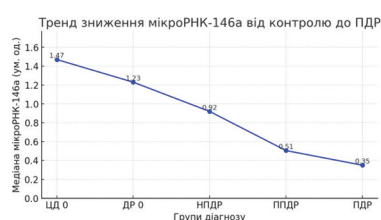


ЕКСПРЕСІЯ мікроРНК-146а-5р ПРИ РІЗНИХ СТАДІЯХ ДІАБЕТИЧНОЇ РЕТИНОПАТІЇ У ПАЦІЄНТІВ З ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ 2 ТИПУ

Кир'ян Є.П. <https://orcid.org/0009-0008-7167-3911>

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, Київ, Україна

nikolaipetrovich208@gmail.com



Актуальність. Вивчення нових предикторів розвитку та прогресування діабетичної ретинопатії (ДР) при цукровому діабеті (ЦД), зокрема експресії мікроРНК, є актуальним питанням сучасної клінічної офтальмології.

Ціль: встановити діагностичне та прогностичне значення мікроРНК-146а-5р в прогресуванні ДР у пацієнтів із ЦД 2 типу.

Матеріали та методи. В дослідження включено 68 пацієнтів (68 очей), чоловіків – 30 (44%), жінок – 38 (56%). Вік пацієнтів становив $60,6 \pm 7,1$ років, тривалість діабету $6,3 \pm 5,3$ років. У контрольну групу увійшло 12 осіб (12 очей),

які не мали ЦД (ЦД0). У 1-у групу увійшло 15 пацієнтів, які мали ЦД 2 типу, але ознак ДР у них виявлено не було (ДР0), у 2-у групу – 15 пацієнтів з непроліферативною ДР (НПДР), у 3-ю – 14 пацієнтів з препроліферативною ДР (ППДР) і у 4-у групу – 12 пацієнтів з проліферативною ДР (ПДР). Відносну експресію мікроРНК-146а-5р визначали методом полімеразної ланцюгової реакції у реальному часі (Thermo Fisher Scientific; США). Для статистичного аналізу використано пакет EZR v.1.54 (Австрія).

Результати. У пацієнтів з ЦД 2 типу, які не мали ДР, експресія мікроРНК-146а-5р у порівнянні з контролем була значуще знижена у 1,2 рази, при НПДР – у 1,6 рази, при ППДР – у 2,9 рази і при ПДР – у 4,2 рази ($p < 0,05$). При попарних порівняннях груп між собою всі відмінності були статистично значущі, за виключенням ППДР vs ПДР ($p = 0,10$). Кореляційний аналіз Спірмана показав зворотний міцний зв'язок мікроРНК-146а-5р з тривалістю діабету ($r = -0,91$; $p < 0,0001$). Логістичний регресійний аналіз показав, що зниження експресії мікроРНК-146а-5р було незалежним предиктором розвитку ДР ($p = 0,005$). За експресією мікроРНК-146а-5р були встановлені класифікаційні пороги: для діабету він склав 1,26 ум.од.; для – 0,95 ум.од.; для важких стадій ДР (ППДР і ПДР) – 0,71 ум.од.

Висновок. Вперше у пацієнтів з ЦД 2 типу з української популяції показана діагностична та прогностична значущість рівня експресії мікроРНК-146а-5р як біомаркера розвитку та прогресії ДР.

Ключові слова: діабетична ретинопатія; цукровий діабет 2 типу; мікроРНК; мікроРНК-146а; регуляція експресії генів; біомаркери; прогресування захворювання.

Актуальність. МікроРНК (miR) – це клас еволюційно консервативних коротких некодуючих РНК, що містять біля 19-22 нуклеотидів та регулюють експресію матричної РНК (мРНК) [1]. Беручи участь у регуляції експресії мРНК-мішеней, miRs відіграють важливу роль у найрізноманітніших біологічних системах та процесах, таких як клітиннадиференціація, проліферація, апоптоз та метаболізм, що робить їх перспективними клінічними біомаркерами [2].

MiR-146a є однією з найбільш вивчених мікроРНК завдяки своїй центральній ролі в гомеостазі імунної системи та контролі вроджених та набутих імунних відповідей [3]. На основі існуючих даних вона кваліфікується як ідеальний біомаркер для діагностики, прогнозу та оцінки активності імунних та неімунних запальних розладів.

Більшість мікроРНК є внутрішньоклітинними, тоді як деякі – позаклітинними та мають назву циркулюючих мікроРНК [4]. Було виявлено, що останні диференційно експресуються в сироватці крові та рідинах організму у пацієнтів з цукровим діабетом (ЦД) і діабетичною ретинопатією (ДР) та можуть служити новими надійними біомаркерами для виявлення або прогнозу прогресії ДР [4, 5]. МікроРНК, що вивільняються в кровообіг існують приблизно до 2 тижнів і більше з високою стабільністю та можуть бути потенційними біомаркерами ДР [6].

За результатами великого мета-аналізу було виявлено 93 диференційно експресованих мікроРНК, що мають відношення до ДР [7]. Встановлено підвищення регуляції miR-320a і miR-423-5p, знижена регуляція відмічена для miR-27b. Дослідження останніх років підтверджують, що мікроРНК регулюють ключові ланки патогенезу ДР – запалення/ ядерний фактор капа-В (NF-κB), ангіогенез/ васкулоендотеліальний фактор росту (VEGF), оксидативний стрес, нейродегенерацію, апоптоз [8].

Серед «антизапальних» мікроРНК виділяють miR-146a як негативний регулятор NF-κB, який при ДР часто знижений. Встановлено, що miR-146a-5p є ключовим негативним

регулятором запальних процесів [9]. Зокрема, NF-κB індукуює експресію miR-146a-5p, що, у свою чергу, пригнічує гени-мішені, важливі для активації NF-κB (петля зворотного зв'язку) [9]. У великому дослідженні EURO-DIAB в пацієнтів із ЦД 1 типу вищі рівні miR-146a-5p асоціювалися зі зниженими шансами ДР (OR≈0,4 після корекцій), що узгоджується з її протизапальними ефектами [10].

Вивчення нових предикторів розвитку та прогресування ДР у пацієнтів з ЦД 2 типу є актуальним питанням сучасної клінічної офтальмології.

Ціль: встановити діагностичне та прогностичне значення miR-146a-5p в прогресуванні діабетичної ретинопатії у пацієнтів із цукровим діабетом 2 типу.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Дослідження виконано із суворим дотриманням Конвенції Ради Європи про права людини та біомедицину, Гельсінкської декларації Всесвітньої медичної асоціації про етичні принципи проведення наукових медичних досліджень за участю людини та відповідали чинному законодавству України. Було отримане експертний висновок Комісії з питань біотичної експертизи та етики наукових досліджень Національного медичного університету імені О.О. Богомольця. Задизайном дослідження було когортним, проспективним та рандомізованим. Всі пацієнти, залучені у дослідження, надали інформовану згоду на участь.

В дослідження включено дані обстеження 68 пацієнтів (68 очей). Чоловіків було 30 (44%), жінок – 38 (56%). Вік пацієнтів становив $60,6 \pm 7,1$ років, тривалість діабету $6,3 \pm 5,3$ років. У контрольну групу увійшло 12 осіб (12 очей), які не мали ЦД та проходили обстеження і лікування з приводу вікової катаракти. У 1-у групу увійшло 15 пацієнтів, які мали ЦД 2 типу, але ознак ДР у них виявлено не було (ДР0), у 2-у групу – 15 пацієнтів з непроліферативною ДР (НПДР), у 3-ю – 14 пацієнтів з препроліферативною ДР (ППДР) і у 4-у групу – 12 пацієнтів з проліферативною ДР (ПДР).

Відносну експресію miR-146a-5p визначали методом полімеразної ланцюгової реакції у реальному часі (ПЛР). Після виділення РНК з сироватки крові проводили зворотну транскрипцію з отриманням кДНК (TaqMan® MicroRNA Reverse Transcription Kit; Thermo Fisher Scientific; США). Використовуючи отриману кДНК у якості матриці, проводили ПЛР із застосуванням наборів TaqMan MIRNA Assays miR-146a-5p, Universal PCR Master Mix, контрольної miR U6 (Thermo Fisher Scientific; США) за допомогою ампліфікатора PCR thermal cycler (7500 Fast Real-time PCR System, Applied Biosystems; США).

Для статистичного аналізу використано пакет EZR v.1.54 (графічний інтерфейс до R statistical software v.4.0.3, R Foundation for Statistical Computing, Австрія). Оскільки закон розподілу даних відрізнявся від нормального розраховували медіани (Me) та міжквартильні інтервали (Q1-Q3). Групові порівняння проведені за критерієм Крускала-Уолліса, попарні – за критерієм Данна, рівень статистичної значущості прийнятий рівним 0,05. Використано кореляційний аналіз Спірмана та методи логістичної регресії. Оптимальні міжгрупові пороги рівню експресії miR-146a-5p визначали методами

багатокласової класифікації з оцінкою ROC-кривих [11, 12].

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Як показали отримані дані, експресія miR-146a-5p у групах дослідження мала чітку тенденцію до зниження, що мало зв'язок з ЦД, ДР та її прогресією ($p < 0,005$; табл. 1).

Так, у пацієнтів з ЦД без ДР експресія miR-146a-5p у порівнянні з контролем була значуще знижена у 1,2 рази, при НПДР – у 1,6 рази, при ППДР – у 2,9 рази і при ПДР – у 4,2 рази ($p < 0,05$ для всіх порівнянь; рис. 1). При попарних порівняннях всіх груп між собою всі відмінності статистично значущі, за виключенням ППДР vs ПДР ($p = 0,10$).

За віком групи пацієнтів дещо відрізнялися ($p = 0,003$) – молодшими на 7-12 років за інших були пацієнти 1-ї групи (з ЦД без ДР). Тривалість діабету у групах послідовно збільшувалася (див. табл. 1). Пацієнти з ЦД без ДР та НПДР у даному дослідженні мали медіану 4,0 роки, тоді як пацієнти з ППДР і ПДР, відповідно, 8,5 і 15,5 років ($p < 0,001$). Тобто на кожну стадію додавалося по 4,5-7,5 років.

Таблиця 1

Експресія miR-146a-5p, показники віку та тривалості діабету у пацієнтів в групах дослідження (Me; Q1-Q3)

Показники	Група пацієнтів					p
	Контроль	1-а (ЦД2)	2-а (НПДР)	3-я (ППДР)	4-а (ПДР)	
miR-146a-5p, ум.од.	1,47 ¹⁻⁴ (1,36-1,59)	1,23 ^{0,1-4} (1,15-1,29)	0,92 ^{0,1,3,4} (0,85-1,19)	0,51 ⁰⁻² (0,44-0,6)	0,35 ⁰⁻² (0,22-0,42)	<0,001
Вік, Роки	64 ^{1,4} (62-66,8)	52 ^{0,2,3} (50-61,0)	60 ³ (58-64)	64 ¹ (60,2-65,8)	59 ¹ (51,5-65,8)	0,003
Тривалість діабету, років	–	4,0 ^{3,4} (2-5,5)	4,0 ^{3,4} (3,5-5)	8,5 ^{1,2,4} (7,2-10)	15,5 ¹⁻³ (12-17,2)	<0,001

Примітки: p – статистична значущість за критерієм Крускала-Уолліса, міжгрупові порівняння проведені за критерієм Данна:

0 – відмінність від контрольної групи статистично значуща, $p < 0,05$;

1 – відмінність від пацієнтів 1-ї групи статистично значуща, $p < 0,05$;

2 – відмінність від пацієнтів 2-ї групи статистично значуща, $p < 0,05$;

3 – відмінність від пацієнтів 3-ї групи статистично значуща, $p < 0,05$;

4 – відмінність від пацієнтів 4-ї групи статистично значуща, $p < 0,05$.

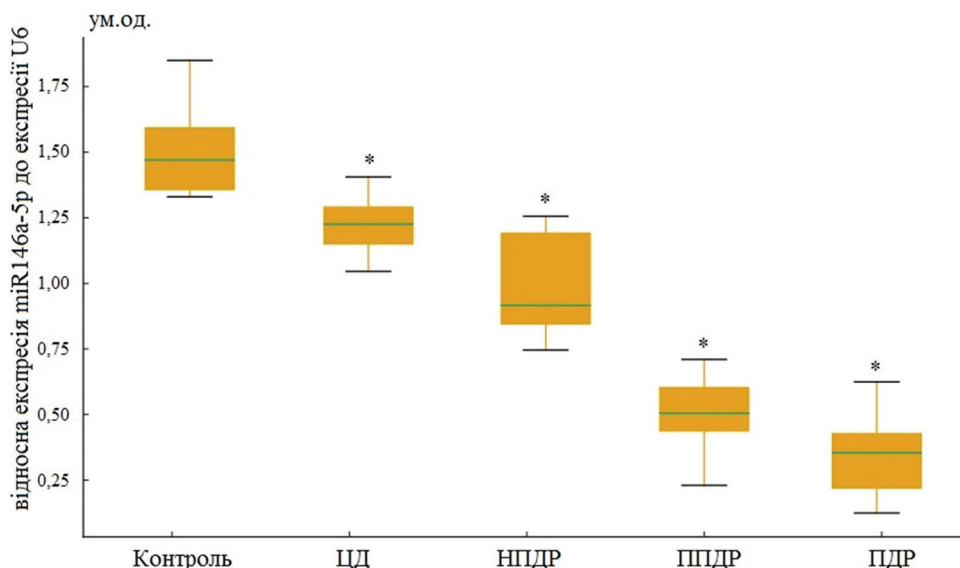


Рис. 1. Відносна експресія miR-146a-5p у сироватці крові пацієнтів контрольної групи (без цукрового діабету), 1-ї (цукровий діабет без ретинопатії; ЦД), 2-ї (непроліферативної діабетичної ретинопатії; НПДР), 3-ї (препроліферативної діабетичної ретинопатії; ППДР) і 4-ї (проліферативної діабетичної ретинопатії; ПДР) (ум.од. до експресії U6).

* – $p < 0,05$ у порівнянні з контролем

Кореляційний аналіз Спірмана показав наявність зворотного міцного зв'язку miR-146a-5p з тривалістю діабету ($\rho = -0,91$; $p < 0,0001$). З віком кореляції miR-146a-5p встановлено не було ($\rho = -0,11$; $p = 0,38$). Логістична регресія також підтвердила, що зниження експресії miR-146a-5p було незалежним предиктором розвитку ДР ($p = 0,005$), тоді як вік та тривалість діабету статистичної значущості у багатофакторних моделях не мали (відповідно $p = 0,155$ і $p = 0,571$).

Таким чином, було встановлено, що експресія miR-146a-5p була чітко пов'язана з наявністю та тривалістю діабету, а також зі стадіями ДР, але не залежала від віку. Рівень експресії miR-146a-5p чітко розрізняв всі групи (контроль vs ЦД без ДР vs ДР), за виключенням груп ППДР vs ПДР. При цьому спостерігався чіткий тренд: з прогресуванням ДР експресія miR-146a-5p знижувалася (рис. 2).

На наступному етапі був проведений розрахунок оптимальних порогів класифікації за методом One-vs-All з побудовою ROC-кривих (рис. 3) [11, 12]. Класифікаційний поріг діабету склав менше 1,26 ум.од. ($AUC = 0,99$; 95% ВІ 0,96-1,0), поріг НПДР – менше 0,95 ум.од.

($AUC = 0,96$; 95% ВІ 0,91-0,99), поріг ППДР/ПДР – менше 0,71 ум.од. ($AUC = 1,06$; 95% ВІ 1,0-1,0).

Також у даному дослідженні було оцінено вплив статі на експресію miR-146a-5p. Визначена тенденція до її вищого рівня у жінок, але малий розмір вибірки не дозволив підтвердити цю тенденцію. Рівень експресії у жінок склав $Me = 1,16$ (0,561, 33), у чоловіків $Me = 0,86$ (0,44-1116), рівень значущості за Маном-Вітні $p = 0,19$. Отже, стать не мала статистично значущого впливу на рівень експресії miR-146a-5p.

Проведений аналіз показав, що рівень miR-146a-5p є важливим біомаркером перебігу ЦД 2 типу та ДР. У хворих на діабет експресія miR-146a-5p була достовірно нижчою, ніж у контрольній групі, з подальшим прогресуючим зниженням на стадіях ДР. ROC-аналіз продемонстрував високу діагностичну цінність miR-146a-5p: AUC становив 0,99 для розмежування контролю і діабету, 0,96 для виявлення ДР серед хворих на діабет, та 1,0 для диференціації НПДР від тяжчих форм (ППДР/ПДР). Оптимальні межові значення склали 0,95 ум.од. для діагностики ДР та 0,71 ум.од. для відмежування початкової і тяжкої ДР.

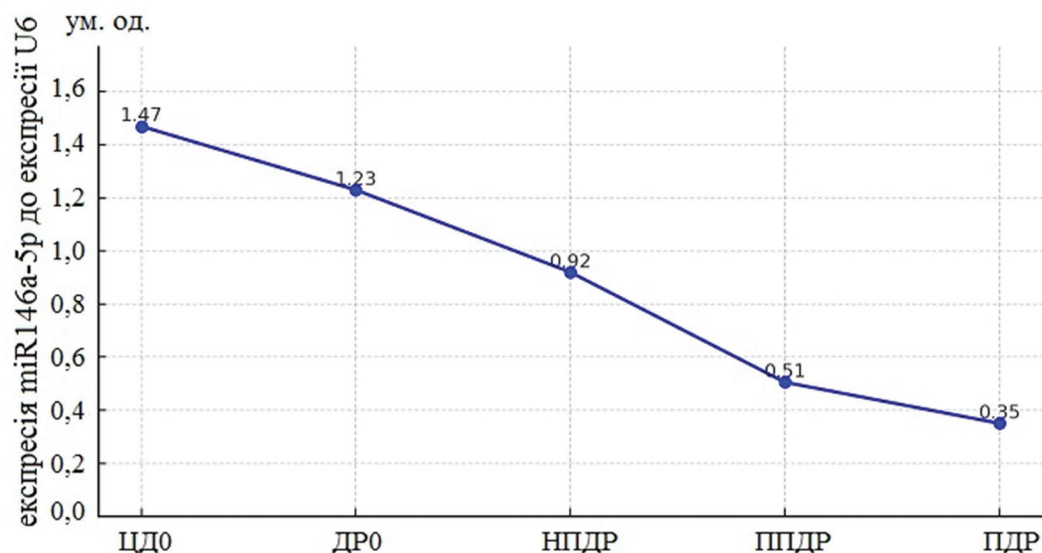


Рис. 2. Тренд зниження експресії miR146a-5p відповідно до прогресування діабетичної ретинопатії (коефіцієнт апроксимації лінійної регресії $R^2=0,986$; $p<0,001$); ЦД0 – контрольна група (діабету немає); ДР0 – 1-а група (є діабет, немає ретинопатії); НПДР – непроліферативна діабетична ретинопатія; ППДР – препроліферативна діабетична ретинопатія; ПДР – проліферативна діабетична ретинопатія

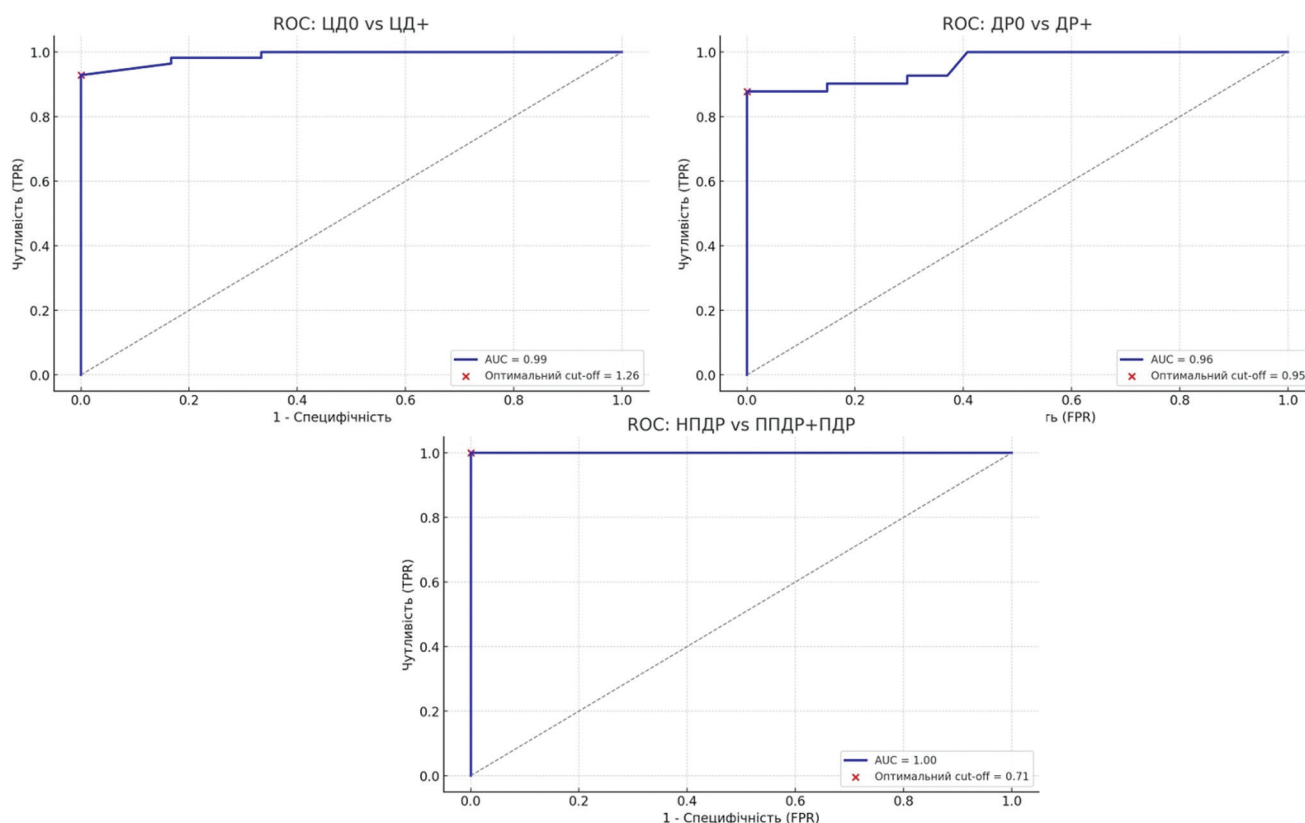


Рис. 3. ROC-криві прогнозування прогресії діабетичної ретинопатії за експресією miR-146a-5p; ROC: ЦД0 vs ЦД+ – ризик розвитку цукрового діабету (межа – менше 1,26 ум.од.); ROC: ДР0 vs ДР+ – ризик розвитку діабетичної ретинопатії (межа – менше 0,95 ум.од.); ROC: НПДР vs ППДР+ПДР – ризик розвитку тяжких стадій ретинопатії (препроліферативної та проліферативної; межа – менше 0,71 ум.од.)

Кореляційний аналіз показав дуже сильний зворотний зв'язок між рівнем miR-146a-5p та тривалістю діабету ($\rho = -0,91$, $p < 0,001$), тоді як зв'язку з віком виявлено не було. За статтю достовірних відмінностей у рівнях miR-146a-5p не виявлено, хоча у жінок спостерігалась тенденція до вищих значень. Логістична регресія підтвердила, що зниження експресії miR-146a-5p було незалежним предиктором розвитку ДР.

Таким чином, рівень експресії miR-146a-5p може розглядатися як перспективний біомаркер ранньої діагностики та прогнозу прогресії ДР.

ОБГОВОРЕННЯ

У експериментальному дослідженні показано, що на ранніх стадіях діабету miR-146a має захисний ефект, пригнічуючи цільові гени, пов'язані із запаленням, що призводить до пригнічення активації інфламасоми [13]. Ці результати висвітлили miR-146a як новий протизапальний мРНК-модулятор діабету. Крім шляху NF- κ B мікроРНК-146a впливає і на інші критичні медіатори запалення, розташовані нижче за течією від Toll-подібних рецепторів, такі як рецептор-асоційована кіназа інтерлейкіна 1 (IRAK1), фактор некрозу пухлини та інтерлейкін 1 β [14]. Впливаючи на TRAF6 та IRAK1, а також гальмуючи активацію NF- κ B, miR-146a призводить до пригнічення оксидативного стресу, індукованого цитокінами [15, 16]. Введення у склоподібне тіло miR-146 пригнічувало індуковану діабетом активацію NF- κ B та функціональні дефекти мікросудин та нейронів сітківки у експериментальній моделі діабету [17]. Також показано, що miR-146a відіграє певну роль у пригніченні прозапальних шляхів, що включають STAT3 та VEGF, шляхом регуляції сигналізації IL-6 та зменшує апоптоз ендотеліальних клітин сітківки людини в умовах високого вмісту глюкози [18].

Огляд сучасних медичних досліджень виявив знижений рівень miR-146a в крові пацієнтів з ЦД 2 типу [19]. Порушення регуляції експресії miR-146a було пов'язано з прогресуванням

нефропатії, нейропатії, загоєнням ран, нуховою дисфункцією, серцево-судинними розладами та ретинопатією у пацієнтів з діабетом.

Клінічно визначено, що вищі циркулюючі рівні miR-146a пов'язані з меншим ризиком ДР при ЦД 1 типу, а генетичні варіанти rs2910164 гена MIR-146a впливають на ранні очні нейродегенеративні маркери [10]. Рівні miR-146a-5p були значно нижчими у пацієнтів з ДР (1,15 ум.од.; 0,32-3,34 ум.од.) порівняно з контрольною групою (1,74 ум.од.; 0,44-6,74 ум.од.; $p = 0,039$). Логістичний регресійний аналіз показав, що рівні miR-146a-5p були обернено пов'язані зі зниженим ризиком ускладнень діабету (ВШ 0,34; 95% ВІ 0,14-0,76), особливо із ДР (ВШ 0,40; 95% ВІ 0,16-0,99)), незалежно від віку, статі, тривалості діабету, глікованого гемоглобіну, артеріальної гіпертензії та інших факторів [10].

Цитовані дані збігаються з отриманими нами результатами. Експресія miR-146a-5p у когорті пацієнтів з ЦД 2 типу за результатами нашого дослідження чітко відповідала стадіям ДР. Крім того нами вперше показана її діагностична та прогностична значущість як маркера ЦД 2 типу, ДР та її тяжких стадій у пацієнтів з української популяції.

ВИСНОВКИ

1. У пацієнтів з ЦД 2 типу, які не мали ДР експресія miR-146a-5p у порівнянні з контролем була значуще знижена у 1,2 рази, при НПДР – у 1,6 рази, при ППДР – у 2,9 рази і при ПДР – у 4,2 рази ($p < 0,05$ для всіх випадків). При попарних порівняннях всіх груп між собою всі відмінності статистично значущі, за виключенням ППДР vs ПДР ($p = 0,10$).
2. Кореляційний аналіз Спірмана показав наявність зворотного міцного зв'язку miR-146a-5p з тривалістю діабету ($\rho = -0,91$; $p < 0,0001$). Зниження експресії miR-146a-5p було незалежним предиктором розвитку ДР ($p = 0,005$), тоді як вік, тривалість діабету та стать статистичної значущості не мали.

3. За експресією miR-146a-5р були встановлені класифікаційні пороги: для діабету він склав 1,26 ум.од.; для – 0,95 ум.од.; для важких стадій ДР (ППДР і ПДР) – 0,71 ум.од.

REFERENCES

1. Lu TX, Rothenberg ME. MicroRNA. *J Allergy Clin Immunol*. 2018 Apr;141(4):1202-1207. doi: 10.1016/j.jaci.2017.08.034.
2. Lombardi G, Delvin E. Micro-RNA: A Future Approach to Personalized Diagnosis of Bone Diseases. *Calcif Tissue Int*. 2023 Feb;112(2):271-287. doi: 10.1007/s00223-022-00959-z.
3. Mortazavi-Jahromi SS, Aslani M, Mirshafiey A. A comprehensive review on miR-146a molecular mechanisms in a wide spectrum of immune and non-immune inflammatory diseases. *Immunol Lett*. 2020 Nov;227:8-27. doi: 10.1016/j.imlet.2020.07.008.
4. Smit-McBride Z, Morse LS. MicroRNA and diabetic retinopathy—biomarkers and novel therapeutics. *Ann Transl Med* 2021;9(15):1280. doi: 10.21037/atm-20-5189.
5. Margaritis K, Margioulas-Siarkou G, Giza S, Kotanidou EP, Tsinopoulou VR, Christoforidis A, Galli-Tsinopoulou A. Micro-RNA Implications in Type-1 Diabetes Mellitus: A Review of Literature. *Int J Mol Sci*. 2021 Nov 10;22(22):12165. doi: 10.3390/ijms222212165.
6. Santovito D, Toto L, De Nardis V, Marcantonio P, D'Aloisio R, Mastropasqua A, De Cesare D, Bucci M, Paganelli C, Ntarelli L, Weber C, Consoli A, Mastropasqua R, Cipollone F. Plasma microRNA signature associated with retinopathy in patients with type 2 diabetes. *Sci Rep*. 2021 Feb 18;11(1):4136. doi: 10.1038/s41598-021-83047-w.
7. Zhou H, Peng C, Huang DS, Liu L, Guan P. microRNA Expression Profiling Based on Microarray Approach in Human Diabetic Retinopathy: A Systematic Review and Meta-Analysis. *DNA Cell Biol*. 2020 Mar;39(3):441-450. doi: 10.1089/dna.2019.4942.
8. Zhao H, Cai Y, Pan J, Chen Q. Role of MicroRNA in linking diabetic retinal neurodegeneration and vascular degeneration. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2024 Jul 4;15:1412138. doi: 10.3389/fendo.2024.1412138.
9. Taganov KD, Boldin MP, Chang KJ, Baltimore D. NF-kappaB-dependent induction of microRNA miR-146, an inhibitor targeted to signaling proteins of innate immune responses. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006 Aug 15;103(33):12481-6. doi: 10.1073/pnas.0605298103.
10. Barutta, F., Corbetta, B., Bellini, S. та ін. МікроРНК 146а пов'язана з діабетичними ускладненнями у пацієнтів з діабетом 1 типу за даними дослідження EURODIAB PCS. *J Transl Med* 19, 475 (2021). <https://doi.org/10.1186/s12967-021-03142-4>
11. Brownlee J. One-vs-Rest and One-vs-One for Multi-Class Classification [Internet]. *Machine Learning Mastery*; 2021 [cited 2025 May 28]. Available from: <https://machinelearningmastery.com/one-vs-rest-and-one-vs-one-for-multi-class-classification>.
12. Robin X, Turck N, Hainard A, Tiberti N, Lisacek F, Sanchez J-C, Müller M. pROC: an open-source package for R and S+ to analyze and compare ROC curves. *BMC Bioinformatics*. 2011;12(77):1-8. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-12-77>.
13. Bhatt K, Lanting LL, Jia Y, Yadav S, Reddy MA, Magilnick N, Boldin M, Natarajan R. Anti-Inflammatory Role of MicroRNA-146a in the Pathogenesis of Diabetic Nephropathy. *J Am Soc Nephrol*. 2016 Aug;27(8):2277-88. doi: 10.1681/ASN.2015010111.
14. Lampsas S, Agapitou C, Chatzirallis A, Papavasileiou G, Poulakis D, Pegka S, Theodossiadis P, Lambadiari V, Chatziralli I. MicroRNA (miRNA) in the Pathogenesis of Diabetic Retinopathy: A Narrative Review. *Genes*. 2025; 16(9):1060. <https://doi.org/10.3390/genes16091060>
15. Zhao W, Spiers JG, Vassileff N, Khadka A, Jaehne EJ, van den Buuse M, Hill AF. microRNA-146a modulates behavioural activity, neuroinflammation, and oxidative stress in adult mice. *Mol Cell Neurosci*. 2023 Mar;124:103820. doi: 10.1016/j.mcn.2023.103820.
16. Luo Y, Li C. Advances in Research Related to MicroRNA for Diabetic Retinopathy. *J Di-*

- abetes Res. 2024 Feb 12;2024:8520489. doi: 10.1155/2024/8520489.
17. Zhuang P, Muraleedharan CK, Shunbin X. Intraocular Delivery of miR-146 Inhibits Diabetes-Induced Retinal Functional Defects in Diabetic Rat Model. *Investigative Ophthalmology & Visual Science* March 2017, Vol.58, 1646-1655. <https://doi.org/10.1167/iovs.16-21223>.
18. Ye EA, Steinle JJ. miR-146a suppresses STAT3/VEGF pathways and reduces apoptosis through IL-6 signaling in primary human retinal microvascular endothelial cells in high glucose conditions. *Vision Res.* 2017 Oct;139:15-22. doi: 10.1016/j.visres.2017.03.009.
19. Ghaffari M, Razi S, Zalpoor H, Nabi-Afjadi M, Mohebichamkhorami F, Zali H. Association of MicroRNA-146a with Type 1 and 2 Diabetes and their Related Complications. *J Diabetes Res.* 2023 Mar 3;2023:2587104. doi: 10.1155/2023/2587104.

microRNA-146a-5p EXPRESSION AT DIFFERENT STAGES OF DIABETIC RETINOPATHY IN PATIENTS WITH TYPE 2 DIABETES

Kiryan E.P.

Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine

nikolaietrovich208@gmail.com

Background. Studying new predictors of the development and progression of diabetic retinopathy (DR) in diabetes mellitus (DM), in particular the expression of microRNAs, is a relevant issue in modern clinical ophthalmology.

Aim: to establish the diagnostic and prognostic significance of microRNA-146a-5p in the DR progression in patients with type 2 diabetes.

Materials and methods. The study included 68 patients (68 eyes), 30 men (44%), 38 women (56%). The patients' age was 60.6 ± 7.1 years, and the duration of diabetes was 6.3 ± 5.3 years. The control group included 12 people (12 eyes) who did not have diabetes (DM0). Group 1 included 15 patients who had type 2 diabetes but no signs of DR were detected (DR0), group 2 included 15 patients with nonproliferative DR (NPDR), group 3 included 14 patients with preproliferative DR (PPDR), and group 4 included 12 patients with proliferative DR (PDR). The relative expression of miRNA-146a-5p was determined by real-time polymerase chain reaction (Thermo Fisher Scientific; USA). For statistical analysis, the EZR v.1.54 package (Austria) was used.

Results. In patients with type 2 diabetes who did not have DR, the expression of miRNA-146a-5p was significantly reduced by 1.2 times compared to controls (DM0), in patients with NPDR – by 1.6 times, in patients with PPDR – by 2.9 times, and in patients with PDD – by 4.2 times ($p < 0.05$). In pairwise comparisons of all groups, all differences were statistically significant, with the exception of PPDR vs PDD ($p = 0.10$). Spearman correlation analysis showed a strong inverse relationship between miRNA-146a-5p and the duration of diabetes ($\rho = -0.91$; $p < 0.0001$). Logistic regression analysis showed that decreased expression of miRNA-146a-5p was an independent predictor of the development of DR ($p = 0.005$). Classification thresholds were established for the expression of miRNA-146a-5p: for diabetes it was 1.26 standard units; for – 0.95 standard units; for severe stages of DR (PPDR and PDR) – 0.71 standard units.

Conclusion. For the first time, in patients with type 2 diabetes from the Ukrainian population, the diagnostic and prognostic significance of the miRNA-146a-5p expression level as a biomarker of the DR development and progression has been shown.

Key words (MeSH): Diabetic Retinopathy; Diabetes Mellitus, Type 2; MicroRNAs; MicroRNA-146a; Gene Expression Regulation; Biomarkers; Disease Progression.