УДК 617.735-002-02:616.633.66+616.155.2]-076.5

Вміст у крові селектинів як прогностичний фактор діабетичної ретинопатії та діабетичного набряку макули при цукровому діабеті 2 типу

С. О. Риков, д-р мед. наук, професор, член-кор. НАМН України; **Д. І. Чугаєв,** лікар-офтальмолог;
С. В. Зябліцев, д-р мед. наук, професор

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця;
Київ (Україна)

Актуальність. *Цукровий діабет (ЦД) залишається найбільшою неінфекційною пандемією у світі. Діабетична ретинопатія (ДР) є одним з найпоширеніших і соціально значимих ускладнень ЦД як першого так і другого типу. Прогнозування розвитку ДР з можливим розвитком діабетичного набряку макули (ДНМ) залишається до кінця невирішеним питанням. Математичні моделі прогнозування включають широкий спектр інформативних предикторів, серед яких перспективним є визначення селектинів.*

Мета *– встановити залежність прогресування ДР і розвитку ДНМ відповідно до вмісту селектинів у крові пацієнтів із ЦД 2 типу, розробити математичну модель прогнозування.*

Матеріал і методи. *Дослідження включало 124 пацієнти (124 ока) із ЦД 2 типу, у яких виявлена легка (29 очей, 1-а група), помірна або важка (35 очей, 2-а група) непроліферативна ДР (НПДР) і проліферативна ДР (ПДР; 31 око, 3-я група); контрольну групу становили 29 очей без ЦД. Усім пацієнтам виконані загальноприйняті офтальмологічні дослідження, спектральнодоменна оптична когерентна томографія (ОКТ) з визначенням центральної товщини сітківки (ЦТС, мкм). ДНМ установлювали при збільшенні ЦТС більше за значення нормативної бази даних по полях ETDRS програмного забезпечення спектральнодоменної ОКТ. Вміст селектинів у крові визначали імуноферментним методом (Invitrogen Thermo Fisher Scientific, USA).*

Результати. *Встановлена статистично значуща тенденція до прогресивного збільшення вмісту в крові селектинів при прогресуванні ДР. За наявності ДНМ вміст L-селектину статистично вищий при легкій НПДР, вміст P-селектину – при ПДР, тоді як вміст E-селектину – при всіх стадіях ДР. Побудована регресійна модель прогнозу прогресування ДР, у який тривалість діабету й вміст у крові селектинів мали позитивний вплив, а вміст глікозильованого гемоглобіну – негативний. Модель адекватна (R2adjust=0,84; F=97,9; p<0,001), що свідчило про сильний зв'язок обраних факторів зі стадією ДР. Розрахований індекс Y можна вважати кількісним відображенням ступеня тяжкості ДР: при значенні Y<1,5 прогнозується легка НПДР (точність прогнозування – 86,2%), при значенні 1,5≤Y<2,35 – помірна або тяжка НПДР (точність прогнозування – 88,6%), при значенні Y≥2,35 – ПДР (точність прогнозування – 100%). Побудована регресійна модель прогнозу ДНМ, у якій ризик був більш імовірний у разі збільшення ЦТС і вмісту в крові ES. Площа під кривою операційних характеристик моделі AUC=0,97 (95% ВІ 0,92–0,99), що свідчило про сильний зв'язок ДНМ з обраними факторами; чутливість моделі становила 93,2% (95% ВІ 83,5–98,1%), специфічність – 92,3% (95% ВІ 83,0–97,5%).*

Висновок*. Отримані результати підтвердили концепцію щодо значення збільшення вмісту в крові селектинів за умови ЦД 2 типу для розвитку основних патогенетичних механізмів мікросудинних ускладнень, а рівні селектинів у крові можна вважати предикторами прогресування ДР і виникнення ДНМ.*

Ключові слова:
діабетична ретинопатія, діабетичний набряк макули, цукровий діабет 2 типу, розчинні селектини, регресійна модель прогнозу

Вступ. Цукровий діабет (ЦД) залишається найбільшою неінфекційною пандемією у світі [1-3]. Діабетична ретинопатія (ДР) є одним з найпоширеніших і соціально значимих ускладнень ЦД як першого, так і другого типу. Серед осіб із ЦД глобальна поширеність ДР становила 22,27% (95% CI 19,73%-25,03%), а діабетичного набряку макули (ДНМ) – 4,07% (95% CI 3,42%-4,82%). У 2020 році кількість таких пацієнтів у всьому світі становила 103,12 мільйона для ДР і 18,83 мільйона для клінічно значущого ДНМ. Діабетична ретинопатія та діабетичний набряк макули є частими очними ускладненням цукрового діабету та основною причиною слабкозорості та сліпоти у дорослих працездатного віку [1, 3]. Прогнозування розвитку ДР з можливим розвитком ДНМ залишається актуальним та перспективним питанням [2].

Сьогодні існує декілька прогностичних моделей точного передбачення ризику розвитку ДР при ЦД 2

© Риков С. О., Чугаєв Д. І., Зябліцев С. В., 2023

типу (ЦД2), які використовують прості для вимірювання предиктори, що підвищує як медичну, так й економічну ефективність лікування [4]. Підтвердженими факторами ризику розвитку та прогресування ДР є поганий глікемічний контроль, системна артеріальна гіпертензія, тривалість діабету, дисліпідемія та мікроальбумінурія, а також стан стінок аорти.

Крім загальних демографічних, клінічних і біохімічних чинників, установлено вагоме значення прозапальних та ангіогенних факторів, показників оксидативного стресу, факторів росту. Показано, що такі фактори, як гормон ендотелію – ендотелін-1 (ET1), тромбоцитарний фактор росту (PDGF), фактор некрозу пухлин-α (TNFα), впливають на розвиток ДР і діабетичної макулопатії та пов'язані з результатами їх хірургічного лікування [5].

Поряд з цим, встановлено важливе значення при ДР запальних і протромбогенних змін, які впливають на стан гемато-ретинального бар'єру. Найбільше значення мають посилення експресії молекул ендотеліальної адгезії і, у тому числі, селектинів, адгезія лейкоцитів до ендотелію, вивільнення запальних хемокінів, цитокінів і факторів проникності судин, погіршення контактів між ендотеліальними клітинами та інфільтрація лейкоцитів у нейросітківку [6].

Важливими факторами судинної регуляції є система молекул міжклітинної адгезії і, у тому числі, сімейство селектинів – L- (LS), E- (ES) та P-селектини (PS), під дією яких здійснюється затримка лейкоцитів на поверхні ендотелію (ролінг) [7]. Розчинний LS (CD62L або LECAM-L) являє собою глікопротеїн, що експресується на лімфоцитах, нейтрофілах, моноцитах та інших мієлоїдних клітинах і опосередковує їх ролінг уздовж судинної стінки [8]. Також LS сприяє трансендотеліальній міграції нейтрофілів, що відбувається через TNF-активовані ендотеліальні моношари [8]. Дослідження у хворих на ЦД2 показали зниження рівню LS в сироватці крові, що супроводжувалося зниженням поверхневої експресії LS лейкоцитами [9].

Важливими факторами судинної регуляції є система молекул міжклітинної адгезії й у тому числі сімейство селектинів – L- (LS), E- (ES) і P-селектини (PS), під дією яких лейкоцити затримуються на поверхні ендотелію (ролінг) [7]. Розчинний LS (sCD62L або sLECAM-L) являє собою глікопротеїн, що експресується на лімфоцитах, нейтрофілах, моноцитах та інших мієлоїдних клітинах та опосередковує їх ролінг уздовж судинної стінки [8]. Також LS сприяє трансендотеліальній міграції нейтрофілів, що відбувається через TNF-активовані ендотеліальні моношари [8]. Дослідження у хворих на ЦД2 показали зниження рівня LS у сироватці крові, що супроводжувалося зниженням поверхневої експресії LS лейкоцитами [9].

Показано, що рівень розчинного ES (ELAM-1) був значно вищим у пацієнтів із ЦД2 порівняно з контрольною групою, хоча за стадіями ДР різниці не виявлено [10]. З іншого боку, збільшення вмісту в крові пацієнтів із ДР ES та інших судинних факторів дало змогу довести роль ендотеліальної дисфункції у виникненні ДР, а поступове збільшення ES по мірі розвитку стадій ДР показало його значення для її прогресування [11].

Розчинний PS (CD62, PADGEM, GMP-140), представляє собою глікопротеїн щільних гранул тромбоцитів, що міститься також у тільцях Вейбеля-Паладе ендотеліальних клітин [12]. Після стимуляції ендотелію запальними чинниками PS транслоцирується на поверхню клітини та забезпечує залучення (рекрутинг) нейтрофілів через прямий зв'язок із вуглеводними залишками лейкоцитарних глікопротеїнів [13]. При ДР вміст PS у плазмі крові збільшувався відповідно до її стадії, що пов'язано з активацією моноцитів і рівнем капілярної оклюзії сітківки [14].

Отже, з огляду на суперечливі дані літератури, можна вважати остаточно не визначеною роль селектинів у розвитку ДР і ДНМ при ЦД. З іншого боку, сучасне розуміння патогенетичної ролі селектинів як важливих чинників мікросудинних ускладнень визначає необхідність дослідження їх ролі та місця для прогнозу прогресування ДР і ДНМ.

Мета дослідження – установити залежність прогресування ДР і розвитку ДНМ відповідно до вмісту селектинів у крові пацієнтів із ЦД2, розробити математичну модель прогнозування.

Матеріал і методи

До дослідження залучено 124 пацієнти (124 ока), серед яких 95 (95 очей) мали ЦД 2 типу та ДР різних стадій, а 29 (29 очей) ЦД не мали (контроль). Вік пацієнтів становив від 43 до 85 років, у середньому – 66,8±0,75 років. Жінок у контрольній групі було 16 (55,2%), чоловіків – 13 (44,8%), серед пацієнтів із ДР жінок було 65 (68,4%), чоловіків – 30 (31,6%). Під час порівняння за точним критерієм Фішера статистично значущої різниці в розподілі пацієнтів за статтю не виявлено (p=0,164).

Дослідження було проспективним, когортним, випадок-контроль.

Усі дослідження проведені з дотриманням основних біоетичних норм і вимог Гельсінської декларації, прийнятої Генеральною асамблеєю Всесвітньої медичної асоціації, Конвенції Ради Європи про права людини та біомедицину (1977 рік), відповідного положення ВООЗ, Міжнародної ради медичних наукових товариств, Міжнародного кодексу медичної етики (1983 рік) і Наказу МОЗ України від 23.09.2009 № 690.

Усі обстежені свідомо надали інформовану згоду на участь у дослідженні.

Усім пацієнтам виконані загальноприйняті офтальмологічні дослідження, що включали візометрію, рефрактометрію, тонометрію, статичну периметрію, гоніоскопію, біомікроскопію, офтальмоскопію. Офтальмоскопію виконували за допомогою асферичної лінзи Volk Super /Field (NC USA) і контактної тридзеркальної лінзи Гольдмана відповідно до протоколу ETDRS. Також усім пацієнтам виконували спектральнодоменну оптичну когерентну томографію (ОКТ) на

приладі 3DOCT-1000 (Topcon, Japan) (протокол Macula 3D, RetinaRaster). За даними ОКТ визначали наявність ДНМ за 2 критеріями: перший оснований на збільшенні товщини ділянки макули сітківки по полях решітки ETDRS, другий – за наявністю інтраретинальної рідини на ОКТ b-scan. ДНМ установлювали при потовщенні сітківки більше за значення нормативної бази даних програмного забезпечення приладу ОКТ, ураховуючи стать і вік пацієнта, по полях ETDRS спектральнодоменної ОКТ. Визначення наявності набряку та його класифікацію за критерієм інтраретинальної рідини проводили на зрізах ОКТ у відповідних полях решітки ETDRS. Окремо аналізували центральну товщину сітківки (ЦТС, мкм).

Стадію ДР визначали за міжнародною клінічною шкалою тяжкості ДР Американської академії офтальмології (2002 рік), ступінь тяжкості ДНМ – за міжнародною шкалою тяжкості діабетичного набряку макули Американської академії офтальмології (2003 рік).

За результатами обстеження й згідно з протоколом ETDRS та Інтернаціональною клінічною шкалою тяжкості ДР, пацієнтів поділили на 3 групи: 1-а (n=29) – із легкою непроліферативною ДР (НПДР), 2-а (n=35) – із помірною та тяжкою НПДР, 3-я (n=31) – із проліферативною ДР (ПДР).

ДНМ установлювали при потовщенні сітківки більше за значення нормативної бази даних по полях ETDRS програмного забезпечення спектральнодоменної ОКТ (зазначали колірною шкалою, що підтверджувало збільшення товщини сітківки за межі норми, жовтим, $p<0,05$, або червоним, $p<0,01$, кольором).

Порушення вуглеводного обміну визначали за рівнем глікемії та вмістом у крові глікозильованого гемоглобіну (HbA1c).

Вміст розчинних селектинів у сироватці крові визначали імуноферментним методом із застосуванням реактивів виробництва Invitrogen Thermo Fisher Scientific (USA).

Для статистичних досліджень використано програмні пакети MedStat і MedCalc v.15.1 (MedCalc Software bvba) [15]. Під час регресійного аналізу для значущих відмінностей розглянуто відношення шансів (ВШ) і 95% вірогідний інтервал (95% ВІ).

Результати дослідження

Пацієнти з ДР (n=95) мали гіперглікемію (глюкоза крові – 8,51±0,82 ммоль/л), збільшений вміст у крові глікозильованого гемоглобіну (7,36±0,15%), гіршу гостроту зору (0,60±0,03) та більшу ЦТС (318±11,2 мкм) порівняно з контролем ($p<0,001$ за всіма показниками). Це підтверджувало наявність тривалих порушень вуглеводного обміну, збільшення неферментного глікування білків і специфічного діабетогенного пошкодження сітківки.

Частота ДНМ у пацієнтів з ДР становила в середньому 62,1%, що по групах розподілялося так: у 1-й – 48,3%, у 2-й – 77,1%, у 3-й – 58,1%; достовірної різниці між частотою ДНМ у групах пацієнтів не виявлено ($p>0,2$).

Вміст LSy пацієнтів із ДР по групах (табл. 1) був достовірно збільшеним порівняно з контролем: у 1-й групі у 2,0 раза, у 2-й – у 2,3 раза, у 3-й – у 3,2 раза ($p<0,05$ у всіх випадках).

При стратифікації по групам за наявністю ДНМ була встановлена достеменна різниця тільки у 1-й групі пацієнтів, у яких за наявністю ДНМ вміст LS був вищим, ніж без такого (у 1,4 рази: $p=0,006$). В інших групах ця тенденція також мала місце, але розбіжнос-

Таблиця 1. Вміст селектинів у сироватці крові пацієнтів по групам та за наявністю діабетичного набряку макули (ДНМ) (M±SD)

Маркер	Наявність ДНМ	Групи спостереження, нг/мл			
		Контроль	1-а	2-а	3-я
LS	Разом	12,5±3,5	24,7±6,4*	29,3±5,4*	39,5±6,5*
	ДНМ-	-	21,9±5,7	31,1±5,8	39,9±6,7
	ДНМ+		31,2±3,8	38,6±10,9	44,4±6,6
$p_{ДНМ- \text{ vs } ДНМ+}$		-	0,006	0,146	0,392
ES	Разом	26,3±5,5	34,9±5,4*	45,9±8,8*	52,4±8,4*
	ДНМ-	-	31,2±3,8	38,6±10,9	44,4±6,6
	ДНМ+		38,7±3,9	48,1±7,0	55,9±5,8
$p_{ДНМ- \text{ vs } ДНМ+}$		-	<0,001	0,003	<0,001
PS	Разом	59,9±7,5	68,5±9,7*	72,3±7,6*	134,9±17,0*
	ДНМ-	-	65,8±10,0	75,1±7,6	121,2±13,1
	ДНМ+		71,4±8,7	71,5±7,6	141,5±14,3
$p_{ДНМ- \text{ vs } ДНМ+}$		-	0,062	0,122	<0,001

Примітки: ДНМ- – набряку макули не було, ДМН+ – набряк макули наявний; * – $p<0,05$ при порівнянні груп пацієнтів з контролем, для порівняння використано ANOVA; $p_{ДНМ- \text{ vs } ДНМ+}$ – внутрішньогрупове порівняння за наявністю/відсутністю ДНМ, використано критерій Шеффе.

ті статистичної значущості не набігали (p>0,1). Отже, можна було припустити, що збільшення вмісту LS могло мати значення для розвитку ДНМ тільки на початкових стадіях розвитку ДР.

Вміст ES (табл. 1) мав чітку і статистично значущу тенденцію до прогресивного збільшення з максимумом у 3-й групі (p<0,05 при порівнянні груп із контролем і між собою). У всіх групах за наявністю ДНМ вміст ES був значно вищим, ніж без такого (у 1,2–1,3 раза; p<0,01).

Вміст PS (табл. 1) був статистично значущо збільшеним порівняно з контролем у всіх групах із максимумом приросту в 3-ї групи, де він перевищував контрольний у 2,3 раза (p<0,001). Під час розподілу пацієнтів 1-ї і 2-ї груп за наявністю/відсутністю ДНМ вміст PS не відрізнявся (p>0,05), натомість у 3-й групі за наявністю ДНМ він був у 1,2 раза вищий, ніж без такого (p<0,001).

Таким чином, установлена достеменна тенденція до прогресивного збільшення вмісту в крові селектинів у разі прогресування ДР. Також їх вміст загалом був більшим за наявності ДНМ, хоча і мав певні особливості. Так, вміст L-селектину був статистично вищим при легкій НПДР, вміст P-селектину – при ПДР, тоді як вміст E-селектину – при всіх стадіях ДР.

Для виявлення зв'язку факторних ознак із ступенем ДР було використано метод побудови та аналізу багатофакторних моделей лінійної регресії [15]. В якості результуючої ознаки прогнозувалася стадія ДР, в якості факторів ризику аналіз проводився для 9 ознак: вік, тривалість діабету, вміст глюкози та глікозильованого гемоглобіну (HbA1c), гостроти зору, ЦТС та вмісту у крові LS, ES і PS.

Для відбору значимих ознак використано метод покрокового відкидання/додавання (при критичних порогах p<0,1 для включення ознаки в модель і p>0,2 для виключення з моделі). У результаті відбору виділено 5 факторів ризику: тривалість діабету, HbA1c, LS, ES і PS. Модель, що побудована на виділених ознаках, адекватна, скорегований коефіцієнт детермінації моделі R2adjust=0,84 (значення критерію Фішера F=97,9, відмінне від 1 при p<0,001), що свідчило про сильний зв'язок обраних факторів зі стадією ДР.

У таблиці 2 подано коефіцієнти отриманої моделі. Низьке значення дисперсійно-інфляційного фактору (VIF<3 для всіх коефіцієнтів) свідчить про відсутність взаємозалежності прогностичних факторів (мультиколінеарність) і, відповідно, про незалежний вклад кожної ознаки в прогнозування стадії ДР. В отриманій моделі тривалість діабету й вміст у крові всіх селектинів мали позитивний характер зв'язку з прогресуванням ДР, тоді як вміст глікозильованого гемоглобіну – негативний.

Отриману залежність можна подати таким рівнянням:

$$Y = 0{,}58 + 0{,}022 \times ТД - 0{,}21 \times HbA1c + 0{,}019 \times LS + 0{,}022 \times ES + 0{,}015 \times PS \quad (1),$$

де Y – індекс тяжкості ДР;

ТД – тривалість діабету, роки;

HbA1c – вміст у крові глікозильованого гемоглобіну, %;

LS, ES, PS – вміст у крові L-, E- і P-селектину, нг/мл.

Розрахований індекс Y можна було вважати кількісним відображенням ступеня тяжкості ДР. На рис. 1 подано значення індексу Y, розраховане для кожного пацієнта по групах.

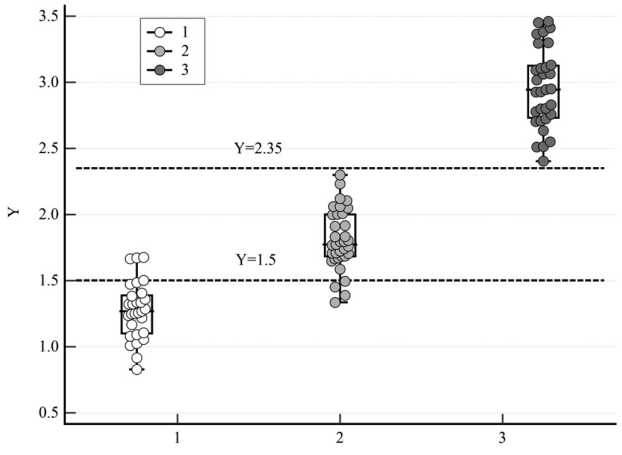

Рис. 1. Значення розрахованого індексу Y для кожного пацієнта; 1, 2, 3 – 1-а, 2-а та 3-я групи.

Таблиця 2. Коефіцієнти багатофакторної моделі логістичної регресії прогнозування ризику стадії ДР

Показник	Значення коефіцієнту моделі, b±m	Рівень значимості відмінності від 0	Коефіцієнт частинної кореляції	Дисперсійно-інфляційний фактор (VIF)
Const	0,58	-	-	-
Тривалість діабету	0,022±0,006	0,001	0,354	1,2
HbA1c	-0,21±0,03	<0,001	-0,631	1,3
LS	0,019±0,006	0,003	0,313	2,4
ES	0,022±0,004	<0,001	0,477	1,7
PS	0,015±0,002	<0,001	0,699	2,4

Для оцінки належності пацієнта до тої чи іншої стадії ДР розраховується значення Y (формула 1): при значенні Y<1,5 прогнозується легка НПДР, при значенні 1,5≤Y<2,35 – помірна або тяжка НПДР, при значенні Y≥2,35 – ПДР. При обраних значеннях розрахованого індексу Y точність прогнозування легкої НПДР складає 86,2%, помірної або тяжкої НПДР – 88,6% і ПДР – 100%.

Для виявлення зв'язку факторних ознак із ризиком виникнення ДНМ використано метод побудови й аналізу однофакторних і багатофакторних моделей логістичної регресії [15]. Прогнозувався ризик виникнення ДНМ, як фактори ризику аналіз проводили для 10 ознак: вік, стать, тривалість діабету, вміст у крові глюкози та глікозильованого гемоглобіну (HbA1c), гострота зору (МГЗК), ЦТС, вміст у крові LS, ES і PS (табл. 3).

Ризик ДНМ зростав при збільшенні тривалості діабету, ЦТС і вмісту в крові глікозильованого гемоглобіну й селектинів. Зворотний зв'язок ризику ДР визначено з віком пацієнта та гостротою зору. Стать і вміст у крові глюкози значимого впливу на ДНМ не мали.

Найбільш тісний зв'язок ризику ДНМ, за даними ROC-аналізу, виявлено з показниками ЦТС (AUC=0,89; 95% ВІ 0,82–0,94) та ES (AUC=0,89; 95% ВІ 0,83–0,94). На рисунку 2 подано криву операційних характеристик тесту прогнозування ризику ДНМ за показником ЦТС.

Таблиця 3. Коефіцієнти однофакторних моделей логістичної регресії прогнозування ризику виникнення ДНМ

Факторна ознака		Значення коефіцієнту моделі, b±m	Рівень значимості відмінності від 0	Показник ВШ (95% ВІ)	AUC, (95% ВІ)
Стать	жін.	Референтний			0,56 (0,46-0,65)
	чол.	–0,50±0,38	0,193	–	
Вік		–0,055±0,023	0,017	0,95 (0,90-0,99)	0,63 (0,54-0,71)
Тривалість діабету		0,04±0,031	0,007	1,09 (1,02-1,15)	0,70 (0,61-0,78)
Глюкоза		–0,003±0,020	0,881	–	0,66 (0,57-0,75)
HbA1c		0,56±0,14	<0,001	1,75 (1,33-2,31)	0,71 (0,63-0,79)
МГЗК		–3,87±0,69	<0,001	0,02 (0,01-0,08)	0,83 (0,75-0,89)
ЦТС		0,023±0,004	<0,001	1,02 (1,02-1,03)	0,89 (0,82-0,94)
LS		0,089±0,020	<0,001	1,09 (1,05-1,14)	0,74 (0,66-0,82)
ES		0,17±0,03	<0,001	1,19 (1,12-1,26)	0,89 (0,83-0,94)
PS		0,020±0,007	0,003	1,02 (1,01-1,03)	0,70 (0,61-0,78)

Примітки: ВШ – відношення шансів; % ВІ – 95% вірогідний інтервал для ВШ; AUC – площа під кривою операційних характеристик моделі.

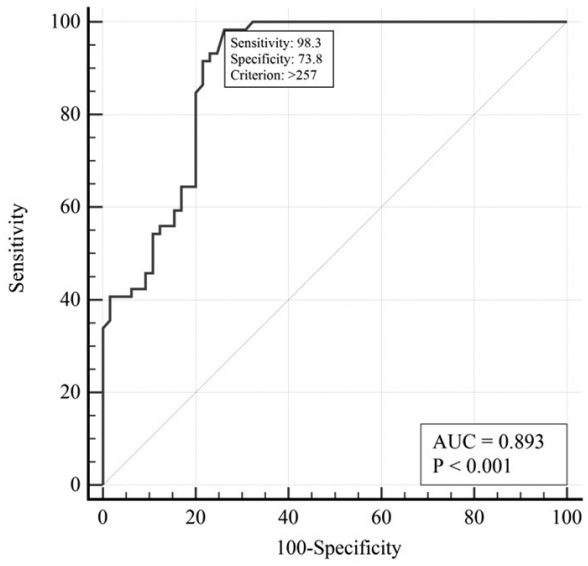

Рис. 2. ROC-крива прогнозування ризику ДНМ за показником ЦТС.

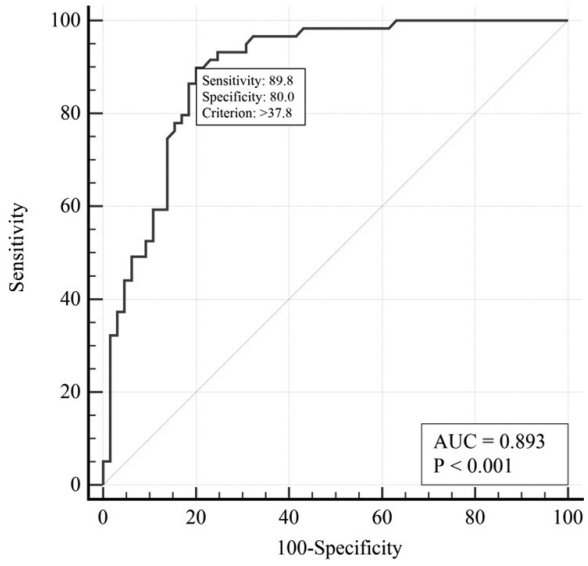

Рис. 3. ROC-крива прогнозування ризику ДНМ за показником ES.

Таблиця 4. Коефіцієнти чотирифакторної моделі логістичної регресії прогнозування ризику виникнення ДНМ

Факторна ознака	Значення коефіцієнту моделі, b±m	Рівень значимості відмінності від 0	Показник ВШ (95% ВІ)
Тривалість діабету	–0,16±0,07	0,022	0,85 (0,74 – 0,98)
ЦТС	0,048±0,013	<0,001	1,05 (1,02 – 1,08)
ES	0,25±0,06	<0,001	1,29 (1,1 – 1,43)
PS	–0,09±0,024	<0,001	0,91 (0,87 – 0,95)

Примітки: ВШ – відношення шансів; % ВІ – 95% вірогідний інтервал для ВШ.

Площа під кривою операційних характеристик цього тесту AUC=0,89 (95% ВІ 0,82–0,94). При виборі оптимального порогу чутливість тесту становила 98,3% (95% ВІ 90,9–100%), специфічність – 73,9% (95% ВІ 61,5–84,0%).

На рисунку 3 подано криву операційних характеристик тесту прогнозування ризику ДНМ за показником ES. Площа під кривою операційних характеристик цього тесту AUC=0,89 (95% ВІ 0,83–0,94). При виборі оптимального порогу чутливість тесту становила 89,8% (95% ВІ 79,2–96,2%), специфічність – 80,0% (95% ВІ 68,2–88,9%), межовий вміст ES становив 37,8 нг/мл.

Для відбору значимих ознак у багатофакторній моделі використано метод покрокового відкидання/додавання (при критичних порогах $p<0,1$ для включення ознаки в модель і $p>0,2$ для виключення з моделі). У результаті відбору виділено 4 фактори ризику: тривалість діабету, ЦТС і вміст у крові ES і PS. Модель, побудована на виділених ознаках, адекватна (χ^2=108,5 при 4 ступенях свободи; $p<0,001$).

У таблиці 4 подано результати багатофакторного аналізу прогнозування ризику виникнення ДНМ.

Ризик ДНМ зростав у разі збільшення ЦТС і вмісту в крові ES. Зворотний зв'язок ризику ДНМ визначено з тривалістю діабету й вмістом у крові PS.

На рисунку 4 наведено криву операційних характеристик тесту прогнозування ризику ДНМ у 4-факторній моделі.

Площа під кривою операційних характеристик моделі AUC=0,97 (95% ВІ 0,92–0,99), що свідчило про сильний зв'язок ризику ДНМ із рівнями обраних факторів. При виборі оптимального порогу чутливість моделі становила 93,2% (95% ВІ 83,5–98,1%), специфічність – 92,3% (95% ВІ 83,0–97,5%).

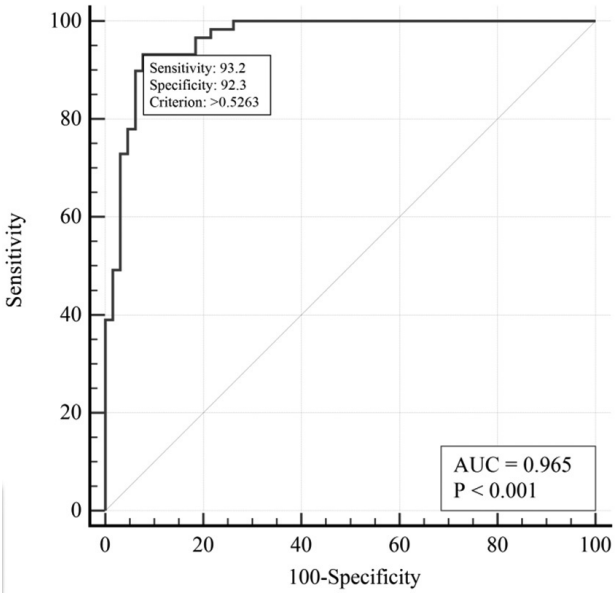

Рис. 4. ROC-крива прогнозування ризику ДНМ у 4-и факторній моделі.

Обговорення

За нашими даними, вміст у крові LS був статистично збільшеним у всіх пацієнтів з ДР, але за наявності ДНМ він був статистично більшим тільки у пацієнтів з легкою НПДР. Також і за іншими даними вміст LS в сироватці крові пацієнтів з ДР був значно більшим, ніж у контрольній групі (36,5±18,1 нг/мл проти 11,4±7,5 нг/мл; $p<0,001$) [16]. До того ж була виявлена різниця між пацієнтами з ДР та без такої (36,5±18,1 нг/мл проти 24,2±13,5 нг/мл; $p<0,05$). Отримані результати узгоджувалися з нашими даними та підтверджували значення LS при ДР. Це було доказово підтверджено нами у регресійному аналізі – збільшення вмісту у крові LS збільшувало ризик як ДР, так і ДНМ (ВШ=1,09; 95% ВІ 1,05-1,14). Таке підвищення вмісту LS відображало залучення поліморфноядерних нейтрофілів, які відіграють важливу роль у патогенезі діабетичних судинних ускладнень [16].

У нашому дослідженні вміст у крові пацієнтів ES, подібно до такого LS, також суттєво збільшувався. У багатьох дослідженнях були отримані подібні результати – суттєве підвищення вмісту ES залежало від стадії ДР з найбільшим приростом при ПДР [10, 17]. Збільшення вмісту ES мало тісний прямий зв'язок із прогресуванням ДР та виникненням ДНМ. Останнє підтверджено нами як у одно-, так і у багатофакторному аналізі, причому серед інших моделей логістичної регресії прогнозування ризику виникнення ДНМ, найбільший вплив мав саме ES (ВШ=1,19) у порівнянні з іншими селектинами. Ця прогностична модель при межовому рівні ES рівному або більшому за 37,8 нг/мл мала задовільні характеристики (чутливість – 89,8%, специфічність – 80,0%).

Важливу роль ES як біомаркера пошкодження судин, підтвердили результати довготривалого дослідження молодих пацієнтів з ДР [18]. Встановлено, що протягом 1-3 років на кожен 1% підвищення HbA1c, вміст у крові ES збільшувався на 6,8% (p<0,0001). Також ES підвищувався на 3,7% і 4,2% на кожні 10 мм рт. ст. підвищення систолічного і діастолічного артеріального тиску, відповідно (обидва p<0,0001) і, крім того, ES був вищим на 15,5% у пацієнтів з мікроальбумінурією (p<0,01).

Таким чином, сьогодні не викликає сумнівів тісний зв'язок прогресування ДР і виникнення ДНМ зі збільшенням вмісту в крові ES, який обґрунтовано може вважатися інформативним прогностичним біомаркером судинних ускладнень за ЦД2.

Щодо обговорення механізмів зв'язку підвищення вмісту ES із ДР, то можна зазначити, що сироватка пацієнтів із ЦД2 in vitro індукувала значно вищу експресію ES, утворення активних форм кисню й активність NADH-оксидази в ендотеліальних клітинах коронарної артерії людини, ніж сироватка пацієнтів контрольної групи [19]. З огляду на встановлений зв'язок ES із патологічним глікуванням білків, можна припустити, що метаболічні діабетичні фактори здатні збільшувати його ендотеліальну експресію.

У дослідженні встановлено значне збільшення вмісту PS у пацієнтів із ПДР. В інших роботах також визначено зв'язок PS з активацією тромбоцитів і розвитком судинних ускладнень при ЦД2 [20].

За нашими даними, вміст PS мав значення як для прогресування ДР, так і для виникнення ДНМ як незалежний предиктор. Серед пацієнтів-афроамериканців із ЦД2 в багатофакторних моделях, скоригованих на вік, стать та інші традиційні фактори ризику, більш високі рівні PS пов'язані з ДР (ВШ=1,11; 95% ВІ 1,02–1,21; P=0,02) і ПДР (ВШ=1,23; 95% ВІ 1,03–1,46; P=0,02) [21]. Такі результати цілком збігалися з нашими щодо зв'язку PS із розвитком будь-якої стадії ДР і суттєвого збільшення ризику ПДР, коли рівень PS був значно збільшеним. На думку авторів [21], як і на нашу, це підтверджувало патогенетичну роль збільшення вмісту в крові PS при ПДР.

Результати, отримані у китайській популяції пацієнтів з ЦД2 визначили вісім прогностичних факторів ДР: тривалість діабету, індекс маси тіла, індекс резистентності до інсуліну (HOMA-IR), рівень в крові глюкози натще, HbA1c, тригліцеридів, загального холестерину і вітаміну D [22]. За нашими даними, для прогресування ДР серед клінічних показників мала значення більша тривалість діабету (p=0,001). Рівень HbA1c мав від'ємне значення бета-коефіцієнту (-0,214±0,006), що могло відображати особливість даної когорти пацієнтів, які мали компенсований ЦД2, знаходилися під наглядом ендокринолога та отримували цукрознижувальну терапію. Проте таки чинники як глюкоземія, вік, чоловіча стать, яких було відмічено у інших прогностичних моделях, не увійшли в якості незалежних предикторів у нашу модель (p>0,2).

Не заперечуючи важливість загальноклінічних прогностичних чинників, необхідно зазначити, що застосування біомаркерів, які мають важливе значення для патогенезу судинних ускладнень, є не менш ефективним. Так, отримана нами багатофакторна модель логістичної регресії прогнозування ризику стадії ДР, яка включила крім тривалості діабету і вмісту HbA1c вміст у крові селектинів, мала високу прогностичну здатність: точність прогнозування легкої НПДР склала 86,2%, помірної або тяжкої НПДР – 88,6% і ПДР – 100%.

Щодо оцінки ризику ДНМ, то наші дослідження показали значення зростання тривалості діабету, ЦТС та вмісту у крові глікозильованого гемоглобіну і селектинів. Зворотний зв'язок ризику ДНМ визначено з віком пацієнта та гостротою зору. Стать та вміст у крові глюкози значимого впливу на ДНМ не мали. При цьому, найбільш тісний зв'язок ризику ДНМ, за даними ROC-аналізу, виявлено з показниками ЦТС (AUC=0,89; 95% ВІ 0,82-0,94) та ES (AUC=0,89; 95% ВІ 0,83-0,94). Якщо перше є досить очікуваним, то визначення ролі селектинів у виникненні ДНМ та можливість їх використання як біомаркерів прогнозу є досить цікавою знахідкою даного дослідження. Тим більш, що отримана багатофакторна модель ризику ДНМ мала досить гарні показники: AUC=0,97, чутливість – 93,2%, специфічність – 92,3%.

Враховуючи, що сучасна діагностика ДНМ та прогнозування відповіді на лікування базується переважно на оцінці даних офтальмологічних досліджень, переважно ОКТ [23], не виключено, що додавання у панель діагностики селектинів, які мають безпосереднє відношення до механізмів ДНМ, суттєво покращить ефективність його прогнозу, а вміст селектинів у крові може розглядатися як критерій ефективності різних методів лікування ДНМ.

Таким чином, отримані результати підтвердили сучасну концепцію щодо значення збільшення вмісту у крові селектинів за умов ЦД2, що підтверджено, наприклад, для LS [24]. Отже, селектини впливають на основні патогенетичні механізми мікросудинних ускладнень, а їх рівні у крові можна вважати предикторами прогресування ДР і виникнення ДНМ.

Висновки

1. Встановлена залежність вмісту в крові селектинів і прогресування стадії ДР при ЦД2. За наявності ДНМ вміст LS статистично вищий при легкій НПДР, вміст PS – при ПДР, тоді як вміст ES – при всіх стадіях ДР.

2. Побудована регресійна модель прогнозу прогресування ДР, у якій тривалість діабету й вміст у крові селектинів мали позитивний вплив, а вміст глікозильованого гемоглобіну – негативний. Модель адекватна (R2adjust=0,84; F=97,9; p<0,001), що свідчить про сильний зв'язок обраних факторів зі стадією ДР.

3. Розрахований індекс Y можна вважати кількісним відображенням ступеня тяжкості ДР: при значен-

ні Y<1,5 прогнозується легка НПДР (точність прогнозування – 86,2%), при значенні 1,5≤Y<2,35 – помірна або тяжка НПДР (точність прогнозування – 88,6%), при значенні Y≥2,35 – ПДР (точність прогнозування – 100%).

4. Побудована регресійна модель прогнозу ДНМ, у якій ризик більш імовірний у разі збільшення ЦТС і вмісту в крові ES. Площа під кривою операційних характеристик моделі AUC=0,97 (95% BI 0,92–0,99), що свідчило про сильний зв'язок ДНМ з обраними факторами; чутливість моделі становила 93,2% (95% BI 83,5–98,1%), специфічність – 92,3% (95% BI 83,0–97,5%).

Література

1. **TeoZL, ThamYC, YuM, CheeML, RimTH, CheungN, et al.** Global Prevalence of Diabetic Retinopathy and Projection of Burden through 2045: Systematic Review and Meta-analysis. Ophthalmology.2021Nov;128(11):1580-1591.
2. **Lin KY, Hsih WH, Lin YB, Wen CY, Chang TJ.** Update in the epidemiology, risk factors, screening, and treatment of diabetic retinopathy. J Diabetes Investig. 2021 Aug;12(8):1322-1325.
3. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group. Grading diabetic retinopathy from stereoscopic color fundus photographs – an extension of the modified Airlie house classification: ETDRS report № 10. Ophthalmology. 2020 Apr;127(4S): 99-119.
4. **Ghamdi AHA.** Clinical Predictors of Diabetic Retinopathy Progression; A Systematic Review. Curr Diabetes Rev. 2020;16(3):242-7.
5. **Mogilevskyy SYu, 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.
6. **Rangasamy S, McGuire PG, Das A.** Diabetic retinopathy and inflammation: novel therapeutic targets. Middle East Afr J Ophthalmol. 2012 Jan;19(1):52-9.
7. **Cappenberg A, Kardell M, Zarbock A.** Selectin-Mediated Signaling-Shedding Light on the Regulation of Integrin Activity in Neutrophils. Cells. 2022 Apr 12;11(8):1310.
8. **Rahman I, Collado Sánchez A, Davies J, Rzeniewicz K, Abukscem S, Joachim J, et al.** L-selectin regulates human neutrophil transendothelial migration. J Cell Sci. 2021 Feb 8;134(3):jcs250340.
9. **Mastej K, Adamiec R.** Stezenie sL-selektyny w surowicy krwi oraz ekspresja L-selektyny na powierzchni leukocytów chorych z cukrzyca typu 2 [Serum level of sL-selectin and leukocyte surface expression of L-selectin in patients with type 2 diabetes]. Przegl Lek. 2011;68(3):140-5. Polish.
10. **Kasza M, Meleg J, Vardai J, Nagy B Jr, Szalai E, Damjanovich J, et al.** Plasma E-selectin levels can play a role in the development of diabetic retinopathy. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. 2017 Jan;255(1):25-30.
11. **Spijkerman AM, Gall MA, Tarnow L, Twisk JW, Lauritzen E, Lund-Andersen H, et al.** Endothelial dysfunction and low-grade inflammation and the progression of retinopathy in Type 2 diabetes. Diabet Med. 2007 Sep;24(9):969-76.
12. **Kutlar A, Embury SH.** Cellular adhesion and the endothelium: P-selectin. Hematol Oncol Clin North Am. 2014 Apr;28(2):323-39.
13. **Liu Z, Miner JJ, Yago T, Yao L, Lupu F, Xia L, McEver RP.** Differential regulation of human and murine P-selectin expression and function in vivo. J Exp Med. 2010 Dec 20;207(13):2975-87.
14. **Ogata N, Nomura S, Shouzu A, Imaizumi M, Arichi M, Matsumura M.** Elevation of monocyte-derived microparticles in patients with diabetic retinopathy. Diabetes Res Clin Pract. 2006 Sep;73(3):241-8.
15. **Guryanov VG, Lyakh YuE, Pariy VD, Korotkyi OV, Chalyi OV, Chalyi KO, Tsekhmister YaV.** Posibnyk z biostatystyky. Analiz rezul′tativ medychnykh doslidzhen′ u paketi EZR (R–statistics) [Handbook of Biostatistics. Analysis of the results of medical research in the package EZR (R-statistics)]. Kyiv: News. 2018: 208. Ukrainian.
16. **Karadayi K, Top C, Gülecek O.** The relationship between soluble L-selectin and the development of diabetic retinopathy. Ocul Immunol Inflamm. 2003 Jun;11(2):123-9.
17. **Blum A, Pastukh N, Socea D, Jabaly H.** Levels of adhesion molecules in peripheral blood correlat with stages of diabetic retinopathy and may serve as bio markers for microvascular complications. Cytokine. 2018 Jun;106:76-9.
18. **Tryggestad JB, Shah RD, Braffett BH, Bacha F, Gidding SS, Gubitosi-Klug RA, et al.** TODAY Study Group. Circulating adhesion molecules and associations with HbA1c, hypertension, nephropathy, and retinopathy in the Treatment Options for type 2 Diabetes in Adolescent and Youth study. Pediatr Diabetes. 2020 Sep;21(6):923-31.
19. **Yun MR, Im DS, Lee JS, Son SM, Sung SM, Bae SS, Kim CD.** NAD(P)H oxidase-stimulating activity of serum from type 2 diabetic patients with retinopathy mediates enhanced endothelial expression of E-selectin. Life Sci. 2006 Apr 25;78(22):2608-14.
20. **Bavbek N, Kargili A, Kaftan O, Karakurt F, Kosar A, Akcay A.** Elevated concentrations of soluble adhesion molecules and large platelets in diabetic patients: are they markers of vascular disease and diabetic nephropathy? Clin Appl Thromb Hemost. 2007 Oct;13(4):391-7.
21. **Penman A, Hoadley S, Wilson JG, Taylor HA, Chen CJ, Sobrin L.** P-selectin Plasma Levels and Genetic Variant Associated With Diabetic Retinopathy in African Americans. Am J Ophthalmol. 2015 Jun;159(6):1152-1160.e2.
22. **Wang Q, Zeng N, Tang H, Yang X, Yao Q, Zhang L, et al.** Diabetic retinopathy risk prediction in patients with type 2 diabetes mellitus using a nomogram model. Front Endocrinol (Lausanne). 2022 Nov 16;13:993423.
23. **Gabrielle PH, Massin P, Arnould L, Couturier A, Bouché-Pillon J, Maupin E, et al**. Development of a 1-year risk-prediction nomogram for good functional response with anti-VEGF agents in naive diabetic macular oedema. Acta Ophthalmol. 2020 Dec;98(8):e975-e982.
24. **Bartol-Puyal FA, Isanta C, Verdes G, Ruiz-Moreno Ó, Calvo P, Pablo L.** Influence of inflammatory plasma biomarkers on choroidal thickness in type 2 diabetes mellitus. Eur J Ophthalmol. 2023 Jan;33(1):468-82.

Відомості про авторів та розкриття інформації

Відмова від відповідальності. *Автори заявляють, що висловлені у поданій статті думки є їх власними, а не офіційними позиціями установи.*

Конфлікт інтересів: *відсутній.*

Джерела підтримки*: відсутні.*

Надійшла 26.03.2023