерация / Ю. С. Астахов, А. Б. Лисочкина, Ф. Е. Шадричев // В кн.: Офтальмология. Клинические рекомендации. – М. – ГЭОТАР Медиа. – 2006. – С.164-88.
10. Clemons T. E. Risk factors for the incidence of Advanced Age-Related Macular Degeneration in the Age-Related Eye Disease Study (AREDS) / T. E. Clemons, R. C. Milton, R. Klein, J. M. Seddon, F. L. Ferris // 3rd. AREDS report no. 19. Ophthalmology. – 2005. – Vol.112(4). – P.33-99.
11. 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.
12. Klein R. J. Ten year incidence and progression of age related maculopathy: The Beaver Dam Eye Study / R. J. Klein, B. E. Klein, S. C. Tomany [et al.] // Ophthalmology. – 2002. – Vol.308. – № 109. – P.1767-1779.
13. O'Shea J. G. Age-related macular degeneration: a leading cause of blindness / J. G. O'Shea // Med. J. – Aust., 1996. – Vol.165. – №10. – P.561-564.
14. O'Shea J. G. Age-related macular degeneration / J. G. O'Shea // Postgrad. Med. J. – 1998. – Vol.74. – №840. – P.203-207.
15. Егоров В. В. Клинико-морфометрические особенности изменений макулы у больных сахарным диабетом после факоэмульсификации катаракты / В. В. Егоров, А. В. Егорова, Г. П. Смолякова // Вестн. офтальмол. – 2008. – №1. – С.22-25.
16. Шпак А. А. Влияние желтого светофильтра в оптике интраокулярных линз на состояние макулярной зоны после факоэмульсификации катаракты у пациентов с возрастной макулярной дегенерацией / А. А. Шпак, Б. Э. Малюгин, Т. В. Фадеева // Вестн. офтальмол. – 2012. – №128(4). – С.48-51.
17. Gass D. J. Drusen and disciform macular detachment and degeneration / D. J. Gass // Trans Am Ophthalmol Soc. – 1972. – Vol.70. – P.409-436.
18. 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.

- 19.Haines J. L. Complement factor H variant increases the risk of age-related macular degeneration / J. L. Haines, M. A. Hauser, S. Schmidt [et al.] // Science. – 2005. – Vol.308. – P.419-421.
- 20.Seddon J. M. The US twin study of age-related macular degeneration: relative roles of genetic and environmental influences / J. M. Seddon, J. Cote, W. F. Page, S. H. Aggen, M. C. Neale // Arch. Ophthalmol. – 2005. – Vol.123(3). – P.321-327.
- 21.Seddon J. M. Familial aggregation of age-related maculopathy / J. M. Seddon, U. A. Ajani, B. D. Mitchel // Am. J.Ophthalmol. – 1997. – Vol.123. – P.199-204.
- 22.Klein M. L. Progression of geographic atrophy and genotype in age-related macular degeneration / M. L. Klein // Ophthalmology. – 2010. – Vol.117(10). – P.1554-1559.
- 23.Bressler S. B. Relationship of drusen and abnormalities of the retinal pigment epithelium to the prognosis of neovascular macular degeneration. The Macular Photocoagulation Study Group / S. B. Bressler, M. G. Maguire, N. M. Bressler, S. L. Fine // Arch Ophthalmol. – 1990. – Vol.108. – P.1442-1447.
- 24.Friedman D. S. Racial differences in the prevalence of age-related macular degeneration: the Baltimore Eye Survey / D. S. Friedman, J. Katz, N. M. Bressler, B. Rahmani, J. M. Tielsch // Ophthalmology. – 1999. – Vol.106. – P.1049-1055.
- 25.Smith W. Risk factors for age-related macular degeneration: Pooled findings from three continents / W. Smith, J. Assink, R. Klein [et al.] // Ophthalmology. – 2001. – Vol.108. – P.697-704.
- 26.Миронова Э. М. Роль пигментного эпителия и взаимодействующих с ним структур в патогенезе глазных заболеваний / Э. М. Миронова // Автореф. дис. докт. биол. наук. – М. – 1990. – 32 с.
- 27.Kawasaki R. Prevalence and risk factors for age related macular degeneration in an adult Japanese population / R. Kawasaki, J. J. Wang, G. J. Ji, B. Taylor, T. Oizumi [et al.] // The Funagata Study.Ophthalmology. – 2008. – Vol.115. – P.1376-1381.
- 28.Khan J. C. Smoking and age related macular degeneration: the number of pack years of cigarette smoking is a major determinant of risk for both geographic atrophy and choroidal neovascularisation / J. C. Khan, D. A. Thurlby, H. Shahid [et al.] // Br J Ophthal. – 2006. – Vol.90. – P.75-80.

- 29.Бездетко П. А. Возрастная макулярная дегенерация: метод. указ. для студентов-иностранцев / П. А. Бездетко, Н. В. Панченко, Е. П. Мужичук и др. // ХНМУ. – Харьков. – 2015. – С.3-11.
- 30.Линник Л. Ф. Разработка и внедрение в практику искусственных хрусталиков глаза с естественной спектральной характеристикой / Л. Ф. Линник, Х. П. Тахчиди, М. А. Островский и соавт. // Здоровоохранение и медтехника. – 2004. – Т.9. – №5. – С.35-36.
- 31.Kabasawa S. Associations of cigarette smoking but not serum fatty acids with agerelated macular degeneration in a Japanese population / S. Kabasawa, K. Mori, K. Horie Inoue [et al.] // Ophthalmology. – 2011. – Vol.118. – P.1082-88.
- 32.Егоров Е. А. Возрастная макулярная дегенерация. Вопросы патогенеза, диагностики и лечения / Е. А. Егоров, И. А. Романенко // РМЖ «Клиническая офтальмология». – 2009. – №1 – 42 с.
- 33.Trieschmann M. Changes in macular pigment optical density and serum concentrations of its constituent carotenoids following supplemental lutein and zeaxanthin / M. Trieschmann [et al.] // The LUNA stady. Exp. Eye. Res. – 2007. – Vol.84. – №4. – P.718-728.
- 34.Будзинская М. В. Современные подходы к лечению и профилактике возрастной макулярной дегенерации / М. В. Будзинская, М. В. Воробьева, Т. Н. Киселева, Ю. М. Лагутина, Г. С. Полунин // Клиническая офтальмология. – 2007. – Т.8. – №2. – С.78-82.
- 35.Allikmets R. Mutation of the Stargardt disease gene (ABCR) in age-related macular degeneration / R. Allikmets, N. F. Shroyer, N. Singh [et al.] // Science. – 1997. – Vol.277(5). – P.1805-1807.
- 36.Souied E. H. ABCR gene analysis in familial exudative age-related macular degeneration / E. H. Souied, D. Ducroq, J. M. Rozet [et al.] // Invest Ophthalmol Vis Sci. – 2000. – Vol.41(1). – P.244-247.
- 37.Miyake M. The Contribution of Genetic Architecture to the 10-Year Incidence of Age-Related Macular Degeneration in the Fellow Eye / M. Miyake, K. Yamashiro, H. Tamura [et al.] // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 2015. – Vol.56(9). – P.5353-5361.

38. Tamura H. Association of ARMS2 genotype with bilateral involvement of exudative age-related macular degeneration / H. Tamura, A. Tsujikawa, K. Yamashiro [et al.] // *Am. J. Ophthalmol.* – 2012. – Vol.154(3). – P.542-548.
39. 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. Smailhodzic [et al.] // *JAMA Ophthalmol.* – 2015. – Vol.133(5). – P.533-541.
40. Фролова С. С. Прогнозування розвитку ВМД в залежності від клінічних та генетичних показників, визначених при первинному скринінгу / С. С. Фролова // *Вісник проблем біології і медицини.* – 2017. – Полтава. – Випуск 3. – Т.1(137). – С.243-251.
41. Риков С. О. Нові можливості активного медичного менеджменту хворих на ВМД на поліклінічному етапі / С. О. Риков, І. В. Шаргородська, С. С. Фролова // *Архив офтальмології України.* – Т.5. – №2 (8). – 2017. – С.44-53.
42. Babanejad M. Investigating the CFH Gene Polymorphisms as a Risk Factor for Age-related Macular Degeneration in an Iranian Population / H. Moein, M. R. Akbari [et al.] // *Ophthalmic. Genet.* – 2016. – Vol.37(2). – P.144-149.
43. 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.
44. Sakurada Y. Prevalence and Genetic Characteristics of Geographic Atrophy among Elderly Japanese with Age-Related Macular Degeneration / Y. Sakurada, S. Yoneyama, A. Sugiyama [et al.] // *PLoS One.* – 2016. – Vol.11(2). – e. 0149978.
45. Клименко В. І. Сімейна медицина та її значення в системі медичної допомоги населенню. Зміст і організація роботи сімейного лікаря (лікаря загальної практики) / В. І. Клименко, В. В. Таранов // *Запоріжжя: ЗДМУ.* – 2015. – 292 с.
46. Бойко Э. В. Молекулярно-генетические основы возрастной макулярной дегенерации / Э. В. Бойко, С. В. Чурашов, Т. А. Камилова // *Вестник офтальмологии.* – 2013. – №2. – С.86-90.

47. Завгородняя Н. Г. / Возрастная макулярная дегенерация сетчатки: учеб. пособие для студентов 4 курса медицинского факультета для врачей-интернов по специальности «Офтальмология» и «Общая практика – семейная медицина» / Н. Г. Завгородняя, Л. Э. Саржевская, И. А. Поплавская // Запоріжжя: ЗДМУ. – 2015. – 61 с.

РОЗДІЛ 6

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Завдяки високому рівню розвитку сучасної медицини і генетики, з'явилася можливість по-новому поглянути на патогенез багатьох захворювань, включаючи вікову дегенерацію макули (ВДМ). На сьогоднішній день завдяки низці [1-3] закордонних досліджень, стали відомі гени, відповідальні за порушення нормального перебігу метаболічних процесів в сітківці і пігментному епітелії. Але роль багатьох з них в патогенезі ВДМ до кінця нез'ясована. Встановлено факт їх особистої участі в багатьох патологічних процесах, включаючи порушення ліпідного обміну, розвиток оксидативного стресу, хронічного запалення, а також хоріоїдальної неоваскуляризації. Однак більшість досліджень, проведених за кордоном, та їх результати свідчать про розбіжності поліморфізмів генів в різних популяціях. Особливий інтерес викликає порушення мутацій ряду генів, здатних призупинити прогресування ВДМ або знизити ймовірність її розвитку [4].

На нових віхах нашого століття стрімкий розвиток генної інженерії є перспективним напрямком для пошуку нових методів лікування і профілактики низки тяжких інвалідизуючих захворювань органу зору, до яких і відноситься ВДМ, особливо враховуючи теперішнє реформування медицини в умовах інтеграції України в європейський простір. Обмеженість та відсутність повного обсягу інформації щодо можливих етіологічних чинників та патогенетичних механізмів розвитку вікової дегенерації макули, а також низька доступність пересічного українця до сучасних методів її діагностики із застосуванням фундаментальних законів генетики і інженерії до розвитку патологічних станів, значно обмежують спектр лікувальних та профілактичних заходів при моніторингу цього захворювання.

Аналізуючи доступну літературу, ми визначили, що проведені дослідження останніх років демонструють сімейний, спадковий характер розвитку вікової дегенерації макули [4-6]. Однак тактика і динаміка їх проведення неоднорідна, несистематизована та далека від завершення. Виходячи з цього, при плануванні

роботи ми ставили за мету дослідити вплив генетичного поліморфізму генів-кандидатів (ARMS2, CFH та VEGFA) та ряду факторів ризику щодо розвитку та прогресування вікової дегенерації макули в Україні і визначити методику активного медичного менеджменту цієї категорії пацієнтів при амбулаторно-поліклінічній допомозі для підвищення ефективності індивідуальних діагностичних і профілактичних заходів як у самих хворих, так і у членів їх сімей.

Ряд досліджень вказували на той факт [7-10], що однією з основних ланок патогенезу ВДМ є первинні генетичні дефекти, однак були відсутні свідчення про залученість в цей процес саме поліморфізмів генів ARMS2, rs 10490924; CFH, rs800292; VEGFA, rs2010963 та rs699947. Це дозволило нам вважати дослідження цих поліморфізмів цілком обґрунтованим та доцільним для подальшого аналізу їх ролі у розвитку ВДМ серед пацієнтів в Україні.

В процес дослідження були залучені 182 пацієнта, серед яких 144 пацієнтів були з різними формами вікової дегенерації макули і склали основну групу та 38 пацієнтів не мали ВДМ та увійшли до групи порівняння. В ході виконання роботи нами було встановлено, що серед пацієнтів, які були включені в дослідження, переважали жінки, 61,54±2,9%, віком від 70 до 78 років, тобто особи непрацездатного віку. Статистично значущої відмінності розподілу пацієнтів за статтю та віком в основній та групі порівняння не виявлено. Підбір пацієнтів узгоджувався з результатами світових досліджень [11, 12], що були свідченням прямої залежності частоти виникнення вікової дегенерації макули від віку. Дослідження показали [13], що протягом десяти років спостережень захворюваність на ВДМ збільшувалася від 4,2% до 46,2% у пацієнтів 75 років і старше.

Враховуючи суперечливі результати досліджень останніх років [14] та беручи до уваги той факт, що запалення визнано однією з важливих ланок в патогенезі ВДМ [15], при проведенні даного дослідження як фактори ризику в схильності до виникнення вікової дегенерації макули було використано визначення: основних показників ліпідограми та загального аналізу крові, а також наявності ожиріння (показників індексу маси тіла), артеріальної гіпертензії, місця проживання пацієнта, звичок до куріння, вживання алкоголю, фізичних навантажень, нерационального

харчування, іонізуюче випромінювання, перенесених операції та травм очей у пацієнтів основної та групи порівняння.

При розподілі для проведення аналізу пацієнтів основної групи ми врахували аналіз сучасної літератури, який визначав основні класифікації вікової дегенерації макули і дозволив застосувати їх можливості для вирішення більшості проблем діагностики та планування тактики лікування даної патології. В ході дослідження ми використовували дві класифікації Н.В. Пасечнікової (2010) [16] та AREDS [17], що полегшило нам вибір оптимальної тактики ведення пацієнтів з ВДМ в залежності від клінічної ситуації.

Як свідчать літературні дані, до кінця не з'ясована роль гена ARMS2/LOC387715. Відомо [18], що він кодує білок, який зв'язується з матриксним білком геміцентріном-1 та експресується в тій зоні хоріоїдеї, де утворюються друзи. Крім того, в дослідженнях на тваринах [19-20] показана можливість сприйняття розвитку нейродегенеративного процесу та ВДМ мутантних генотипів ARMS2. Інші дослідження свідчать [18, 21], що біля 30-50% пацієнтів з віковою дегенерацією макули мають мутацію в факторі комплементу CFH, який втрачає можливість інгібувати імунну відповідь і пов'язані з ним запалення. Ряд робіт [18, 19, 21, 22] доводять факт зацікавленості різних сплайсінгових варіантів гена VEGFA у підвищенні проникності судинної стінки, утворенні нових судин і зростанні ендотеліальних клітин, а також підсиленні міграції клітин і пригніченні апоптозу ендотеліальних клітин сітківки.

Таким чином, виходячи з цих літературних даних, були підстави вважати зацікавленість цих генів в розвитку вікової дегенерації макули. Тому на першому етапі роботи ми вивчили роль поліморфізму генів-кандидатів (ARMS2, rs 10490924; CFH, rs800292; VEGFA, rs2010963 та rs699947) щодо схильності до виникнення вікової дегенерації макули жителів України. Було встановлено, що з розвитком ВДМ у хворих в Україні мали асоціацію поліморфні генотипи та алелі rs10490924 гена ARMS2, rs800292 гена CFH та rs2010963 гена VEGFA, тоді як генотипи та алелі поліморфізму rs699947 гена VEGFA такої асоціації не мали.

Крім того, ми проаналізували залежність генотипів та алелей поліморфізмів: rs10490924 гена ARMS2, rs800292 гена CFH, rs2010963 гена VEGFA і rs699947 гена VEGFA від товщини сітківки в ділянці фовеоли, з відсутністю друз, наявністю невеликої кількості дрібних друз (діаметр 63 мікрону) у пацієнтів без ВДМ (група порівняння). Встановлено, що серед проаналізованих маркерів морфологічної структури макули у пацієнтів в Україні без ВДМ вдалося виявити вірогідний слабкий взаємозв'язок для генотипів G/T ($r=0,36$) і алелей G ($r=0,38$) rs10490924 гена ARMS2; генотипів A/A ($r=0,29$) і G/G ($r=0,27$) rs800292 гена CFH; генотипів G/G ($r=0,36$), G/C ($r=0,31$) і алелі G ($r=0,48$) rs2010963 гена VEGFA та генотипу C/A ($r=0,49$) і алелі C ($r=0,44$) rs699947 гена VEGFA ($p<0,05$). Отже, морфологічна структура макули у пацієнтів без ВДМ залишалася майже незмінною і не мала взаємозв'язків з поліморфними генотипами та алелями rs10490924 гена ARMS2, rs800292 гена CFH та rs2010963 гена VEGFA.

Враховуючи особливості розвитку та фенотипичну неоднорідність вікової дегенерації макули, другим завданням нашого дослідження було вивчення впливу генетичного поліморфізму генів-кандидатів (ARMS2, rs 10490924; CFH, rs800292; VEGFA, rs2010963 та rs699947) на прогресування різних стадій вікової дегенерації макули у пацієнтів в Україні. Ряд досліджень останніх років є свідченням суперечливості та неоднозначності у вирішенні питання виявлення генетичних мутацій при цій патології [23, 24], оскільки асоціація з розвитком та прогресуванням захворювання встановлена лише у кількох з них [25].

Для визначення можливого впливу генотипу за дослідженими поліморфізмами на виникнення «сухої» форми ВДМ ми провели порівняння розподілу генотипів та алелей у хворих, які мали підтверджену специфічними методами дослідження «суху» форму ВДМ (II група) проти групи порівняння (I група), без ВДМ. Отримані результати свідчили про те, що з розвитком «сухої» форми ВДМ у хворих в Україні мали асоціацію тільки алелі поліморфізму rs2010963 гена VEGFA. Мутантна алель С поліморфізму rs2010963 гена VEGFA у 1,9 рази збільшувала шанси розвитку «сухої» форми ВДМ ($OR=1,92$; 95% BI 1,03-3,56). В той же час дика алель G зменшувала такі шанси у 1,9 рази ($OR=0,52$; 95% BI 0,28-0,97) ($\chi^2=4,28$; $p=0,04$).

Водночас при стратифікації за наявністю «сухої» форми ВДМ асоціацію з захворюванням втрачали поліморфні генотипи та алелі rs10490924 гена ARMS2, rs800292 гена CFH та rs699947 гена VEGFA.

Виходячи із необхідності вирішення протиріч проведених раніше досліджень [26-28] щодо визначення асоціації поліморфізмів генів ARMS2, VEGFA і CFH з маркерами морфологічної структури макули у хворих на «суху» форму вікової дегенерації макули, нами було проведено аналіз зв'язку чотирьох визначених поліморфізмів генів із показниками клінічного обстеження пацієнтів, які описували товщину сітківки в ділянці фовеоли і зміни морфологічної структури макули при «сухій» формі захворювання, а саме з товщиною сітківки в ділянці фовеоли, множинними мілкими друзами, невеликою кількістю друз середнього розміру (діаметр від 63 до 124 мікрон), множинними друзами середнього розміру, великою друзою (діаметр більше 125 мікрон) або географічною атрофією, початковими змінами пігментного епітелію у пацієнтів II групи з «сухою» формою ВДМ.

З'ясовано, що зі зміною морфологічної структури макули, яка характерна «сухій» формі вікової дегенерації макули, вірогідний взаємозв'язок середнього ступеню мали генотип G/G ($r=0,44$) і алелі G ($r=0,51$) та C ($r=0,48$) поліморфізму rs2010963 гена VEGFA з товщиною сітківки в ділянці фовеоли ($p<0,05$). Генотип G/G поліморфізму rs2010963 гена VEGFA впливав на наявність великої друзи, множинних друз середнього калібру та початкові зміни пігментного епітелію ($r=-0,45$; $r=-0,39$; $r=-0,38$ відповідно, $p<0,05$). Наявність алелі G поліморфізму rs2010963 гена VEGFA впливало на розвиток множинних мілких друз ($r=-0,49$) і зміни пігментного епітелію сітківки ($r=-0,42$) ($p<0,05$). Присутність алелі C поліморфізму rs2010963 гена VEGFA впливало на розвиток множинних друз середнього розміру ($r=0,52$), географічної атрофії ($r=0,47$) та зміни пігментного епітелію ($r=0,45$) ($p<0,05$). Крім того, встановлено вірогідний слабкий взаємозв'язок з товщиною сітківки в області фовеоли для генотипу G/T ($r=0,32$) і алелі G ($r=0,27$) поліморфізму rs10490924 гена ARMS2 ($p<0,05$); генотипу A/A ($r=0,27$) і алелі A ($r=0,25$) поліморфізму rs800292 гена CFH та генотипу C/A ($r=0,24$) поліморфізму rs699947 гена VEGFA ($p<0,05$).

Проте слід пам'ятати, що не в усіх осіб, старіших 60 років, розвивається ВДМ. Не слід забувати про процеси нормального старіння [29, 30], які досі повністю не з'ясовані, як і той факт, чи є ВДМ самостійною або супутньою патологією. Деякі роботи останніх років [31, 32] свідчать про важливу роль окислювального стресу, локальних змін гомеостазу з розвитком метаболічного ацидоза та активації вільнорадикальних процесів і перикисного окислювання ліпідів в патогенезі ВДМ. Інші роботи [33] вказують на керівну роль факторів росту в неоваскулогенезі, а також не абияке значення у розвитку ВДМ загальних і місцевих судинних захворювань [34]. Виявлення нових механізмів розвитку різних форм макулярної дегенерації визначало напрямки нашої роботи. Оскільки з'ясування нових ланок патогенезу, які будуть визначати розвиток різних форм ВДМ - «сухої» або «вологої» - дозволить розробити методику активного медичного менеджменту цієї категорії пацієнтів ще при амбулаторно-поліклінічній допомозі, що значно оптимізує схеми їх лікування, покращить якість життя і відстрочить терміни слабкості та сліпоты.

Для з'ясування можливого впливу генотипу за дослідженими поліморфізмами rs10490924 гена ARMS2, rs800292 гена CFH, rs2010963 гена VEGFA та rs699947 гена VEGFA на виникнення «вологої» форми ВДМ в ході дослідження ми провели порівняння розподілу генотипів та алелей у хворих основної групи, які мали підтверджену специфічними методами дослідження «вологу» форму ВДМ (ІІІ група), з даними пацієнтів без ВДМ (група порівняння, І група). Крім того, було досліджено зв'язки всіх вивчених поліморфізмів з формами ВДМ за умов порівняння даних у хворих з «сухою» та «вологою» формами проміж собою.

При стратифікації за наявністю «вологої» форми ВДМ у хворих в Україні сила зв'язку у порівнянні з хворими без розподілу по формі ВДМ збільшувалася для поліморфізмів rs10490924 гена ARMS2 і rs800292 гена CFH. Результати нашого дослідження свідчили, що гетерозиготний генотип G/T поліморфізму rs10490924 гена ARMS2 мав вірогідний зв'язок із розвитком «вологої» форми ВДМ ($p_{\chi^2}=0,02$) 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 ВДМ у 6,7 рази (OR=6,72; 95% ВІ 0,37-122,42). При цьому дика гомозига G/G зменшувала шанси

розвитку «вологої» форми ВДМ у 2,9 рази ($OR=0,34$; 95% BI 0,15-0,80). Крім того, відзначався статистично значущий зв'язок алельного поліморфізму з розвитком захворювання ($p_{\chi^2}=0,03$). Одночасно мінорна алель Т збільшувала ($OR=1,91$; 95% BI 1,06-3,43), а предкова алель G зменшувала ризик розвитку ВДМ ($OR=0,52$; 95% BI 0,29-0,94).

Таким чином, отримані результати свідчили про те, що дика гомозигота G/G та алель G поліморфізму rs10490924 гена ARMS2 у пацієнтів в Україні мали протективні властивості щодо розвитку «вологої» форми ВДМ, тоді як генотипи з наявністю мінорної гомозиготи Т та вона сама були факторами ризику цієї хвороби. Наші результати були співзвучні з результатами інших вчених, що визначили підвищений ризик розвитку пізньої ВДМ у пацієнтів 7 країн Європи при наявності мінорної гомозиготи Т/Т [35].

Крім того, нами було встановлено, що наявність гетерозиготного генотипу G/A поліморфізму rs800292 гена CFH збільшувала у 1,5 рази шанси розвитку «вологої» форми ВДМ ($OR=1,48$; 95% BI 0,67-3,26), як і гомозиготний генотип A/A, який збільшував у 6,0 разів шанси розвитку цієї форми захворювання ($OR=6,00$; 95% BI 1,32-27,19). Розподіл алелей поліморфізму rs800292 гена CFH також мав вірогідні відмінності по відношенню до розвитку «вологої» форми ВДМ ($p_{\chi^2}<0,001$) в порівнянні з групою пацієнтів без ВДМ. Предкова алель G знижувала шанси розвитку «вологої» форми ВДМ у 3 рази ($OR=0,33$; 95% BI 0,18-0,62), тоді як мінорна алель А – навпаки, збільшувала такі шанси розвитку цієї форми захворювання у 3 рази ($OR=0,33$; 95% BI 1.62-5.52).

Для поліморфізму rs2010963 гена VEGFA зв'язок з «вологою» формою мав місце і для алелей, і для генотипів (при «сухій» формі – тільки для алелей). Гетерозигота G/C поліморфізму rs2010963 гена VEGFA збільшувала шанси розвитку ВДМ у 1,8 разів ($OR=1,77$; 95% BI 0,81-3,86), тоді як мінорна гомозигота такі шанси збільшувала у 3,8 раза ($OR=3,82$; 95% BI 0,82-17,74). В той же час предкова гомозигота G/G зменшувала шанси розвитку ВДМ у 3,1 рази ($OR=0,32$; 95% BI 0,14-0,72). Таким чином, предковий генотип можна вважати протекторним по відношенню до розвитку «вологої» форми ВДМ ($p_{\chi^2}=0,01$). Крім того, мутантна

алель С поліморфізму rs2010963 гена VEGFA мала зв'язок із розвитком ВДМ та у 2,35 рази збільшувала шанси розвитку ВДМ ($OR=2,35$; 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) ($p_{\chi^2}=0,005$).

Аналіз результатів дослідження також виявив, що мінорний генотип А/А поліморфізму rs699947 гена VEGFA мав асоціацію тільки з «вологою» формою ВДМ і підвищував шанси розвитку «вологої» форми ВДМ у 14,0 разів ($OR=14,05$; 95% BI 0,81-243,93) ($p_{\chi^2}=0,02$).

При порівнянні груп з «сухою» та «вологою» ВДМ між собою визначено, що поліморфізми rs10490924 гена ARMS2 і rs2010963 гена VEGFA значення не мали, тоді як поліморфізми rs800292 гена CFH та rs699947 гена VEGFA саме і визначали форму ВДМ. «Суха» форма була асоційована з наявністю предкових алелей (G та C), тоді як «волога» форма – з наявністю мінорних алелей (в обох випадках А).

Отримані результати розподілу генотипів та алелей поліморфізму rs800292 гена CFH між групами із «сухою» (II група) та «вологою» (III група) формами ВДМ пацієнтів в Україні показали, що гетерозигота G/A підвищувала шанси розвитку «вологої» у 1,4 рази ($OR=1,43$; 95% BI 0,73-2,80); мінорна гомозигота – у 2,3 рази ($OR=2,33$; 95% BI 0,95-5,72). Предкова гомозигота G/G такі шанси знижувала у 2,5 рази ($OR=0,40$; 95% BI 0,20-0,80) ($p_{\chi^2}=0,02$). Мінорна алель А підвищувала у два рази шанси розвитку «вологої» форми ВДМ у порівнянні з «сухою» формою ($OR=2,04$; 95% BI 1,26-3,32), тоді як предкова алель G такі шанси у два рази знижувала ($OR=0,49$; 95% BI 0,30-0,80) ($p_{\chi^2}=0,004$).

Крім того, нами було з'ясовано, що мінорна гомозигота А/А поліморфізму rs699947 гена VEGFA у 5,5 рази ($OR=5,47$; 95% BI 1,18-25,42) підвищувала шанси розвитку «вологої» форми ВДМ. Гетерозигота С/А теж підвищувала такі шанси у 1,6 рази ($OR=1,58$; 95% BI 0,78-3,20). В той же час предкова гомозигота С/С такі шанси знижувала у 3,7 рази ($OR=0,27$; 95% BI 0,12-0,63). Таким чином, аналіз результатів показав, що саме генотип А/А поліморфізму rs699947 гена VEGFA визначав розвиток «вологої» форми ВДМ у пацієнтів в Україні ($\chi^2=13,34$; $p_{\chi^2}=0,001$).

Відмінності за генотипами С/С, А/А і алелями були статистично значущі (за

двостороннім точним методом Фішера $P_{\text{Fet}}=0,001$; $P_{\text{Fet}}=0,02$; $P_{\text{Fet}}=0,004$ відповідно). Мінорна алель А поліморфізму rs699947 гена VEGFA підвищувала у два рази шанси розвитку «вологої» форми ВДМ у порівнянні з «сухою» формою ($OR=2,01$; 95% ВІ 1,24-3,24), а предкова алель С такі шанси у два рази знижувала ($OR=0,50$; 95% ВІ 0,31-0,80) ($p_{\chi^2}=0,004$). Отримані результати свідчили про те, що поліморфізм rs699947 гена VEGFA, як і rs800292 гена CFH, підвищували шанси розвитку «вологої» форми ВДМ у порівнянні з «сухою» формою – носії мінорних алелей цих поліморфізмів мали удвічі вищий шанс розвитку саме «вологої» форми. На противагу їм предкові алелі визначали розвиток «сухої» форми ВДМ.

У той же час результати інших досліджень [35-37], які аналізували Європейську генетичну базу (EGD 2006-2010), свідчили, що ризик розвитку ВДМ притаманний поєднанню гомозигот генів ARMS2 та CFH, та для носіїв ризикових гомозигот гена CFH «неоваскулярна» форма ВДМ розвивається на 2,8 років раніше, і якщо наявне поєднання з ризиковими гомозиготами гена ARMS2 – «неоваскулярна» форма ВДМ розвивається ще на 12,2 років раніше, ніж у пацієнтів без наявності алелей такого ризику.

При виконанні даного дисертаційного дослідження нами було поаналізовано зв'язок між генотипами та алелями поліморфізмів: rs10490924 гена ARMS2, rs800292 гена CFH, rs2010963 гена VEGFA і rs699947 гена VEGFA із наступними показниками клінічного обстеження пацієнтів, які описували зміни морфологічної структури макули при «вологій» формі ВДМ: товщиною сітківки в ділянці фовеоли, кістозним набряком нейроепітелію, транссудативним відшаруванням пігментного епітелію, класичною СНМ, хоріоретинальною судинною проліферацією, субретинальним фіброзом.

Встановлено, що зі зміною морфологічної структури макули, яка характерна «вологій» формі вікової дегенерації макули, вірогідний взаємозв'язок середнього ступеня мали мінорний генотип та мінорна алель А поліморфізму rs699947 гена VEGFA та поліморфізму rs800292 гена CFH. Кореляцію середнього ступеня з товщиною сітківки в ділянці фовеоли мали: геноти А/А ($r=0,46$) і алелі А ($r=0,44$) поліморфізму rs800292 гена CFH; генотип А/А ($r=0,53$) і алелі А ($r=0,56$)

поліморфізму rs699947 гена VEGFA та алелі G ($r=0,41$) поліморфізму rs10490924 гена ARMS2. На розвиток хоріоретинальної судинної проліферації впливало: присутність гомозиготи A/A ($r=0,63$) і алелі A ($r=-0,49$) поліморфізму rs699947 гена VEGFA; гомозиготи A/A ($r=0,53$) і алелі A ($r=0,46$) поліморфізму rs800292 гена CFH; гетерозиготи C/A поліморфізму rs699947 гена VEGFA ($r=-0,36$); алелі G ($r=0,31$) та T ($r=0,27$) поліморфізму rs10490924 гена ARMS2. Розвиток субретинального фіброзу залежав від наявності: генотипу A/A ($r=0,54$) і алелі A ($r=-0,55$) поліморфізму rs699947 гена VEGFA; генотипу A/A ($r=0,55$) і алелі A ($r=0,52$) поліморфізму rs800292 гена CFH. На розвиток класичної СНМ впливали генотип A/A ($r=0,51$), алелі A ($r=-0,61$) і генотип C/A ($r=-0,39$) поліморфізму rs699947 гена VEGFA та генотип A/A ($r=0,44$) і алелі A ($r=0,33$) поліморфізму rs800292 гена CFH. Кістозний набряк нейроепітелію залежав від: гомозиготи A/A ($r=0,45$) і алелі A ($r=-0,53$) поліморфізму rs699947 гена VEGFA; гомозиготи A/A ($r=0,36$) і алелі A ($r=0,38$) поліморфізму rs800292 гена CFH. Трансудативне відшарування пігментного епітелію більшою мірою залежало від наявності генотипу A/A ($r=0,36$), алелі A ($r=-0,38$) поліморфізму rs699947 гена VEGFA та меншою мірою від гомозиготи A/A ($r=0,31$) і алелі A ($r=0,27$) поліморфізму rs800292 гена CFH.

Слід зазначити, що вікова дегенерація макули відноситься до однієї з полігенних хвороб цивілізації, провідною ознакою яких є вплив зовнішніх чинників оточуючого людину середовища, які забезпечують реалізацію генетичної схильності до ВДМ. В цьому напрямку проведені чисельні дослідження для визначення провідних факторів ризику розвитку захворювання [11, 23, 38, 39]. На сьогодні визначена роль незбалансованого харчування, малорухливого способу життя, паління, що сприяють початку передчасного клітинного старіння. Тенденція до зростання числа осіб похилого віку в світі призводить до щорічного збільшення захворюваності на ВДМ. У зв'язку з цим проведення досліджень, спрямованих на визначення інших факторів, що впливають на розвиток і перебіг захворювання, становить величезний науковий і практичний інтерес. Своєчасне виявлення перших ознак захворювання, поряд з розробкою нових методів лікування, а особливо

профілактики даного захворювання на її субклінічній стадії, є актуальною на сьогодні соціально-економічною проблемою сучасної офтальмології.

Таким чином, під час проведення наших досліджень ми ставили перед собою завдання визначити зв'язок поліморфізму генів-кандидатів (ARMS2, rs 10490924; CFH, rs800292; VEGFA, rs2010963 та rs699947) і факторів ризику: віку, статті, рефракції, тривалості хвороби, звички до куріння, наявності ожиріння (показника індексу маси тіла), артеріальної гіпертензії, біохімічних показників (рівня глікемії, холестерину, тригліцеридів, фракцій ліпопротеїдів, індексу атерогенності, формених елементів крові, гемоглобіну та ШОЕ) в схильності до виникнення вікової дегенерації макули.

Аналізуючи отримані результати, встановлено, що при «сухій» формі ВДМ поліморфізми rs10490924 гена ARMS2 і rs800292 гена CFH мали патогенетичне значення (ризикове по виникненню до ВДМ) та сприяли гіперхолестеринемії, атерогенній дисліпідемії та згущенню крові. Носіям мінорної алелі Т поліморфізму rs10490924 ARMS2 були притаманні менша тривалість розвитку хвороби та більший вміст у крові холестерину та ЛПНЩ, а також більші значення ІА, які вже знаходилися у зоні патологічних. Для носіїв мінорної алелі А rs800292 гена CFH були характерні більші значення вмісту у крові холестерину, ЛПНЩ та ЛПДНЩ, індексу атерогенності, а також збільшення кількості у крові еритроцитів та тромбоцитів. Меншою мірою ризикове значення щодо розвитку ВДМ було характерно для поліморфізмів гена VEGFA.

Отримані протягом дослідження результати щодо вивчення асоціації виникнення «вологої» форми ВДМ в залежності від клініко-лабораторних показників по дослідженим генотипам та аналіз залежності захворювання окремо по кожному показнику демонстрували відсутність чітких зв'язків з показниками ліпідограми. Таким чином, патогенетичне значення гена VEGFA в розвитку «вологої» форми ВДМ, також як і генів ARMS2 (rs10490924) та CFH (rs800292), полягало у інших патогенетичних механізмах.

Слід відмітити ще один факт, який поряд з іншими на сьогодні має велике соціально-економічне значення – це термін залучення у патологічний процес

парного ока. Ряд досліджень [37, 40, 41] є свідченням того, що поліморфні варіанти генів, що асоційовані з розвитком ВДМ, сприяють найшвидшому розвитку вікової дегенерації макули на парному оці.

В ході дослідження ми провели порівняння розподілу генотипів та алелей з ураженням одного або обох очей серед пацієнтів основної групи, які мали ВДМ. Результати свідчили, що мінорні гомозиготні генотипи всіх досліджених поліморфізмів суттєво збільшували ризик двобічного ураження при ВДМ, тоді як предкові гомозиготи такий ризик суттєво зменшували. Особливо це стосувалося rs800292 гена CFH: ризик двобічного ураження для носіїв мінорної гомозиготи A/A був збільшений у 19,2 рази ($OR=19,24$; 95% BI 6,01-61,61).

Для вирішення ще одного важливого завдання в даному дисертаційному дослідженні, а саме для розробки математичної моделі прогнозування розвитку та прогресування вікової дегенерації макули з урахуванням генетичного поліморфізму та факторів ризику були використані метод побудови і аналізу логістичних моделей регресії та побудови таблиць спряженості. Як факторні ознаки нами були використані наступні показники: результати генотипування генів ARMS2 (rs10490924), CFH (rs800292), VEGFA (rs2010963 і rs699947). Для виявлення ознак (факторів), які найбільш пов'язані з ризиком розвитку ВДМ, було використано метод покрокового виключення. Для відбору предикторів, які мали найбільший вклад в прогнозування ймовірності розвитку ВДМ ми провели аналіз результуючих показників з використанням Wald-статистики, а також статистичної значущості їх відмінності порівняно з нульовою гіпотезою для формування/побудови регресійної моделі.

Використовуючи значення результатів генотипування, нами була побудована ROC-крива логістичної регресійної моделі визначення ймовірності розвитку ВДМ ($P_{ВДМ}$). Для визначення значимого зв'язку між ризиком розвитку ВДМ і генотипами пацієнта була розрахована площа під ROC-кривою, яка дорівнювала $AUC=0,719\pm0,049$ при 95% BI=0,622-0,815 та статистично значимо відрізнялася від значення (0,5), яке прийнято для нульової гіпотези, що підтверджувало значимість моделі та можливість застосування її для прогнозування ризиків розвитку ВДМ.

Для визначення ступенів ризику в запропонованій нами моделі визначення ймовірності розвитку ВДМ ($P_{\text{ВДМ}}$) було розроблено формулу (ф.1, розділ 5.2), використання якої по індикаторним значенням генотипів ARMS2 (rs10490924); CFH (rs800292) і VEGFA (rs2010963) може з безпомилковим прогнозом у 78,0% випадків підтвердити розвиток ВДМ.

Крім того, використовуючи аналіз логістичних моделей регресії та побудови таблиць спряженості по результатам генотипування, нами були проаналізовані фактори, що були найбільш пов'язані з ризиком розвитку «волової» форми ВДМ. Результати встановили, що статистично значущий зв'язок з результуючим показником наявності «волової» форми ВДМ у пацієнтів виявили індикаторні значення поліморфізмів: CFH (rs800292) і VEGFA (rs699947) з $p=0,003$ для обох генотипів. Площа під ROC-кривою дорівнювала: $AUC=0,704\pm0,043$ при 95% $BI=0,619-0,788$.

Для формулювання ступенів ризику в розробленій нами моделі визначення ймовірності розвитку «волової» форми ВДМ ($P_{\text{ВДМ-вол}}$) була запропонована формула (ф.2, розділ 5.3), застосування якої по індикаторним значенням генотипів CFH (rs800292) і VEGFA (rs699947) може з безпомилковим прогнозом у 63,9% випадків підтвердити розвиток «волової» форми ВДМ.

Виконуючи дисертаційне дослідження ми також ставили перед собою завдання розробити спосіб прогнозування віку розвитку ВДМ. Для цього був проведений багатфакторний регресійний аналіз клініко-лабораторних показників у пацієнтів, які могли бути доступні для дослідження у період, що передував розвитку ВДМ. До них були віднесені показники, які залишаються незмінними в ході усього життя – результати генотипування ARMS2 (rs10490924), CFH (rs800292), VEGFA (rs2010963 і rs699947) та їх гаплотипи, а також показники, що характеризують соціально-побутові і анамнестичні дані: «стать», «операції і травми очей», а також «куріння», «місце проживання» (місто чи село), «вживання алкоголю», «заняття спортом», «тривала інсоляція», «раціональне харчування», «робота з іонізуючим випромінюванням», «артеріальна гіпертензія». Вирішуючи це завдання, ми включили в аналіз результати обстеження всіх 182 пацієнтів, які взяли участь у

дослідженні. Як результуюча ознака використана кількісна змінна – «вік пацієнта». Як факторні ознаки обрані результати генотипування ARMS2 (rs10490924), CFH (rs800292), VEGFA (rs2010963 і rs699947), їх гаплотипи, а також перераховані вище соціально-побутові і анамнестичні дані. Для відбору чинників, які мають найбільший зв'язок з віком пацієнтів, був проведений множинний лінійний регресійний аналіз.

Завдяки аналізу основних характеристик множинної лінійної регресії, нами була побудована формула для розрахунку результуючої змінної «вік розвитку ВДМ» (ф.3, розділ 5.4), з урахуванням генетичного поліморфізму та факторів ризику, яка з високим ступенем вірогідності (коефіцієнт множинної кореляції $r=0,73$; коефіцієнт детермінації $R_2=0,54$ ($F=16,94$; $p<0,0001$)) дозволяє визначити ймовірний вік розвитку ВДМ у кожного конкретного пацієнта. Згідно з моделлю та результатами проведеного нами дослідження, до впливових факторів на вік розвитку ВДМ увійшли 10 показників (змінних). Серед них найбільший вплив на вік розвитку ВДМ має генотип rs10490924 ARMS2 пацієнта. На другому місці за впливом на вік розвитку ВДМ постає ІМТ. До впливових факторів на вік розвитку ВДМ увійшли також: стать, місце проживання, куріння вживання алкоголю, робота з іонізуючим випромінюванням, заняття спортом, артеріальна гіпертензія та операції, травми очей. Встановлено, що жіноча стать зменшує вік розвитку ВДМ на 1,1 роки, проживання у сільській місцевості – на 3,7 роки, куріння – на 4,8 роки, вживання алкоголю – на 1,7 роки, робота з іонізуючим випромінюванням – на 5,2 роки. На противагу цьому, заняття спортом (на 2,3 роки), артеріальна гіпертензія (на 5,1 роки) та операції, травми очей (на 6,05 роки) збільшують прогнозований вік розвитку ВДМ.

Враховуючи факт наявності зв'язків гаплотипів, які містять алелі ризику, з виникненням та тяжкістю перебігу ВДМ [42-44], в ході дослідження аналізували розподіл гаплотипів вивчених поліморфізмів у групах хворих та вивчили їх зв'язок з формами ВДМ. Проводячи аналіз результатів, за порядком подання матеріалу генотипи у гаплотипі завжди чергували таким чином: rs10490924 гена ARMS2 – rs800292 гена CFH – rs2010963 гена VEGFA – rs966647 гена VEGFA.

Аналіз за гаплотипами виявив три варіанти, які суттєво знижують шанси розвитку ВДМ (G/G-G/G-G/G-C/A; G/G-G/G-G/C-C/A і G/T-G/G-G/G-C/C). Виявлено 10 гаплотипів, які притаманні тільки хворим на ВДМ. Для розрахунку ймовірності розвитку ВДМ при наявності інших гаплотипів була побудована ROC-крива логістичної регресійної моделі визначення ймовірності розвитку ВДМ. Площа під кривою $AUC=0,693\pm0,048$ (95% ВІ 0,598-0,787) статистично значуще ($p=2,62e-04$) відрізнялася від 0,5 (нульова гіпотеза), що підтверджувало наявність зв'язку між ризиком розвитку ВДМ і гаплотипом пацієнта.

Завдяки аналізу логістичної регресійної моделі, нами була побудована математична модель розрахунку ймовірності розвитку ВДМ (ф.4, розділ 5.5), з урахуванням гаплотипів. Визначено, що гаплотипи з ймовірністю більш, ніж 0,441 є гаплотипами ризику відносно цієї патології з безпомилковістю прогнозу на рівні 80,8%.

Одним із основних дієвих принципів сучасної медицини виступає профілактика захворювань. У цьому аспекті найважливішими складовими елементами повсякденної практики лікаря офтальмолога при амбулаторно-поліклінічній допомозі є отримання можливостей прогнозування ризиків розвитку окремих інвалідизуючих захворювань органу зору, зокрема вікова дегенерація макули. Це дозволить провести своєчасну доклінічну діагностику, проінформувти пацієнта про можливі зміни в стані його здоров'я та вжити можливих профілактичних заходів, які уповільнять розвиток захворювання, або стримають його прогресування.

Результати проведених нами досліджень стали свідченням високої значимості генетичного методу для оцінки можливих факторів ризику розвитку різних форм ВДМ. На жаль, незважаючи на існуючі у світі новітні можливості виявлення генів-позитивних по даному захворюванню груп пацієнтів, в нашій країні генетичні дослідження в цьому напрямку поодинокі та не впроваджені в роботу закладів охорони здоров'я достатньою мірою для адекватного скринінгу ВДМ і визначення груп ризику для її ускладнених форм.

Отримані нами дані доводять, що включення в діагностичний процес визначення генетичного поліморфізму гена ARMS2 (rs10490924), гена CFH

(rs800292), гена VEGFA (rs2010963 та rs966647), а також визначення гаплотипів для кожного пацієнта дозволить прогнозувати розвиток ВДМ.

Розроблена в результаті дослідження математична модель прогнозування віку розвитку ВДМ, яка враховує гаплотип, ІМТ, стать та показники, що характеризують стиль життя і звички пацієнта, має високий ступень вірогідності (коефіцієнт множинної кореляції $R=0,73$; коефіцієнт детермінації $R_2=0,54$ ($F=16,94$; $p<0,0001$) та може бути використана в щоденній практиці лікаря-офтальмолога першої та другої ланки надання спеціалізованої офтальмологічної допомоги.

Методика активного медичного менеджменту хворих при амбулаторно-поліклінічній допомозі з визначенням індивідуального ризику розвитку і прогресування вікової дегенерації макули полягає у використанні під час первинного огляду пацієнтів запропонованих нами математичних моделей, які допоможуть розрахувати ймовірні ступені ризику розвитку ВДМ з урахуванням генетичних поліморфізмів (ф.1), ризику розвитку «волової» форми ВДМ (ф.2), віку розвитку ВДМ (ф.3), ймовірність розвитку ВДМ з урахуванням гаплотипів (ф.4) як у самих хворих, так і у членів їх сімей.

Застосовуючи зазначені математичні моделі в первинному скринінгу лікар офтальмолог поліклініки отримує можливість провести розподіл пацієнтів у групи максимального ризику розвитку вікової дегенерації макули за різними її формами, спланувати режим їх диспансерного спостереження, сформулювати необхідні рекомендації щодо стилю життя та необхідності застосування додаткового медичного супроводу з використанням профілактичних препаратів. Впровадження такого менеджменту буде сприяти покращанню якості життя пацієнтів, максимально довгому збереженню зорових функцій у пацієнтів з віковою дегенерацією макули та зниженню рівнів слабкозорості та сліпоти від цього тяжкого інвалідизуючого захворювання.

Крім того, впровадження визначення генетичних маркерів в рутинну офтальмологічну практику допоможе у плануванні індивідуального менеджменту для кожного пацієнта без ВДМ, що значно підвищить якість офтальмологічної допомоги на первинному та вторинному рівні надання медичної допомоги

населенню України.

Впровадження новітніх технологій та моделей діагностики із застосуванням генетичних маркерів та визначення факторів ризику в активний медичний менеджмент хворих на ВДМ при амбулаторно-поліклінічній допомозі дозволить підвищити не тільки якість надання медичної допомоги населенню, але й задовольнить потреби і якість життя конкретного пацієнта, підвищить потенціал суспільного здоров'я, що вирішить важливу науково-прикладну задачу сучасної офтальмології.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ У РОЗДІЛІ 6

1. Lim L. S. Age-related macular degeneration / L. S. Lim, P. Mitchell, J. M. Seddon, F. G. Holz, T. Y. Wong // *Lancet*. – 2012. – Vol .379. – P.1728-1738.
2. Seddon J. M. The US twin study of age- related macular degeneration: relative roles of genetic and environmental influences / J. M. Seddon, J. Cote, W. F. Page, S. H. Aggen, M. C. Neale // *Arch Ophthal*. – 2005. – Vol.123. – P.321-327.
3. Jonasson F. Five-year incidence, progression, and risk factors for age-related macular degeneration: the age, gene/environment susceptibility study / F. Jonasson, D. E. Fisher, G. Eiriksdottir [et al.] // *Ophthalmology*. – 2014. – Vol.121(9). – P.1766-1772.
4. Белехова С. Г. Роль генетически детерминированных факторов в патогенезе возрастной макулярной дегенерации / С. Г. Белехова, Ю. С. Астахов // *Офтальмологические ведомости*. – 2015. – Т.8, № 4. – С. 0-39.
5. Gass D. J. Drusen and disciform macular detachment and degeneration / D. J. Gass // *Trans Am Ophthalmol Soc*. – 1972. – Vol.70. – P.409-436.
6. Hammond C. J. Genetic influence on early age-related maculopathy: a twin study / C. J. Hammond, A. R. Webster, H. Snieder [et all.] // *Ophthalmology*. – 2002. – Vol.109. – P.730-736.
7. Jakobsdottir J. Susceptibility genes for age-related maculopathy on chromosome 10q26 / J. Jakobsdottir, Y. P. Conley, D. E. Weeks, T. S. Mah, R. E. Ferrell, M. B. Gorin // *Am J Hum Genet*. – 2005. – Vol. 77 (3). – P.389-407.

8. Deangelis M. M. Alleles in the HtrA serine peptidase 1 gene alter the risk of neovascular age-related macular degeneration / M. M. Deangelis, F. Ji, S. Adams, M. A. Morrison, A. J. Harring, M. O. Sweeney [et al.] // *Ophthalmology*. – 2008. – Vol.115. – P.1209-1215.
9. Haddad S. The genetics of age-related macular degeneration: a review of progress to date / S. Haddad, C. A. Chen, S. L. Santangelo, J. M. Seddon // *Surv Ophthalmol*. – 2006. – Vol.51. – P.316-363.
10. Yang Z. A variant of the HTRA1 gene increases susceptibility to age-related macular degeneration / Z. Yang, N. J. Camp, H. Sun, Z. Tong, D. Gibbs, D. J. Cameron, H. Chen, Y. Zhao, E. Pearson, X. Li, J. Chien, A. Dewan, J. Harmon, P. S. Bernstein, V. Shridhar, N. A. Zabriskie, J. Hoh, K. Howes, K. Zhang // *Science*. – 2006. – Vol.314(5801). – P.992-993.
11. Clemons T. E. 3rd. Risk factors for the incidence of Advanced Age-Related Macular Degeneration in the Age-Related Eye Disease Study (AREDS) AREDS report no.19. / T.E .Clemons, R.C. Milton, R. Klein, J.M. Seddon, F.L. Ferris // *Ophthalmology*. – 2005. – Vol.112(4). – P.33-99
12. 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.
13. Klein R. J. Ten-year incidence and progression of age-related maculopathy: The Beaver Dam Eye Study / R.J. Klein, B.E. Klein, S.C. Tomany, [et al.] // *Ophthalmology*. – 2002. – Vol.109. – P.1767-1779.
14. Завгородняя Н. Г. / Возрастная макулярная дегенерация сетчатки: учеб. пособие для студентов 4 курса медицинского факультета для врачей-интернов по специальности «Офтальмология» и «Общая практика – семейная медицина» / Н. Г. Завгородняя, Л. Э. Саржевская, И. А. Поплавская // Запоріжжя: ЗДМУ. – 2015. – 61 с.
15. Yang X. Polymorphisms in CFH, HTRA1 and CX3CR1 confer risk to exudative age-related macular degeneration in Han Chinese / X. Yang, J. Hu, J. Zhang, H. Guan // *Br. J. Ophthalmol*. – 2010. – Vol.94. – №9. – P.1211-1214.

- 16.Пасечникова Н. В. Новая клиническая классификация возрастной макулярной дегенерации / Н. В. Пасечникова // Новости медицины и фармации. – 2012. – №4(402) – 90 с.
- 17.Акопян В. С. Классификация возрастной макулярной дегенерации / В. С. Акопян // «Макула – 2004»: тез. докл., стеногр. дискус. – Ростов-на-Дону: Фактор времени. – 2004. – С.90-93.
- 18.Будзинская М. В. Влияние генетических мутаций на клиническую картину субретинальной неоваскуляризации. Сообщение 2. Роль полиморфизмов генов HTRA и VEGF / М. В. Будзинская, Т. В. Погода, И. Д. Стрелкова // Вестник офтальмологии: Двухмесячный научно-практический журнал. – 2011. – Т. 127, №4. – С.9-16.
- 19.Colak E. The role of CRP and inflammation in the pathogenesis of age related macular degeneration / E. Colak [et al.] // Biochem Med (Zagreb). – 2012. – Vol.22(1). – P.39-48.
- 20.Kortvely E. The unconventional secretion of ARMS2 / E. Kortvely, S. M. Hauck, J. Behler, N. Ho, M. Ueffing // Hum Mol Genet. – 2016. –Vol.25(15). – P. 3143-3151.
- 21.Бойко Э. В. Молекулярно-генетические основы ВМД / Э. В. Бойко, С. В. Чурашов, Т. А. Камилова // Вестник офтальмологии. – 2013. – Том 129, №2. – С.86-90.
- 22.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.
- 23.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.
- 24.Allikmets R. Mutation of the Stargardt disease gene (ABCR) in age-related macular degeneration / R. Allikmets, N. F. Shroyer, Singh N. [et al.] // Science. – 1997. – Vol.277(5). – P.1805-1807.

- 25.Souied E. H. ABCR gene analysis in familial exudative age-related macular degeneration / E. H. Souied, D. Ducroq, J. M. Rozet [et al.] // Invest Ophthalmol Vis Sci. – 2000. – Vol.41(1). – P.244-247.
- 26.Yoneyama S. Genetic factors associated with choroidal vascular hyperpermeability and subfoveal choroidal thickness in polypoidal choroidal vasculopathy / S. Yoneyama, Y. Sakurada, W. Kikushima [et al.] // Retina. – 2016. – Vol.36(8). – P.1535-1541.
- 27.Kumaramanickavel G. Age-Related Macular Degeneration: Genetics and Biology / G. Kumaramanickavel // Asia Pac J Ophthalmol (Phila). – 2016. – Vol.5(4). – P.229-235.
- 28.Nowak J. Z. Age-related macular degeneration (AMD): pathogenesis and therapy / J. Z. Nowak // Pharmacol Rep. – 2006. – Vol.58. – P.353-363
- 29.Milam A. H. Dominant late-onset retinal degeneration with regional variation of sub-retinal pigment epithelium deposits, retinal function and photoreceptor degeneration / A. H. Milam, C. A. Curcio, A. V. Cidaciyan [et al.] // Ophthalmology. – 2002. – Vol.107. – P.2256-2266.
- 30.Perry W. Y. Peripapillary chorioretinal atrophy: Bruch membrane changes and photoreceptor loss / W. Y. Perry, A. C. Christine // Ophthalmology. – 2002. – Vol.107. – P.334-343.
- 31.Бикбов М. М. Возрастная макулярная дегенерация / М. М. Бикбов, Р. Р. Файзрахманов, Я. Л. Ярмухаметова // М. – 2013. – 196 с.
- 32.Хороших Ю. И. Современные взгляды на проблему патогенеза и лечения «влажной» формы возрастной макулярной дегенерации / Ю. И. Хороших, О. И. Кривошеина // Соврем. проблемы науки и образования. – 2014. – № 2. – С.1-14.
- 33.Tatar O. Expression of VEGF and PEDF in choroidal neovascular membranes following verteporfin photodynamic therapy / O. Tatar, A. Adam, K. Shinoda [et al.] // Am. J. Ophthalmol. – 2006. – Vol.142. – №1. – P.95-104.
- 34.Егоров Е. А. Современные направления в лечении инволюционной центральной хориоретинальной дистрофии / Е. А. Егоров, Д. В. Кац // Актуальные вопросы терапии. – 2006. – №5. – С.2-6.

- 35.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.
- 36.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.
- 37.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. Smailhodzic [et al.] // *JAMA Ophthalmol*. – 2015. – Vol.133(5). – P.533-541.
- 38.Cherney E.F. Патогенез сосудистой макулодистрофии / E.F. Cherney // *Офтальмологический конгресс «Белые ночи»: тез. докл. СПб.* – 2001. – P.3-5.
- 39.Kabasawa S. Associations of cigarette smoking but not serum fatty acids with age-related macular degeneration in a Japanese population / S. Kabasawa, K. Mori, K. Horie-Inoue [et al.] // *Ophthalmology*. – 2011. – Vol.118. – P.1082-1088.
- 40.Miyake M. The Contribution of Genetic Architecture to the 10-Year Incidence of Age-Related Macular Degeneration in the Fellow Eye / M. Miyake, K. Yamashiro, H. Tamura [et al.] // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci*. 2015. – Vol.56(9). – P.5353-5361.
- 41.Tamura H. Association of ARMS2 genotype with bilateral involvement of exudative age-related macular degeneration / H. Tamura, A. Tsujikawa, K. Yamashiro [et al.] // *Am. J. Ophthalmol*. – 2012. – Vol.154(3). – P.542-548.
- 42.Babanejad M. Investigating the CFH Gene Polymorphisms as a Risk Factor for Age-related Macular Degeneration in an Iranian Population / H. Moein, M. R. Akbari [et al.] // *Ophthalmic. Genet*. – 2016. – Vol.37(2). – P.144-149.
- 43.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.

44. Sakurada Y. Prevalence and Genetic Characteristics of Geographic Atrophy among Elderly Japanese with Age-Related Macular Degeneration / Y. Sakurada, S. Yoneyama, A. Sugiyama [et al.] // PLoS One. – 2016. – Vol.11(2). – e. 0149978.

ВИСНОВКИ

1. Вікова дегенерація макули – найчастіша причина значної та незворотної втрати центрального зору, що посідає третє місце серед причин сліпоти у світі та друге місце у економічно розвинених країнах. В Україні близько 1 млн. людей старше 50 років мають різноманітні прояви вікової дегенерації макули та сітківки. Хронічний перебіг та постійне прогресування захворювання не дозволяють досягти стабільного результату від лікування. Можливості генетичних методів та визначення факторів ризику маловивчені і практично не застосовуються в клініці. Вивчення особливостей молекулярно-генетичних механізмів розвитку, розробка методів прогнозування перебігу патології, удосконалення патогенетично обґрунтованої тактики діагностики пацієнтів цієї категорії залишається актуальним завданням сучасної офтальмології.

2. Уперше встановлено, що з розвитком вікової дегенерації макули в Україні мали асоціацію поліморфні генотипи та алелі rs10490924 гена ARMS2, rs800292 гена CFH та rs2010963 гена VEGFA ($p_{(\chi^2)} < 0,04$), а генотипи та алелі поліморфізму rs699947 гена VEGFA такої асоціації не мали ($P_{Fet} > 0,05$). При стратифікації за наявністю «сухої» форми ВДМ асоціація з захворюванням зберігалася тільки для алелей rs2010963 гена VEGFA ($\chi^2 = 4,28$; $p = 0,04$). Поліморфізм алелей мав асоціацію із розвитком друз середнього розміру ($r = 0,52$), географічної атрофії ($r = 0,47$) та зміни пігментного епітелію ($r = 0,45$) ($p < 0,05$). При стратифікації за наявністю «вологої» форми ВДМ сила зв'язку у порівнянні з хворими без розподілу по формі ВДМ збільшувалася для поліморфізмів rs10490924 гена ARMS2 ($p_{Fet} = 0,03$) і rs800292 гена CFH ($p_{\chi^2} < 0,001$). Для поліморфізму rs2010963 гена VEGFA зв'язок з «вологою» формою мав місце і для алелей ($p_{(\chi^2)} = 0,005$), і для генотипів ($p_{(\chi^2)} = 0,01$). Мінорний генотип A/A поліморфізму rs699947 гена VEGFA виявив асоціацію тільки з «вологою» формою ВДМ ($p_{\chi^2} = 0,02$). Встановлено, що із розвитком хоріоретинальної судинної проліферації вирогідний взаємозв'язок середнього ступеня мали мінорний генотип A/A та мінорна алель A поліморфізму rs699947 гена VEGFA та поліморфізму rs800292 гена CFH ($r = 0,63$, $r = -0,49$, $r = 0,53$, $r = 0,46$ відповідно, $p < 0,05$).

3. При порівнянні груп з «сухою» та «вологою» ВДМ між собою визначено, що

поліморфізми rs800292 гена CFH та rs699947 гена VEGFA визначали форму ВДМ. Мінорна алель А поліморфізму rs800292 гена CFH підвищувала у два рази шанси розвитку «вологої» форми ВДМ у порівнянні з «сухою» формою ($OR=2,04$; 95% BI 1,26-3,32), предкова алель G такі шанси удвічі знижувала ($OR=0,49$; 95% BI 0,30-0,80) ($p_{\chi^2}=0,004$). Мінорна алель А поліморфізму rs699947 гена VEGFA підвищувала удвічі шанси розвитку «вологої» форми ВДМ у порівнянні з «сухою» формою ($OR=2,01$; 95% BI 1,24-3,24), предкова алель С такі шанси удвічі знижувала ($OR=0,50$; 95% BI 0,31-0,80) ($p_{\chi^2}=0,004$). «Суха» форма була асоційована з наявністю предкових алелей (G та C), «волога» форма – з наявністю мінорних алелей (в обох випадках А).

4. Установлено, при «сухій» формі ВДМ поліморфізми rs10490924 гена ARMS2 ($p(F)<0,02$) і rs800292 гена CFH ($p(F)<0,04$) мали патогенетичне значення (ризикове по виникненню до ВДМ), оскільки сприяли гіперхолестеринемії, атерогенній дисліпідемії та згущенню крові. Вперше визначено, що мінорні гомозиготні генотипи всіх досліджених поліморфізмів збільшують ризик двобічного ураження при ВДМ, тоді як предкові гомозиготи такий ризик зменшують. Особливо це стосувалося rs800292 гена CFH: ризик двобічного ураження для носіїв мінорної гомозиготи А/А був збільшений у 19,2 раза ($OR=19,24$; 95% BI 6,01-61,61).

5. За допомогою регресійного аналізу вперше визначено, що в Україні три генотипи (ARMS2 rs10490924, CFH rs800292 і VEGFA rs2010963) визначають розвиток ВДМ (ймовірності розвитку ВДМ більш ніж 0,493) з безпомилковим прогнозом на рівні 78,0% та два генотипи (CFH rs800292 і VEGFA rs699947, $p=0,003$) визначають розвиток «вологої» форми ВДМ (ймовірності розвитку ВДМ більш ніж 0,416) з безпомилковим прогнозом на рівні 63,9%.

6. Використовуючи аналіз логістичної регресійної моделі, розроблено математичну модель розрахунку ймовірності розвитку ВДМ з урахуванням гаплотипів. Визначено, що гаплотипи з ймовірністю більш, ніж 0,441 є гаплотипами ризику відносно цієї патології з безпомилкововістю прогнозу на рівні 80,8%. В Україні вперше виявлено 10 гаплотипів, які притаманні тільки хворим на ВДМ. Аналіз за гаплотипами виявив три варіанти, які знижують шанси розвитку ВДМ

(G/G-G/G-G/G-C/A; G/G-G/G-G/C-C/A і G/T-G/G-G/G-C/C).

7. Розроблено методику активного медичного менеджменту хворих при амбулаторно-поліклінічній допомозі, яка полягає у використанні під час первинного огляду пацієнтів розроблених математичних моделей прогнозування ймовірних ризиків розвитку ВДМ, ризиків розвитку «вологодської» форми ВДМ та віку розвитку ВДМ, як у самих хворих, так і у членів їх сімей. Розроблена математична модель прогнозування віку розвитку ВДМ враховує гаплотип, ІМТ, стать та показники, що характеризують стиль життя та звички пацієнта; модель має високий ступень вірогідності (коефіцієнт множинної кореляції $R=0,73$; коефіцієнт детермінації $R_2=0,54$ ($F=16,94$; $p<0,0001$) та може бути використана для визначення індивідуального ризику розвитку ВДМ.

8. Спосіб прогнозування віку розвитку вікової макулярної дегенерації в залежності від генетичних і клінічних показників включено в Науково-практичне та медико-біологічне нововведення №268/4/17 та впроваджено в практичну роботу Державної наукової установи «Науково-практичний центр профілактичної та клінічної медицини» Державного управління справами (м. Київ), консультативно-діагностичної поліклініки Київської міської клінічної офтальмологічної лікарні «Центр мікрохірургії ока», Дніпропетровської обласної клінічної офтальмологічної лікарні, а також включено в учбовий процес кафедр офтальмології Національної медичної академії післядипломної освіти імені П.Л. Шупика, імені Б.Л. Радзіховського Буковинського державного медичного університету, Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова та Одеського національного медичного університету.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

Розроблена методика активного медичного менеджменту хворих на вікову дегенерацію макули при амбулаторно-поліклінічній допомозі. Застосування рекомендовано:

1. Пацієнтам, старшим 50 років, рекомендовано використовувати запропоновану математичну модель для розрахунку ймовірності розвитку ВДМ, яка включає три генотипи: ARMS2 (rs10490924); CFH (rs800292) і VEGFA (rs2010963) (ф.1) як у самих хворих, так і у членів їх сімей для визначення індивідуального ризику розвитку ВДМ, що дозволить лікарю провести розподіл пацієнтів у групи максимального ризику розвитку вікової дегенерації макули за різними її формами та спланувати режим їх диспансерного спостереження.

2. У пацієнтів, старших 50 років, доцільно використовувати запропоновану математичну модель прогнозування ймовірності розвитку ВДМ (ф.4) для кожного з варіантів гаплотипу (G/G-G/G-G/C/A; G/G-G/G-G/C-C/A і G/T-G/G-G/G-C/C), що дозволяє скласти індивідуальний прогноз для кожної людини ще до розвитку патологічних ознак та застосувати відповідні профілактичні засоби протягом життя.

3. У пацієнтів з діагностованою віковою дегенерацією макули доцільно використовувати математичну модель для розрахунку ймовірності розвитку «вологої» форми ВДМ, регресійне рівняння (ф.2), яке включає два генотипи CFH (rs800292) і VEGFA (rs699947), що дозволить спланувати тактику їх подальшого лікування.

4. У пацієнтів, старше 50 років, рекомендовано використовувати математичну модель для прогнозування «віку» розвитку ВДМ (Ф.3), яка включає 10 показників: генотип ARMS2 (rs10490924), ІМТ, стать, умови проживання та спосіб життя, шкідливі звички, робота з іонізуючим випромінюванням, артеріальна гіпертензія, наявність у анамнезі очних операцій і травм, і дозволить сформувати необхідні рекомендації щодо стилю життя та необхідності застосування додаткового медичного супроводу з використанням профілактичних препаратів.

ДОДАТКИ

Додаток №1.

Акти впровадження результатів роботи у науковій та практичній діяльності.

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
 Перший проректор
 Національної медичної
 академії післядипломної освіти
 імені П.Л. Шупика
 член-кор. НАМН України,
 професор Вдовиченко Ю.П.



«14» 09 2018р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** Спосіб прогнозування віку розвитку вікової макулярної дегенерації в залежності від клінічних та генетичних показників.
2. **Установа – розробник, автори:** Національна медична академія післядипломної освіти імені П.Л. Шупика (вул. Дорогожицька, 9, м. Київ, 04112), кафедра офтальмології, д.мед.н., професор Риков Сергій Олександрович, д.мед.н., доцент Шаргородська Ірина Василівна; Фролова Світлана Сергіївна.
3. **Джерело інформації:** Нововведення: Спосіб прогнозування віку розвитку вікової макулярної дегенерації в залежності від клінічних та генетичних показників. / С.О. Риков, І.В. Шаргородська, С.С. Фролова // Перелік наукової (науково-технічної) продукції призначеної для впровадження досягнень медичної науки у сферу охорони здоров'я. – Київ. – 2018.
4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра офтальмології Національної медичної академії післядипломної освіти імені П.Л. Шупика.
5. **Форми впровадження:** матеріали використовуються в навчальному процесі кафедри офтальмології – лекційному курсі та при проведенні семінарських і практичних занять, а також в лікувально-діагностичній роботі.
6. **Термін впровадження:** січень-грудень 2017 року.
7. **Зауваження та пропозиції:** впровадження дозволить підвищити ефективність діагностики вікової дегенерації макули; визначити ризики розвитку ВДМ з урахуванням генетичних поліморфізмів, ризики розвитку «волової» форми ВДМ, вік розвитку ВДМ, ймовірність розвитку ВДМ з урахуванням гаплотипів, за допомогою яких можна визначити індивідуальний ризик розвитку ВДМ та спланувати режим профілактики та диспансерного спостереження у жінок і чоловіків; деталізувати патогенетичні механізми розвитку вікової дегенерації макули під час викладання тем «Методи дослідження в офтальмології», «Захворювання сітківки та скловидного тіла».
8. **Протокол засідання кафедри №2 від 5 лютого 2018 року.**

Завідувач кафедри офтальмології
 д.мед.н., професор



С.О. Риков

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Головний лікар
Київської міської клінічної
офтальмологічної лікарні ЦМХО
Денисюк Д.

«15» 2018 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** Спосіб прогнозування віку розвитку вікової макулярної дегенерації в залежності від клінічних та генетичних показників.

2. **Установа – розробник, автори:** Національна медична академія післядипломної освіти імені П.Л. Шупика (вул. Дорогожицька, 9, м. Київ, 04112), кафедра офтальмології, д.мед.н., професор Риков Сергій Олександрович, д.мед.н., доцент Шаргородська Ірина Василівна; Фролова Світлана Сергіївна.

3. **Джерело інформації:** Нововведення: Спосіб прогнозування віку розвитку вікової макулярної дегенерації в залежності від клінічних та генетичних показників. / С.О. Риков, І.В. Шаргородська, С.С. Фролова // Перелік наукової (науково-технічної) продукції призначеної для впровадження досягнень медичної науки у сферу охорони здоров'я. – Київ. – 2018.

4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** Київська міська клінічна офтальмологічна лікарня «Центр мікрохірургії ока», поліклінічне відділення.

5. **Форми впровадження:** матеріали використовуються в лікувально-діагностичній роботі.

6. **Термін впровадження:** січень 2016 – грудень 2017 року.

7. **Ефективність:** впровадження дозволить підвищити ефективність діагностики вікової дегенерації макули; визначити ризики розвитку ВДМ з урахуванням генетичних поліморфізмів, ризики розвитку «вологої» форми ВДМ, вік розвитку ВДМ, ймовірність розвитку ВДМ з урахуванням гаплотипів, за допомогою яких можна визначити індивідуальний ризик розвитку ВДМ та спланувати режим профілактики та диспансерного спостереження у жінок і чоловіків.

8. **Зауваження та пропозиції:** не має.

Відповідальний за впровадження:
Заступник головного лікаря з питань
експертизи якості медичної допомоги
КМКОЛ «Центр мікрохірургії ока»

Л.В. Корнілов

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Директор

Державної наукової установи

«Науково-практичний центр

профілактичної та клінічної медицини»

Державного управління справами, м. Київ

 Д. Д. Дячук
2018 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** Спосіб прогнозування віку розвитку вікової макулярної дегенерації в залежності від клінічних та генетичних показників.

2. **Установа – розробник, автори:** Національна медична академія післядипломної освіти імені П.Л. Шупика (вул. Дорогожицька, 9, м. Київ, 04112), кафедра офтальмології, д.мед.н., професор Риков Сергій Олександрович, д.мед.н., доцент Шаргородська Ірина Василівна; Фролова Світлана Сергіївна.

3. **Джерело інформації:** Ноловведення: Спосіб прогнозування віку розвитку вікової макулярної дегенерації в залежності від клінічних та генетичних показників. / С.О. Риков, І.В. Шаргородська, С.С. Фролова // Перелік наукової (науково-технічної) продукції призначеної для впровадження досягнень медичної науки у сферу охорони здоров'я. – Київ. – 2018.

4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** Державна наукова установа «Науково-практичний центр профілактичної та клінічної медицини» Державного управління справами, м. Київ.

5. **Форми впровадження:** матеріали використовуються в лікувально-діагностичній роботі.

6. **Термін впровадження:** січень 2016 – грудень 2017 року.

7. **Ефективність:** впровадження дозволить підвищити ефективність діагностики вікової дегенерації макули; визначити ризики розвитку ВДМ з урахуванням генетичних поліморфізмів, ризики розвитку «вологої» форми ВДМ, вік розвитку ВДМ, ймовірність розвитку ВДМ з урахуванням гаплотипів, за допомогою яких можна визначити індивідуальний ризик розвитку ВДМ та спланувати режим профілактики та диспансерного спостереження у жінок і чоловіків.

8. **Зауваження та пропозиції:** не має.

Відповідальний за впровадження
Лікар офтальмологічного відділення
КДЦ Державної наукової установи
«Науково-практичний центр
профілактичної та клінічної медицини»
Державного управління справами



С.С. Фролова



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** Спосіб прогнозування віку розвитку вікової макулярної дегенерації в залежності від клінічних та генетичних показників.
2. **Установа – розробник, автори:** Національна медична академія післядипломної освіти імені П.Л. Шупика (вул. Дорогожицька, 9, м. Київ, 04112), кафедра офтальмології, д.мед.н., професор Риков Сергій Олександрович, д.мед.н., доцент Шаргородська Ірина Василівна; Фролова Світлана Сергіївна.
3. **Джерело інформації:** Нововведення: Спосіб прогнозування віку розвитку вікової макулярної дегенерації в залежності від клінічних та генетичних показників. / С.О. Риков, І.В. Шаргородська, С.С. Фролова // Перелік наукової (науково-технічної) продукції призначеної для впровадження досягнень медичної науки у сферу охорони здоров'я. – Київ. – 2018.
4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра очних хвороб Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова.
5. **Форми впровадження:** матеріали використовуються в навчальному процесі кафедри офтальмології – лекційному курсі та при проведенні семінарських і практичних занять, а також в лікувально-діагностичній роботі.
6. **Термін впровадження:** січень-грудень 2017 року.
7. **Зауваження та пропозиції:** впровадження дозволить підвищити ефективність діагностики вікової дегенерації макули; визначити ризики розвитку ВДМ з урахуванням генетичних поліморфізмів, ризики розвитку «волової» форми ВДМ, вік розвитку ВДМ, ймовірність розвитку ВДМ з урахуванням гаплотипів, за допомогою яких можна визначити індивідуальний ризик розвитку ВДМ та спланувати режим профілактики та диспансерного спостереження у жінок і чоловіків; деталізувати патогенетичні механізми розвитку вікової дегенерації макули під час викладання тем «Методи дослідження в офтальмології», «Захворювання сітківки та скловидного тіла».
8. **Протокол засідання кафедри № 10 під 11.05.2018 року.**

Відповідальний за впровадження:
к. мед.н., доцент

Завідувач кафедри очних хвороб
д.мед.н., професор

Андрушкова О.О.

Малачкова Н.В.

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор

з науково-педагогічної роботи

Буковинського державного медичного

університету

д.мед.н., професор

Горун І.В.

«17» 05 2018р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** Спосіб прогнозування віку розвитку вікової макулярної дегенерації в залежності від клінічних та генетичних показників.

2. **Установа – розробник, автори:** Національна медична академія післядипломної освіти імені П.Л. Шупика (вул. Дорогожицька, 9, м. Київ, 04112), кафедра офтальмології, д.мед.н., професор Риков Сергій Олександрович, д.мед.н., доцент Шаргородська Ірина Василівна; Фролова Світлана Сергіївна.

3. **Джерело інформації:** Нововведення: Спосіб прогнозування віку розвитку вікової макулярної дегенерації в залежності від клінічних та генетичних показників. / С.О. Риков, І.В. Шаргородська, С.С. Фролова // Перелік наукової (науково-технічної) продукції призначеної для впровадження досягнень медичної науки у сферу охорони здоров'я. – Київ. – 2018.

4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра офтальмології імені Б.Л. Радзіховського Буковинського державного медичного університету.

5. **Форми впровадження:** матеріали використовуються в навчальному процесі кафедри офтальмології – лекційному курсі та при проведенні семінарських і практичних занять, а також в лікувально-діагностичній роботі.

6. **Термін впровадження:** січень-грудень 2017 року.

7. **Зауваження та пропозиції:** впровадження дозволить підвищити ефективність діагностики вікової дегенерації макули; визначити ризики розвитку ВДМ з урахуванням генетичних поліморфізмів, ризики розвитку «вологої» форми ВДМ, вік розвитку ВДМ, ймовірність розвитку ВДМ з урахуванням гаплотипів, за допомогою яких можна визначити індивідуальний ризик розвитку ВДМ та спланувати режим профілактики та диспансерного спостереження у жінок і чоловіків; деталізувати патогенетичні механізми розвитку вікової дегенерації макули під час викладання тем «Методи дослідження в офтальмології», «Захворювання сітківки та скловидного тіла».

8. **Протокол засідання кафедри №16 від 15.05 2018 року.**

Завідувач кафедри офтальмології
імені Б.Л. Радзіховського
д.мед.н., професор



Я.І. Пенішкевич

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Голова комісії з реорганізації,
директор Дніпропетровської обласної
клінічної офтальмологічної лікарні
Доктор медичних наук



2018 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** Спосіб прогнозування віку розвитку вікової макулярної дегенерації в залежності від клінічних та генетичних показників.

2. **Установа – розробник, автори:** Національна медична академія післядипломної освіти імені П.Л. Шупика (вул. Дорогожицька, 9, м. Київ, 04112), кафедра офтальмології, д.мед.н., професор Риков Сергій Олександрович, д.мед.н., доцент Шаргородська Ірина Василівна; Фролова Світлана Сергіївна.

3. **Джерело інформації:** Нововведення: Спосіб прогнозування віку розвитку вікової макулярної дегенерації в залежності від клінічних та генетичних показників. / С.О. Риков, І.В. Шаргородська, С.С. Фролова // Перелік наукової (науково-технічної) продукції призначеної для впровадження досягнень медичної науки у сферу охорони здоров'я. – Київ. – 2018.

4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** Дніпропетровська обласна клінічна офтальмологічна лікарня.

5. **Форми впровадження:** матеріали використовуються в лікувально-діагностичній роботі.

6. **Термін впровадження:** січень 2016 – грудень 2017 року.

7. **Ефективність:** впровадження дозволить підвищити ефективність діагностики вікової дегенерації макули; визначити ризики розвитку ВДМ з урахуванням генетичних поліморфізмів, ризики розвитку «вологої» форми ВДМ, вік розвитку ВДМ, ймовірність розвитку ВДМ з урахуванням гаплотипів, за допомогою яких можна визначити індивідуальний ризик розвитку ВДМ та спланувати режим профілактики та диспансерного спостереження у жінок і чоловіків.

8. **Зауваження та пропозиції:** немає.

Відповідальний за впровадження
заступник директора ДОКОЛ

С. Б. Устименко

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор

з науково-педагогічної роботи
(навчально-методичної)Одеського національного медичного
університету.

д.мед.н., професор Ульянов В.О.

«15»

03

2018р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** Спосіб прогнозування віку розвитку вікової макулярної дегенерації в залежності від клінічних та генетичних показників.

2. **Установа – розробник, автори:** Національна медична академія післядипломної освіти імені П.Л. Шупика (вул. Дорогожицька, 9, м. Київ, 04112), кафедра офтальмології, д.мед.н., професор Риков Сергій Олександрович, д.мед.н., доцент Шаргородська Ірина Василівна; Фролова Світлана Сергіївна.

3. **Джерело інформації:** Нововведення: Спосіб прогнозування віку розвитку вікової макулярної дегенерації в залежності від клінічних та генетичних показників. / С.О. Риков, І.В. Шаргородська, С.С. Фролова // Перелік наукової (науково-технічної) продукції призначеної для впровадження досягнень медичної науки у сферу охорони здоров'я. – Київ. – 2018.

4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра офтальмології Одеського національного медичного університету.

5. **Форми впровадження:** матеріали використовуються в навчальному процесі кафедри офтальмології – лекційному курсі та при проведенні семінарських і практичних занять, а також в лікувально-діагностичній роботі.

6. **Термін впровадження:** січень-грудень 2017 року.

7. **Зауваження та пропозиції:** впровадження дозволить підвищити ефективність діагностики вікової дегенерації макули; визначити ризики розвитку ВДМ з урахуванням генетичних поліморфізмів, ризики розвитку «вологої» форми ВДМ, вік розвитку ВДМ, ймовірність розвитку ВДМ з урахуванням гаплотипів, за допомогою яких можна визначити індивідуальний ризик розвитку ВДМ та спланувати режим профілактики та диспансерного спостереження у жінок і чоловіків; деталізувати патогенетичні механізми розвитку вікової дегенерації макули під час викладання тем «Методи дослідження в офтальмології», «Захворювання сітківки та скловидного тіла».

8. **Протокол засідання кафедри № 5 від 12 березня 2018 року.**

Завідувач кафедри офтальмології
Д.мед.н., професор



Л.В. Венгер

Додаток №2.

Список публікацій здобувача

1. Shargorodska I.V. New possibilities for determining the risk factors for the development of age-related macular degeneration / I. V. Shargorodska, S.S. Frolova // East European Scientific Journal. – Warsaw, Poland. – 2019. – Vol.6. #5(45). – P.47-52. *(Дисертант особисто провела аналіз матеріалу, написання і оформлення статті).*
2. Фролова С. С. Прогнозування розвитку ВМД в залежності від клінічних та генетичних показників, визначених при первинному скринінгу / С. С. Фролова // Вісник проблем біології і медицини. – 2017. – Полтава. – Випуск 3, Т.1 (137). – С.243-251. *(Дисертант особисто провела збір та аналіз матеріалу, узагальнення, написання і оформлення статті).*
3. Фролова С. С. Нові можливості активного медичного менеджменту хворих на ВМД на поліклінічному етапі / С. С. Фролова, І. В. Шаргородська, С. О. Риков // Архів офтальмології України. – 2017. – Київ. – Т.5, №2 (8). – С.44-53. *(Дисертант особисто провела аналіз матеріалу, написання і оформлення статті).*
4. Фролова С. С. Зв'язок поліморфізмів генів ARMS2 (rs10490924), CFH (rs800292), VEGFA (rs2010963 та rs699947) з наявністю «сухої» форми ВМД у хворих української популяції / С. С. Фролова, С. О. Риков, І. В. Шаргородська // Збірник наукових праць співробітників НМАПО імені П.Л. Шупика – 2017. – Київ. – Випуск 27. – С.307-320. *(Дисертант особисто провела аналіз матеріалу, написання і оформлення статті).*
5. Рыков С. А. Генетические аспекты развития возрастной макулярной дегенерации в украинской популяции / С. А. Рыков, И. В. Шаргородская, С. В. Выдыборец, С. В. Зяблицев, С. С. Фролова // Международный научно-практический журнал. Офтальмология. Восточная Европа. – 2017. – Минск. – Т.7, №2. – С.129-143. *(Дисертант особисто провела аналіз матеріалу, написання і оформлення статті).*

6. Шаргородська І.В. Ефективність визначення факторів ризику розвитку вікової дегенерації макули / І. В. Шаргородська, С. С. Фролова // Науково-практична конференція офтальмологів України «Шевальовські читання`19», 20-21 червня 2019 р., Запоріжжя: матеріали. – Запоріжжя, 2019. – С.56-59. *(Дисертантом особисто проведено написання тез та стендова доповідь).*
7. Frolova S. S. New possibilities active medical management of patients with AMD / S. S. Frolova, S. O. Rykov, I. V. Shargorodska // Tbilisi International Ophthalmology Conference (ТІОС 2018). – 2018. – Tbilisi. – P.3-4. *(Дисертантом особисто проведено збір матеріалу, написання тез).*
8. Фролова С. С. Ефективність визначення факторів ризику розвитку вікової дегенерації макули / С. С. Фролова, І. В. Шаргородська // The second international scientific congress of scientists of Europe as part of II International Scientific Forum of Scientists «East - West» (Austria – Russia – Kazakhstan – Canada – Ukraine – Czech Republic), 10-11 May 2018., Vienna, Austria: abstract book. – Vienna, 2018. – P.667-281. *(Дисертантом особисто проведено збір, узагальнення матеріалу, написання тез).*
9. Риков С. О. Нові можливості прогнозування розвитку вікової макулярної дегенерації в залежності від генетичних та клініко-лабораторних показників / С. О. Риков, І. В. Шаргородська, С. С. Фролова // Науково-практична конференція офтальмологів Чернівецької, Івано-Франківської, Тернопільської, Хмельницької областей України «Актуальні питання офтальмології», 20-21 вересня 2017 р., Чернівці: матеріали. – Чернівці, 2017. – С.182-183. *(Дисертантом особисто проведено збір, узагальнення матеріалу, написання тез).*
10. Фролова С. С. Дослідження значимості асоціації поліморфізму гена CFH (rs800292) з розвитком вікової макулярної дегенерації / С. С. Фролова, С. О. Риков, І. В. Шаргородська, С. В. Зябіцев // Підсумкова науково-практична конференція, присвячена 60-річчю ТДМУ «Здобутки клінічної та експериментальної медицини», 14 червня 2017 р., Тернопіль: матеріали. –

- Тернопіль, 2017. – С.209-210. *(Дисертантом особисто проведено написання тез та стендова доповідь).*
11. Frolova S. The influence of ARMS2/LOC387715 A69S gene polymorphism on the development of age-related macular degeneration / S. Frolova, S. Rykov, S. Ziablitsev, I. Shargorodska // Congress of the European Society of Ophthalmology (SOE), 10–13 June, 2017, Barcelona, Spain: abstract book EP-RET-577. – Barcelona, 2017. – P.166. *(Дисертантом особисто проведено збір, узагальнення матеріалу, написання тез).*
 12. Риков С. О. Асоціація поліморфізму гена ARMS2/LOC387715 A69S з розвитком вікової макулярної дегенерації / С. О. Риков, І. В. Шаргородська, С. В. Зябліцев, С. С. Фролова // Науково-практична конференція офтальмологів з міжнародною участю «Філатовські читання», 25-26 травня 2017 р., Одеса: матеріали. – Одеса, 2017. – С.123-124. *(Дисертантом особисто проведено збір, узагальнення матеріалу, написання тез).*
 13. Фролова С. С. Оптимізація алгоритму діагностики хворих на вікову макулярну дегенерацію / С. С. Фролова, С. О. Риков, І. В. Шаргородська // Науково-практична конференція з міжнародною участю «Актуальні питання сімейної медицини та перспективи її розвитку в рамках Всесвітнього дня сімейного лікаря», 18-19 травня 2017 р., Київ: матеріали, додаток журналу «Здоров'я суспільства № 1-2-2017 (спеціальний випуск). – Київ, 2017. – С.114. *(Дисертантом особисто проведено написання тез та стендова доповідь).*
 14. Фролова С. С. Асоціація поліморфізму гена VEGFA (rs699947) з розвитком вікової макулярної дегенерації / С. С. Фролова, С. О. Риков, І. В. Шаргородська, С. В. Зябліцев // 40-ва ювілейна науково-практична конференція молодих вчених НМАПО імені П. Л. Шупика з міжнародною участю, присвячена Дню науки «Інновації в медицині: досягнення молодих вчених», 18 травня 2017 р., Київ: матеріали. – Київ, 2017. – С.117-119. *(Дисертантом особисто проведено написання тез та стендова доповідь).*
 15. Фролова С. С. Асоціація поліморфізму гена CFH (rs800292) з розвитком вікової макулярної дегенерації / С. С., Фролова, С. О. Риков, І. В. Шаргородська,

С. В. Зябліцев // IV науково-практична конференція «Інновації в нейрохірургії» в рамках VI Міжнародного медичного конгресу «Впровадження сучасних досягнень медичної науки в практику охорони здоров'я України» на платформі VIII Міжнародного медичного форуму «Інновації в медицині – здоров'я нації», 25-26 квітня 2017 р., Київ: матеріали. – Київ, 2017. – С.56. *(Дисертантом особисто проведено збір, узагальнення матеріалу, написання тез та стендова доповідь).*

16. Фролова С. С. Нові підходи до діагностики вікової макулярної дегенерації / С. С. Фролова, С. О. Риков, І. В. Шаргородська, С. В. Зябліцев // Міжнародна науково-практична конференція до всесвітнього дня здоров'я, 6-7 квітня 2017 р., Київ: матеріали. – Київ, 2017. – С.139-141. *(Дисертантом особисто проведено збір, узагальнення матеріалу, написання тез та стендова доповідь).*
17. Фролова С. С. Спосіб прогнозування віку розвитку вікової макулярної дегенерації в залежності від клінічних та генетичних показників / С. С. Фролова, С. О. Риков, І. В. Шаргородська // Перелік наукової (науково-технічної) продукції призначеної для впровадження досягнень медичної науки у сферу охорони здоров'я №268/4/17 – випуск 4. – Київ. – 2018. – С.249-250. *(Дисертантом особисто проведено збір матеріалу, оформлення нововведення).*