

ВМІСТ ЕНДОТЕЛІНУ-1 В ПЛАЗМІ КРОВІ ПАЦІЄНТІВ З ДІАБЕТИЧНОЮ РЕТИНОПАТІЄЮ НА ТЛІ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ 2 ТИПУ В ЗАЛЕЖНОСТІ ВІД ПОЛІМОРФНИХ ВАРІАНТІВ ГЕНІВ MTHFR, MTRR І MTR

Ригов С.О. <https://orcid.org/0000-0002-3495-7471>

Прокопенко Ю. В. <https://orcid.org/0000-0001-5479-0579>

Національний Медичний Університет ім. О.О. Богомольця, Київ Україна

yuliaprokopenko1986@gmail.com

Актуальність. Судинна і позасудинна мікроциркуляція ока є багатим джерелом ендотеліну-1 (ЕТ-1), що може сприяти аномальній гемодинаміці сітківки при діабетичній ретинопатії. У хворих на цукровий діабет 2 типу (ЦД2) встановлено підвищення рівня циркулюючого ЕТ-1 і виявлено позитивну кореляцію між його рівнями в крові й ступенем мікроангіопатії. Підсилює розвиток ендотеліальної дисфункції та мікросудинних ускладнень, високий рівень гомоцистеїну, який виникає через генетично детермінований дефіцит ферментів фолатного циклу визначає в організмі що, оскільки гомоцистеїн викликає порушення структури ендотеліальних клітин.

Ціль: вивчення вмісту ЕТ-1 в плазмі крові пацієнтів з діабетичною ретинопатією на тлі цукрового діабету 2 типу в залежності від поліморфних варіантів генів MTHFR, MTRR і MTR, як важливого патогенетичного шляху розвитку ендотеліальної дисфункції.

Матеріали та методи. Дослідження включало 83 хворого (83 око) із ЦД2, у яких за результатами офтальмологічного обстеження за шкалою ETDRS виявлено непроліферативну та проліферативну ДР. Контрольна група (КГ) включала 35 осіб без ЦД, які зіставлені із пацієнтами за статтю, віком, індексом маси тіла. Поліморфізм генів визначали за допомогою ПЛР-реал тайм на автоматичному ампліфікаторі Gene Amp® PCR System 7500, вміст ЕТ-1 визначали в плазмі крові методом ELISA.

Висновки. Потенційними факторами ризику розвитку ДР на тлі ЦД 2 можна вважати генотип СС гену rs1801133, генотип GG гену rs1805087, поліморфізм АС та генотип СС гену rs1801131. Генотип СС гену rs1801133 супроводжувався максимальним 14-ти кратним збільшенням ЕТ-1 у пацієнтів з ДР. Мінорний генотип GG гену rs1805087 зустрічався тільки у пацієнтів з ДР, і характеризувався максимальним вмістом ЕТ-1. У носіїв поліморфізму АС гену rs1801131 виявили 8-и кратне збільшення ЕТ-1 при розвитку ДР. Мінорний генотип СС цього гену у пацієнтів зустрічався у двічі частіше, і вміст ЕТ-1 із розвитком ДР зростав в 5 разів. Ймовірно, факторами утримання розвитку ДР є наявність поліморфізму СТ гену rs1801133 та генотипу АА rs1801131. Поліморфізм СТ гену rs1801133 супроводжувався найменшим вмістом ЕТ-1. Генотип АА гену rs1801131 зустрічався в 1,3 рази рідше, вміст ЕТ-1 у цих осіб був найменшим і при розвитку ДР практично не змінювався.

Ключові слова: діабетична ретинопатія, цукровий діабет 2 типу, біохімічні показники, генотип, ендотеліальна дисфункція.

Актуальність. Діабетична ретинопатія (ДР) є найчастішою причиною втрати зору у дорослих віком 20–74 років. Сьогодні у 285 мільйонів людей діагностований цукровий діабет, і третина з них мають погіршення зору через наявність діабетичного макулярного набряку або проліферативної ДР [1]. Через поширеність ожиріння у світі, пацієнтів із ДР на тлі цукрового діабету 2 типу (ЦД2) зустрічається значно більше [2].

Патофізіологія ДР обумовлена тривалою гіперглікемією, що виникає через недостат-

ній глікемічний контроль. Підвищений рівень глюкози в крові викликає аберантну регуляцію низки біохімічних шляхів, що в кінцевому підсумку призводить до вироблення супероксиду та активації окислювального стресу в тканинах сітківки. Мітохондріальна дисфункція, запалення і секреція судинного ендотеліального фактора росту VEGF призводять до нейронального апоптозу та неоваскуляризації [3]. Сьогодні існує безліч доказів, що саме ендотеліальна дисфункція, яка визначається як дисбаланс ендотеліальних судинозвужуваль-

них та судинозширювальних речовин, відіграє вирішальну роль у патогенезі та прогресуванні перелічених вище судинних ускладнень. Вказані механізми щільно пов'язані з гіперекспресією ендотелінів та їхньою активністю [4–7].

У хворих на ЦД2 встановлено підвищення рівня циркулюючого ендотеліну-1 (ЕТ-1) – потужного судинозвужуючого пептиду. Виявлено позитивну кореляцію між рівнями в плазмі ЕТ-1 і ступенем мікроангіопатії. Судинна і позасудинна мікроциркуляція ока є багатим джерелом ЕТ-1, що може сприяти аномальній гемодинаміці сітківки при діабетичній ретинопатії. На додаток до безпосереднього впливу на звуження судин, підвищення рівня ЕТ-1 може сприяти ендотеліальній дисфункції через гальмівну дію на продукцію оксиду азоту. Отже, порушення продукції ЕТ-1 у структурах ока можна розглядати як маркер і предиктор патологічних діабетичних змін вже на ранніх стадіях ДР [8].

Також, є доведеним факт про підвищення у пацієнтів з ЦД2 рівню гомоцистеїну, як того що циркулює в крові, так і того що накопичується в тканинах. Високий рівень гомоцистеїну є доволі небезпечним фактором і призводить до розвитку, або посиленню ендотеліальної дисфункції, мікросудинних ускладнень. Гомоцистеїн викликає порушення структури ендотеліальних клітин, гематоенцефалічного бар'єру, призводить до ішемії та неоваскуляризації сітківки, підвищення рівня VEGF, активації стресу ендоплазматичного ретикулуму та окисного стресу [9]. Провідна причина накопичення гомоцистеїну полягає в недостатній кількості та/або дисфункції ферментів і кофакторів, пов'язаних з його метаболізмом. Основу цього складає генетично детермінований дефіцит ферментів фолатного циклу, визначений поліморфізмами генів MTHFR C677T (rs 1801133); MTHFR A1298C (rs 1801131); MTR A2756G (rs 1805087).

Ціль: вивчення вмісту ендотеліну-1 (ЕТ-1) в плазмі крові пацієнтів з діабетичною ретинопатією на тлі цукрового діабету 2 типу в залежності від поліморфних варіантів генів MTHFR, MTRR і MTR, як головного етіологічного чинника розвитку ендотеліальної дисфункції.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Дослідження включало 83 хворого (83 око) із ЦД2, у яких за результатами офтальмологічного обстеження виявлено різні стадії ДР. Усім хворим були виконані загальноприйнятні офтальмологічні обстеження: візометрія, рефрактометрія, статична периметрія Humphrey, тонометрія, біомікроскопія, за необхідністю – гоніоскопія, офтальмоскопія лінзою Goldman, оптична когерентна томографія на OCT DRI Triton (Topcon, Японія) у режимі macula. Обстеження сітківки проводились фундус-камерою з фотографуванням очного дна у 7 перехресних полях згідно з протоколом Early Treatment Diabetic Retinopathy Study (ETDRS). Флюоресцентну ангіографію виконували за показаннями.

Стадії ДР визначали за шкалою ETDRS, що надало нам змогу визначити дві групи спостереження, які відрізнялися ступенем ушкодження: НПДР група (43 хворих, 43 ока) до якої включили пацієнтів із початковою, помірною та тяжкою непроліферативною ДР, ПДР група (40 хворих, 40 очей), яку склали пацієнти із – початковою, помірною та тяжкою та прогресуючою проліферативною ДР. У всіх пацієнтів досліджувався рівень гормонів щитоподібної залози для виключення наявності гормональних порушень. Контрольну групу (КГ) 35 осіб без ЦД становили пацієнти, які не мали діагностованих порушень метаболізму і звернулися з метою профілактичного огляду в клініко-діагностичну лабораторію Університетської клініки НМУ імені О.О. Богомольця. Молекулярно-генетичні дослідження виконували в лабораторії Науково-дослідного інституту експериментальної та клінічної медицини НМУ імені О.О.Богомольця за стандартними методиками. Вміст ендотеліну-1 визначали в плазмі крові методом твердофазного імуноферментного аналізу (ІФА, ELISA) на фотометрі для мікропланшетів HiPo MPP-96, (Biosan, Латвія), із використанням планшетного промивача 3D-IW8 Inteliwasher, (Biosan, Латвія) та термошейкера PST-60HL-4, (Biosan, Латвія) за допомогою набору: тест-система Human ET-1 (Endothelin 1) ELISA Kit (Elabscience, США,

Catalog No: E-EL-H0064 чутливість 0,75 пг/мл, межі вимірювання 1,25–80 пг/мл). Обробка даних здійснювалася за допомогою програмного забезпечення QuantAssay 0.8.2.6.

Для дослідження була використана венозна кров. Забір проводили в умовах маніпуляційного кабінету у пробірки із фіолетовою кришкою об'ємом 4 мл, що містили (EDTA, K3) як антикоагулянт. Після центрифугування відбирали плазму в окрему пробірку типу Епендорф для дослідження ІФА, а осад (шар із клітинами) залишали для генетичних досліджень. Матеріал маркували та заморожували при температурі -20°C . Для виділення геномної ДНК використовували набори PureLink[®] Genomic DNA Kits For purification of genomic DNA, виробник INVITROGEN (США). На першому етапі проводили інкубацію з Digestion Buffer та протеїназою К і шляхом центрифугування позбавлялись від продуктів денатурації та лізису, з метою попередження контамінації додатково інкубували з РНК-азою. Для аналізу поліморфних ДНК-локусів використовували уніфіковані тест-системи TaqMan Mutation Detection Assays Life-Technology (США). Досліджували поліморфізми наступної локалізації: MTHFR C677T (rs 1801133); MTHFR A1298C (rs 1801131); MTR A2756G (rs 1805087). Інкубацію досліджуваного матеріалу проводили з системою праймерів, які фланкують ділянки ДНК генів, що аналізуються, в присутності ДНК-полімерази в автоматичному ампліфікаторі Gene Amp[®] PCR System 7500 (Applied Biosystems, США). За допомогою синхронізованої з ампліфікатором програми RealTime_PCR оброблялись одержані дані.

Статистичний аналіз даних проводився за допомогою пакету IBM SPSS Statistics 23 та програми MedStat. Перевірку розподілу кількісних показників по всій вибірці даних на відповідність закону Гауса проводили за допомогою одновибірочного критерію Шапиро-Уилка. Більшість параметрів не відображали нормальний розподіл, тому використовували непараметричні критерії. Дані у групах порівнювали за допомогою рангового однофакторного аналізу за критерієм Крускала-Уолліса, з урахуванням

поправки Бонфероні. Відмінності у групах вказували у вигляді р із зазначенням рівня значущості. Вважали, що дані відрізняються за $<0,05$. Для опису даних у групах наводили значення медіани (Me) та стандартної похибки. Для інтервальної оцінки медіани розраховували 95% довірчий інтервал. Діаграми надавали у вигляді стовпчиків із вказанням (ДІ 95%) або Box-and-Whisker plot де центральна коробка являє собою значення від нижнього до верхнього квартиля (від 25 до 75 процентилей). Середня лінія представляє медіану. Рядок простягається від мінімального до максимального значення, виключаючи значення «назовні» і «далеко», які відображаються як окремі точки.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Аналіз вмісту ET-1 в плазмі досліджуваних осіб показав очікуване підвищення протеїну в групі пацієнтів. Його вміст складав $16,07 \pm 1,5$ пг/мл, що було у 8 разів вище ніж у контролі $2,18 \pm 1,4$ пг/мл (рис. 1). Вміст ET-1 достовірно не розрізнявся в групах пацієнтів із різною стадією ДР, хоча був значно вище на стадії Pre_NPDR і складав $23,68 \pm 4,9$ пг/мл та PDR $19,96 \pm 2,77$ пг/мл.

Для вивчення асоціації вмісту ET-1 із різними варіантами поліморфізмів генів фолатного циклу ми визначили генотипи досліджуваних осіб. Аналіз розподілу частоти зустрічаємості алелей і генотипів генів rs1801133, rs1805087, rs1801131 показав відсутність зв'язку поліморфізмів основних генів, що кодують ферменти фолатного циклу із розвитком ДР на тлі ЦД2 у порівнянні із особами без діабету. Дані, про відсоток осіб, які мають різні варіанти генотипів наводимо на рисунку 2.

Вміст ET-1 суттєво і достовірно розрізнявся в осіб із різними генотипами генів фолатного циклу, а також мав суттєві відмінності в осіб із однаковим генотипом але у групах пацієнтів та контрольній (рис. 3).

Серед представників різних варіантів поліморфізму гену MTHFR C677T (rs 1801133) максимальний вміст ET-1 зустрічається у осіб із мінорним генотипом TT. В контрольній гру-

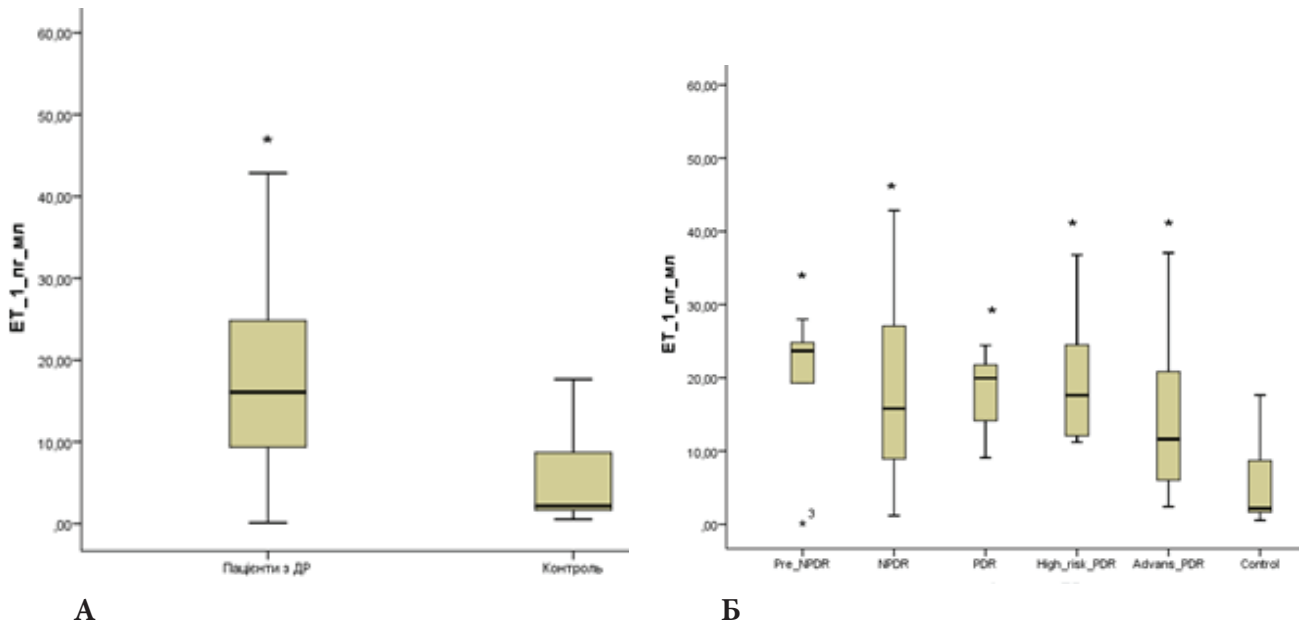


Рис. 1. Бокс-плот діаграма вмісту ендотеліну-1 у плазмі крові досліджуваних осіб. Розподіл груп пацієнтів з ДР за стадіями ретинопатії: Pre_NPDR – дуже м'яка НПДР, NPDR – помірно важка НПДР, PDR – ПДР High_risk_PDR – високого ризику ПДР, та Advans_PDR – Розвинена ПДР. Control – група контролю.
* – відмінність у порівнянні із значенням контрольної групи <0,05

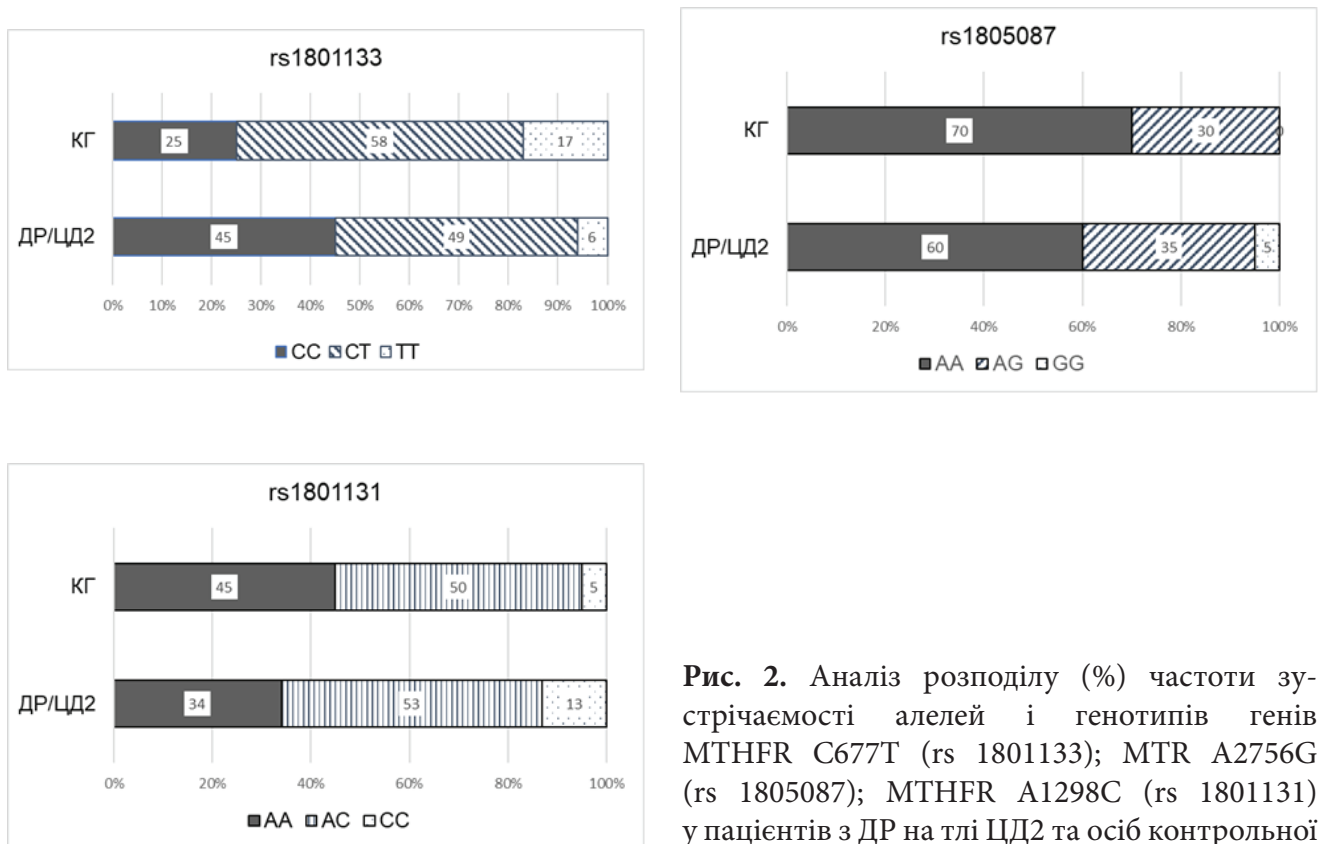


Рис. 2. Аналіз розподілу (%) частоти зустрічаємості алелей і генотипів генів MTHFR C677T (rs 1801133); MTR A2756G (rs 1805087); MTHFR A1298C (rs 1801131) у пацієнтів з ДР на тлі ЦД2 та осіб контрольної групи

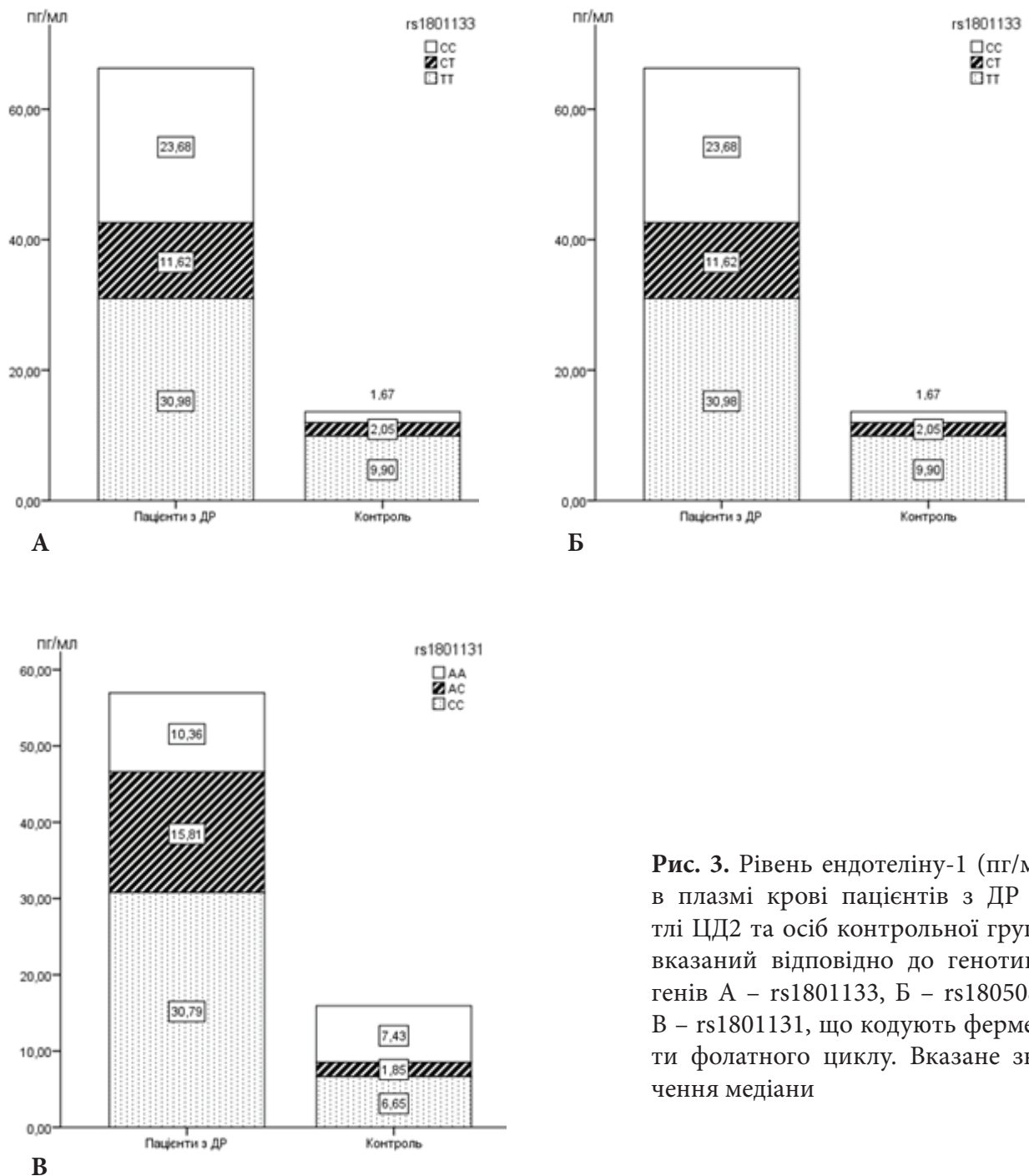


Рис. 3. Рівень ендотеліну-1 (пг/мл) в плазмі крові пацієнтів з ДР на тлі ЦД2 та осіб контрольної групи, вказаний відповідно до генотипів генів А – rs1801133, Б – rs1805087, В – rs1801131, що кодуєть ферменти фолатного циклу. Вказане значення медіани

пі показник складав $9,90 \pm 1,65$ пг/мл, що було в 5-6 разів ($p < 0,05$) більше ніж у носіїв інших генотипів, СТ – $2,05 \pm 0,6$ та СС – $1,67 \pm 0,5$ пг/мл.

У групі пацієнтів представники цього генотипу ТТ також демонстрували найбільший вміст ЕТ-1, і він сягав $30,98 \pm 2,36$ пг/мл. Достовірно показник розрізнявся із таким лише у носіїв гетерозиготного генотипу СТ, у яких він був менше у 2,6 рази ($p < 0,05$) – $11,62 \pm 2,2$ пг/мл. При порівнянні вмісту ЕТ-1 серед здорових осіб та пацієнтів ми виявили, що у осіб

із найбільш розповсюдженим генотипом СТ показник розрізняється в 5 разів ($p < 0,05$). У носіїв мінорного генотипу ТТ різниця вмісту ЕТ-1 була в 3 рази ($p < 0,05$). У носіїв генотипу СС, який серед пацієнтів зустрічався майже у 2 рази частіше, вміст ЕТ-1 був у 14 разів вище ($p < 0,05$).

Аналіз поліморфізмів гену МТR А2756G (rs 1805087) показав, що мажорним є варіант АА генотипу, що зустрічався у 70% осіб. Серед пацієнтів, носіїв АА генотипу було 60%, але

у 5% з'являвся мінорний варіант GG. Носіїв AG поліморфізму була однакова частка серед пацієнтів та здорових осіб. Вміст ET-1 у здорових осіб суттєво розрізнявся в залежності від генотипу, і у носіїв AG був в 4 рази більше ніж у носіїв AA генотипу. У пацієнтів навпаки, не було різниці вмісту ET-1 серед носіїв AA та AG генотипу, а у осіб із мінорним варіантом GG вміст ET-1 був дуже високим і складав $21,27 \pm 5,6$ пг/мл, що було в 1,5 рази більше ніж у представників інших генотипів цього гену. Різниця ET-1 у пацієнтів та здорових осіб серед носіїв AA-генотипу складала 7 разів ($p < 0,05$), серед носіїв AG генотипу 2 рази ($p < 0,05$).

Аналіз поліморфізмів гену MTHFR A1298C (rs 1801131) у порівнянні із вмістом ET-1 виявив, що здорових представників мажорного гетерозиготного варіанту AC вміст ET-1 був найменшим і складав $1,85 \pm 0,21$ пг/мл, що 3,5-4 рази менше ніж у осіб із іншими варіантами гену: AA – $7,43 \pm 2,03$ пг/мл та CC – $6,65 \pm 0,25$ пг/мл.

Серед пацієнтів найменший рівень ET-1 мали представники AA варіанту, він був $10,36 \pm 1,23$ пг/мл. Це було в 1,5 рази менше ($p < 0,05$) ніж у носіїв AC поліморфізму, та в 3 рази меншим ($p < 0,05$) ніж у носіїв генотипу CC.

Між пацієнтами та здоровими особами виявили найменшу різницю у носіїв AA варіанту, яка складала 1,4 рази ($p < 0,05$). У носіїв AC генотипу різниця складала 8 разів ($p < 0,05$), у носіїв CC генотипу – 5 разів ($p < 0,05$).

При вивченні асоціацій основних біохімічних показників вуглеводного та ліпідного обміну із поліморфними варіантами генів фолатного циклу ми не виявили асоціацій із різними генотипами генів та показниками глюкози, глікованого гемоглобіну, холестерину, ЛПНЩ, ЛПВЩ, тригліцеридів, АЛТ, АСТ. На рис.4 демонструємо вибірккові дані проведеного аналізу.

Роль ET-1 в розвитку ендотеліальної дисфункції та ушкодження сітківки сьогодні вже чітко визначена, оскільки доведено, що ET-1 є сильним судинозвужувальним засобом з мітогенними, прооксидантними та прозапальними властивостями, які мають велике значення в регуляції судинної функції, особливо в патофі-

зіології діабетичної васкулопатії [10]. Відомо, що надекспресія ET-1 обґрунтовує посилені ефекти, які визначають основні ушкодження судин при ЦД. Величезна кількість джерел присвячена пошуку асоціацій поліморфізмів генів з розвитком ЦД та ДР [11,12]. В тому числі доведена роль поліморфізмів генів ендотелінових рецепторів, які мають зв'язок з розвитком ЦД2: для rs6842241 гена EDNRA підвищення ризику було асоційовано з мінорною алеллю A; для rs5351 гена EDNRB – з предковою алеллю C. Наявність цих алелей сприяло достеменно більш високому вмісту у крові ET1 та більший вираженості ендотеліальної дисфункції [13].

Стимулами для утворення і секреції ET-1 є гіпоксія, ангіотензин II (АТ II), тромбін, гіперхолестеринемія, ліпопротеїди низької щільності, гіперглікемія, кортизол [8]. Наша нульова гіпотеза полягала в тому, що генетично обумовлений дефіцит ферментів фолатного циклу призводить не лише до гіпергомоцистеїнемії та ряду біохімічних порушень, а й підвищення ET-1. Вивчення асоціації вмісту ET-1 у осіб з поліморфізмами генів ферментів фолатного циклу може визначити цей пептид не лише маркером ендотеліального запалення, а й підґрунтям персоніфікованого таргетного патогенетичного лікування ДР та її профілактики.

За нашими попередніми даними [14] для гену MTHFR (677C/T, rs1801133) мажорним є гетерозиготний поліморфізм СТ, який визначається в контролі у 58% осіб. Розвиток ДР супроводжувався перерозподілом носіїв генотипів: у пацієнтів ми спостерігали зменшення частки носіїв СТ і збільшення в 1,8 разів осіб із генотипом CC відносно контролю. Отже, ми припустили, що наявність поліморфізму СТ є фактором утримання розвитку ЦД2. А генотип CC можна розглядати як фактор ризику розвитку ДР. Отримані в наведеній роботі дані підтверджують це припущення, оскільки у носіїв СТ поліморфізму ми спостерігали найменший вміст ET-1, а у носіїв генотипу CC розвиток ДР супроводжувався максимальним 14-ти кратним збільшенням ET-1.

Мінорний генотип GG гену MTR A2756G (rs1805087) ми виявили лише у пацієнтів на ДР, але в них був максимальний вміст гомо-

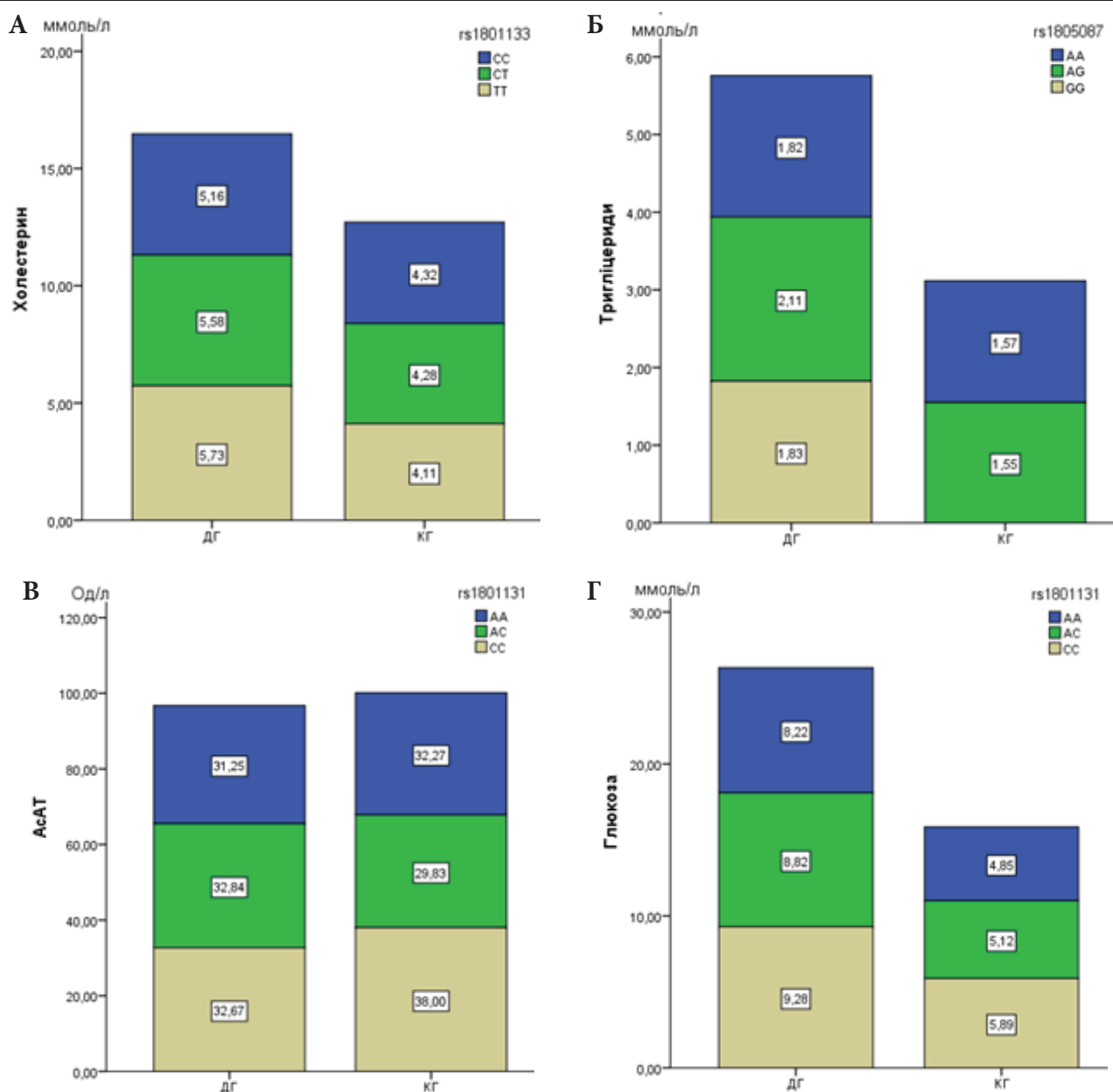


Рис. 4. Рівень біохімічних показників А- холестерину, Б- тригліцеридів, В – АсАТ, Г- глюкози в сироватці крові пацієнтів з ДР на тлі ЦД2 та осіб контрольної групи, вказаний відповідно до генотипів генів rs1801133, rs1805087, rs1801131, що кодують ферменти фолатного циклу. Вказане середнє значення

цистеїну [14]. В даному дослідженні у цих осіб зареєстрований надекспресія ET-1, що також визначає вказаний генотип як можливий фактор ризику ДР.

Максимальний вміст гомоцистеїну ми виявили у носіїв поліморфізму AC гену MTHFR A1298C (rs1801131) [14]. В цих осіб також було 8-и кратне збільшення ET-1 при розвитку ДР. Генотип AA визначили як протекторний, оскільки у пацієнтів він зустрічався в 1,3 рази

рідше і вміст ET-1 у цих осіб був найменшим і при розвитку ДР практично не змінювався. Проте мінорний генотип CC у пацієнтів зустрічався у двічі частіше, а вміст ET-1 зростав в 5 разів.

Отже, проведені спостереження у більшості підтвердили наші попередні припущення про можливу роль різних генотипів вказаних генів на розвиток ДР як через механізм накопичення гомоцистеїну, так і на вміст ET-1, як важли-

вих факторів розвитку ДР на тлі ЦД2. Однак, висловлюватися про прямий зв'язок генотипів із вказаними фенотипічними ознаками ми будемо із обережністю, через досить малу кількість та вибірку пацієнтів, що є суттєвим обмеженням. Вважаємо доцільним продовжити аналізувати можливі зв'язки факторів ризику ДР, оскільки це відкриває нові горизонти у поглядах на ланки патогенезу ретинопатії на тлі ЦД2 [15].

Конфлікт інтересів. Автори даного рукопису стверджують, що конфлікт інтересів під час виконання дослідження та написання рукопису відсутній.

Джерела фінансування. Виконання даного дослідження та написання рукопису було виконано без зовнішнього фінансування.

ВИСНОВКИ

1. Потенційними факторами ризику розвитку ДР на тлі ЦД 2 можна вважати генотип СС гену rs1801133, генотип GG гену rs1805087, поліморфізм АС та генотип СС гену rs1801131.
2. Генотип СС гену rs1801133 супроводжувався максимальним 14-ти кратним збільшенням ЕТ-1 у пацієнтів з ДР. Мінорний генотип GG гену rs1805087 зустрічався тільки у пацієнтів з ДР, і характеризувався максимальним вмістом ЕТ-1. У носіїв поліморфізму АС гену rs1801131 виявили 8-и кратне збільшення ЕТ-1 при розвитку ДР. Мінорний генотип СС цього гену у пацієнтів зустрічався у двічі частіше, і вміст ЕТ-1 із розвитком ДР зростав в 5 разів.
3. Можна вважати факторами утримання розвитку ДР наявність поліморфізму СТ гену rs1801133 та генотипу АА rs1801131. Поліморфізм СТ гену rs1801133 супроводжувався найменшим вмістом ЕТ-1. Генотип АА гену rs1801131 зустрічався в 1,3 рази рідше, вміст ЕТ-1 у цих осіб був найменшим і при розвитку ДР практично не змінювався.

REFERENCES

1. Cheung N, Mitchell P, Wong TY. Diabetic retinopathy. *Lancet*. 2010;376:124–136. DOI: 10.1016/S0140-6736(09)62124-3
2. Teo ZL, Tham YC, Yu M, Chee ML, Rim TH, Cheung N, et al. . Global prevalence of diabetic retinopathy and projection of burden through 2045: Systematic review and meta-analysis. *Ophthalmology* (2021) 128(11):1580–91. DOI: 10.1016/j.ophtha.2021.04.027
3. Whitehead M, Wickremasinghe S, Osborne A, Van Wijngaarden P, Martin KR. Diabetic retinopathy: a complex pathophysiology requiring novel therapeutic strategies. *Expert Opin Biol Ther*. 2018 Dec;18(12):1257-1270. DOI: 10.1080/14712598.2018.1545836
4. Tarr JM, Kaul K, Chopra M, Kohner EM, Chibber R. Pathophysiology of diabetic retinopathy. *ISRN Ophthalmol*. 2013;2013:343560. DOI: 10.1155/2013/343560.
5. Kang HM, Hasanuzzaman M, Kim SW, Koh HJ, Lee SC (2022) Elevated aqueous endothelin-1 concentrations in advanced diabetic retinopathy. *PLoS ONE* 17(5): e0268353. DOI: 10.1371/journal.pone.0268353
6. Sirman, Y., Savytskyi, I., & Preys, N. (2021). Prediction model for severity of diabetic retinopathy derived from review of endothelial dysfunction and hypoxia markers. *International journal of endocrinology (Ukraine)*, 17(1), 76–80. DOI: 10.22141/2224-0721.17.1.2021.226435
7. Mogilevskyy Slu, Panchenko IuO, Ziablitsev SV. New risk factors for post-surgical recurrent diabetic maculopathy in type 2 diabetes mellitus. *J.ophthalmol.(Ukraine)*.2019;5:9-17. DOI: 10.31288/oftalmolzh20195917
8. Penishkevich Ya.I., Kuchuk O.P., Kuzyo O.O. The role of endothelin-1 in the pathogenesis of the development of diabetic retinopathy. *Clinical anatomy and operative surgery – T. 15, № 2 – 2016. С. 114-116.*
9. Tawfik A, Mohamed R, Elsherbiny N et al. Homocysteine: A Potential Biomarker for Diabetic Retinopathy. *Journal of clinical medicine*, 2019, 8(1), 121. DOI: 10.3390/jcm8010121

10. Sorrentino FS, Matteini S, Bonifazzi C, Sebastiani A, Parmeggiani F. Diabetic retinopathy and endothelin system: microangiopathy versus endothelial dysfunction. *Eye (Lond)*. 2018 Jul;32(7):1157-1163. DOI: 10.1038/s41433-018-0032-4
11. Wang N, Ding L, Liu D, Zhang Q, Zheng G, Xia X, Xiong S. Molecular investigation of candidate genes for pyroptosis-induced inflammation in diabetic retinopathy. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2022 Jul 25;13:918605. DOI: 10.3389/fendo.2022.918605
12. Mogilevskyy S. Yu., Panchenko YuO, Ziablytsev S.V. Correlation of serum endothelin-1 with relapses of surgical treatment of diabetic maculopathy in type 2 diabetes mellitus. *Clinical Endocrinology and Endocrine Surgery*. No. 3 (2019) DOI: 10.30978/CEES-2019-3-34
13. Ziablytsev S.V., Chernobrytsev O.P., Ziablytsev D.S., Starodubskaya O.O., Abdriakhimova Ts.B. Pathogenetic Role Of Endotelin-1 And Polymorphism Of Its Receptors In Diabetes Mellitus Type 2. *Fiziol. Zh*. 2019; 65(2): 22-30. DOI: 10.15407/fz65.02.022
14. Rykov SO, Prokopenko IuV, Natrus LV, Panchenko YuO. Role of polymorphisms of folate-cycle enzymes in diabetic retinopathy progression in patients with type 2 diabetic mellitus. *J.ophthalmol.(Ukraine)*.2022;5:3-11. DOI: 10.31288/oftalmolzh20225311
15. Amoaku WM, Ghanchi F, Bailey C, Banerjee S, Banerjee S, Downey L, et al. . Diabetic retinopathy and diabetic macular oedema pathways and management: Uk consensus working group. *Eye (Lond)* (2020) 34(Suppl 1):1–51. DOI: 10.1038/s41433-020-0961-6

Article history:

Received: 17.07.2023

Revision requested: 23.07.2023

Revision received: 09.08.2023

Accepted: 15.09.2023

Published: 30.09.2023

**THE CONTENT OF ENDOTHELIN-1 IN THE BLOOD PLASMA OF PATIENTS WITH DIABETIC
RETINOPATHY ON THE BACKGROUND OF TYPE 2 DIABETES DEPENDING ON THE POLYMORPHIC
VARIANTS OF THE MTHFR, MTRR AND MTR GENES**

Rykov S.O., Prokopenko Yu.V.

National Medical University named after O.O. Bogomolets, Kyiv, Ukraine

yuliaprokopenko1986@gmail.com

Background. The vascular and extravascular microcirculation of the eye is a rich source of endothelin-1 (ET-1), which can contribute to abnormal retinal hemodynamics in diabetic retinopathy. In patients with type 2 diabetes mellitus (T2DM), an increase in the level of circulating ET-1 was found, and a positive correlation between its levels in the blood was found and degree of microangiopathy. Strengthens the development of endothelial dysfunction and microvascular complications, a high level of homocysteine, which occurs due to a genetically determined deficiency of enzymes of the folate cycle, determines in the body what, because homocysteine causes a violation of the structure of endothelial cells.

Aim: to study the ET-1 content in the blood plasma of patients with diabetic retinopathy against the background of type 2 diabetes, depending on the polymorphic variants of the MTHFR, MTRR and MTR genes, as an important pathogenetic pathway for the development of endothelial dysfunction.

Materials and methods. The study included 83 patients (83 eyes) with T2DM, in whom non-proliferative and proliferative DR were found according to the results of an ophthalmological examination using the ETDRS scale. The control group (CG) included 35 people without diabetes, who were matched with patients by gender, age, and body mass index. Gene polymorphism was determined using real-time PCR on the automatic amplifier Gene Amp® PCR System 7500, the content of ET-1 was determined in blood plasma by the ELISA method.

Conclusion. The SS genotype of the rs1801133 gene, the GG genotype of the rs1805087 gene, the AS polymorphism, and the SS genotype of the rs1801131 gene can be considered potential risk factors for the development of DR on the background of type 2 diabetes.

The SS genotype of the rs1801133 gene was accompanied by a maximum 14-fold increase in ET-1 in patients with DR. The minor GG genotype of the rs1805087 gene was found only in patients with DR, and was characterized by the maximum content of ET-1. In the carriers of AS polymorphism of the rs1801131 gene, an 8-fold increase in ET-1 was found during the development of DR.

The minor GG genotype of the rs1805087 gene was found only in patients with DR, and was characterized by the maximum content of ET-1. In the carriers of AS polymorphism of the rs1801131 gene, an 8-fold increase in ET-1 was found during the development of DR. The minor SS genotype of this gene was twice as common in patients, and the ET-1 content increased 5 times with the development of DR.

The presence of ST polymorphism of the rs1801133 gene and the AA genotype of rs1801131 are probably factors that prevent the development of DR. The ST gene rs1801133 polymorphism was accompanied by the lowest ET-1 content. The AA genotype of the rs1801131 gene was 1.3 times less frequent, the ET-1 content in these individuals was the lowest and practically did not change during the development of DR.

Key words: diabetic retinopathy, type 2 diabetes, biochemical indicators, genotype, endothelial dysfunction