

Комбінований ефект впливу варіантів генів CFH (rs1061170) та TGFB1 (rs1800469) на ризик розвитку різних форм вікової дегенерації макули

Д. О. Перетягіна¹, лікар; Н. А. Ульянова², д-р мед. наук, професор; Л. Є. Фіщук³, З. І. Россоха³

¹ Одеський національний медичний університет;

² ДУ «Інститут очних хвороб і тканинної терапії ім. В. П. Філатова НАМН України»;
Одеса (Україна)

³ Державний заклад «Референс-центр з молекулярної діагностики МОЗ України»;
Київ (Україна)

Ключові слова:

вікова дегенерація макули, сітківка, хоріоїдея, субретинальна васкулярна мембрана, географічна атрофія, варіант гена TGFB1 (rs1800469), варіант гена CFH(rs1061170)

Вступ. Вікова дегенерація макули (ВДМ) – це хронічне, прогресуюче захворювання, яке характеризується ураженням сітківки області макули та зниженням, а згодом і втратою центрального зору. Ця патологія, зазвичай, пов'язана з віком та є провідною причиною зниження зору та сліпоти у людей старше 50 років, однак, дане захворювання «молодшає» і наразі ранні ознаки ВДМ виявляють і у суб'єктів молодше 50 років [1]. Слід зазначити, що серед патологій ока в економічно розвинених країнах ВДМ займає лідируючу позицію, як причина зниження гостроти зору.

Соціальна значимість цього захворювання визначається його високою поширеністю – частота захворюваності на ВДМ є найвищою в Європі, де сукупна річна захворюваність на пізні стадії ВДМ становить 1,4 на 1000 осіб, а загальна поширеність для людей географічного європейського регіону становить 18.3% [2, 3]. Згідно даних Li et al. приблизно 67 мільйонів людей у

Актуальність. Вікова дегенерація макули (ВДМ) є одним із найпоширеніших захворювань, що ведуть до втрати центрального зору в пізній стадії, внаслідок розвитку хоріоїдальної неоваскуляризації або географічної атрофії. Генетична детермінанта відіграє важливу роль при розвитку даного захворювання, впливає на клінічну картину та визначає відповідь на лікування. Саме тому дослідження генетичної складової при віковій дегенерації макули є надзвичайно актуальними.

Мета. Дослідити зв'язок між варіантами генів TGFB1 (C509T, rs1800469) і CFH (T1277C, rs1061170) та їх міжгенної взаємодії і ризиком виникнення різних форм вікової дегенерації макули.

Матеріал та методи. Обстежено 61 пацієнта з ВДМ (31 – з пізньою «сухою» формою («географічна атрофія»), 30 – з пізньою «вологою» (неоваскулярна); пацієнти з неоваскулярною формою були поділені на дві підгрупи: 14 хворих з субретинальною неоваскулярною мембраною 1-го типу та 16 – з субретинальною неоваскулярною мембраною 2-го типу. Група контролю – 50 осіб відповідного віку, без офтальмологічної патології. Молекулярно-генетичне дослідження варіантів генів TGFB1 та CFH проводили за допомогою полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) із наступним рестрикційним аналізом.

Результати. Виявлено асоціацію між різними варіантами генів TGFB1 (C509T, rs1800469) і CFH (T1277C, rs1061170) та ризиком розвитку різних форм ВДМ. Генотип 1277TT за геном CFH асоціюється із зменшенням ризику розвитку ВДМ, а генотип 1277CC із збільшенням такого ризику, в першу чергу ризику виникнення «географічної атрофії» ($p < 0,05$). Варіант 509CC гену TGFB1 асоційований з підвищеним ризиком, а варіант 509 TT – зі зниженим ризиком виникнення як географічної атрофії, так і субретинальної неоваскулярної мембрани 2-го типу.

Висновки. Вперше було проаналізовано комбінований вплив досліджених варіантів генів на схильність до виникнення ВДМ. Вперше встановлено їх синергічну взаємодію у зростанні ризику розвитку окремих форм захворювання, зокрема «географічної атрофії». Отримані дані створюють передумови для розробки персоналізовано-го прогнозування ризику захворювання та розробки новітніх стратегій лікування.

Європі на даний момент уражені будь-якою формою ВДМ [2]. Автори припускають, що через старіння населення поширеність даного захворювання буде зростати.

Більша частина втрати зорових функцій відбувається на пізніх стадіях захворювання через один із двох процесів: аномальну хоріоїдальну неоваскуляризацію (ексудативну форму ВДМ, або, так звану, «вологу форму») та географічну атрофію («пізню суху форму» ВДМ).

Результати багатьох масштабних мета-аналізів поширеності ВДМ вказують на расові відмінності, що дослідники пов'язують із генетичними відмінностями між расами [4]. Генетична детермінанта при ВДМ, як

відомо, відіграє важливу роль при розвитку даного захворювання, впливає на клінічну картину та визначає відповідь на лікування. Саме тому дослідження генетичної складової при ВДМ є надзвичайно актуальними, адже вони покращують розуміння патофізіологічних механізмів даного захворювання та стимулюють розвиток нових методів лікування, зокрема, генних методів [5]. Зокрема, є багаточисельні дослідження, в тому числі повногеномні, які підтверджують роль варіантів генів CFH (що кодує фактор Н системи комплементу) та TGFB1 (що кодує трансформаційний фактор росту бета 1) у розвитку патологічних процесів ока для окремих популяцій [6-11]. Проте, проведені повногеномні дослідження, зазвичай, вивчають роль поширених та рідкісних варіантів генів при ризику розвитку захворювання, без вивчення взаємодії між ними.

Мета дослідження: дослідити зв'язок між варіантами генів TGFB1 (C509T, rs1800469) і CFH (T1277C, rs1061170) та їх міжгенної взаємодії і ризиком виникнення різних форм ВДМ.

Матеріал та методи

Дослідження було проведено згідно дизайну «випадок-контроль». До групи спостереження було включено 61 пацієнта із ВДМ: 31 – із діагнозом пізня «суха» форма ВДМ («географічна атрофія», ГА), 30 – із діагнозом пізня «волога» форма ВДМ (неоваскулярна) (нВДМ). В свою чергу, пацієнти з нВДМ були поділені на дві підгрупи: 14 хворих з субретинальною неоваскулярною мембраною (СНМ) 1-го типу, або скритою СНМ (СНМ-I) та 16 – з субретинальною неоваскулярною мембраною 2-го типу, або класичною СНМ (СНМ-II). Група контролю складалася із 50 осіб, із відповідним віком та статевим розподілом (табл. 1).

В осіб з групи контролю не було виявлено офтальмологічної патології. Всім залученим у дослідження була проведена візометрія, біомікроофтальмоскопія та оптична когерентна томографія (методом високої роздільної здатності Swept-Source (SS-OCT) на апараті TritonPlus (Topcon)). У всіх пацієнтів визначали варіанти генів TGFB1 – C509T(rs1800469) та CFH – T1277C (rs1061170).

Дане дослідження було проведено з дотриманням принципів Гельсінкської декларації та схвалено Комісією з питань біоетики Одеського національного медичного університету (протокол № 130А від 05.10.2018р.). Від кожного учасника було отримано інформовану згоду на участь у дослідженні.

Екстракцію геномної дезоксирибонуклеїнової кислоти (ДНК) з букального епітелію, збереженого із використанням консерванту DNA/RNASHield (ZymoResearch, USA), проводили комерційним набором «Quick-DNAMiniPrepPlusKit» (ZymoResearch, USA). Визначення варіантів генів TGFB1 – C509T(rs1800469) та CFH – T1277C (rs1061170) здійснювали за допомогою методу полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) з подальшим рестрикційним аналізом утворених продуктів ампліфікації (табл. 2).

Досліджувані ділянки генів ампліфікували в термоцикл ері AnalyticJena із використанням комерційного набору «DreamTaqGreen PCR MasterMix» (ThermoScientific, USA) та специфічних олігонуклеотидних праймерів (Metabion, Germany) (табл. 2) за протоколами опублікованими раніше [10, 12]. Продукти ампліфікації фрагментів ДНК піддавали гідролітичному розщепленню відповідними ендонуклеазами рестрикції (ThermoScientific, USA). Продукти ре-

Таблиця 1. Вікова та гендерна характеристика залучених у дослідження груп

Показники		Група контролю (n=50)	ВДМ (n=61)	Пацієнти із ГА (n=31)	Пацієнти із СНМ-I (n=14)	Пацієнти із СНМ-II (n=16)
Вік, років (M±m)		72,2±8,2	73,8±8,9	74,5±9,3	72,9±6,8	73,2±10,1
Стать	чоловіки, n (%)	18 (36,0%)	24 (39,3%)	14 (45,2%)	4 (28,6%)	6 (37,5%)
	жінки, n (%)	32 (64,0%)	37 (60,7%)	17 (54,8%)	10 (71,4%)	10 (62,5%)

Примітка: n – кількість пацієнтів; ВДМ – вікова дегенерація макули; ГА – географічна атрофія; СНМ – субретинальна васкулярна мембрана; M – середнє значення показника; m – помилка середнього показника.

Таблиця 2. Реагенти та умови проведення ПЛР з подальшим рестрикційним аналізом

Ген/варіант ген	Послідовність праймерів (з 5' до 3')	Амплікони (пн)	Рестриктази	Розмір рестрикційних фрагментів (пн)
TGFB1 C509T	F: AGGGGGCAACAGGACACCTTA	123	BspTI (AflIII)	509CC: 123 509CT: 18*, 105, 123 509TT: 18*, 105
	R: GTCGCAGGGTGTGAGTGACAG			
CFH T1277C	F: TTTTGGATGTTTATGCAATCTT	244	Hin1II (NlaIII)	1277TT: 244 1277TC: 79, 165, 244 1277CC: 79, 169
	R: ACTGTGGTCTGCGCTTTTG			

Примітка: * – фрагменти розміром до 30 пар нуклеотидів (пн) в агарозному гелі не візуалізуються

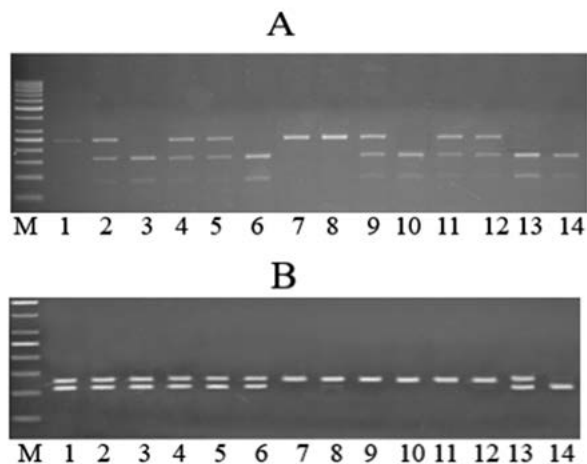


Рис. 1. Електрофореграма розподілу рестрикційних фрагментів досліджуваних генів. М – DNAladder. Гель А – варіант T1277C за геном CFH: 1, 7, 8 – генотип 1277TT; 2, 4, 5, 9, 11, 12 – генотип 1277TC; 3, 6, 10, 13, 14 – генотип 1277CC. Гель В – варіант C509T за геном TGFB1: 1-6, 13 – генотип 509CT; 7-12 – генотип 509CC; 14 – 509 генотип TT.

стрикційного аналізу розділяли за допомогою електрофорезу в 3% агарозному гелі та візуалізували на УФ-трансліноміаторі MultiSubMidi (CleaverScientificLtd, UK) (рис. 1).

Для статистичного аналізу використовували програмний пакет SPSS v.27. Для порівняння частот генотипів/комбінацій генотипів серед груп порівняння використовували описову статистику та обчислення критерію χ^2 Пірсона. Для оцінки величини та сили асоціації між генотипом/комбінацій генотипів та ризиком розвитку захворювання використовували відношення шансів (OR) у межах 95% довірчого інтервалу (95% CI).

Міжгенні взаємодії вивчали двома різними підходами. Перший підхід був реалізований шляхом порівняльного аналізу комбінацій генотипів між групами порівняння. Другий підхід було здійснено за допомогою біоінформативного методу мультифакторної просторової редукції (multifactor dimensionality reduction, MDR), запропонованого Ritchie M. D. і реалізованого

в програмі MDRv.3.0.2. Для валідації отриманих моделей використовували пермутаційний тест – mdrptv.1.0 beta 2. Відмінності вважалися значимими при $p < 0,05$.

Результати

У пацієнтів з ВДМ та осіб групи контролю було проведено аналіз відмінностей визначених частот варіантів генів CFH та TGFB1 (табл. 3). У групі контролю генотип 509TT за геном CFH було виявлено у 46% випадків, що значуще відрізнялось від частоти його виявлення в загальній групі хворих, де частота розповсюдження цього генотипу становила 18% (табл. 3). А частота виявлення генотипу 1277CC за геном CFH, навпаки, значуще переважала в групі хворих з різними формами ВДМ порівняно з контролем (34,4% порівняно з 10%).

Виявлені значущі відмінності засвідчили про наявність асоціації генотипу 1277CC із зростанням ризику розвитку ВДМ (майже в 5 разів), а для іншого гомозиготного варіанту – генотипу 1277TT за геном CFH, була виявлена протективна дія. При цьому не виявлено статистично значущого зв'язку варіанта гена TGFB1 і ризиком виникнення ВДМ. Хоча спостерігалась тенденція до зростання кількості випадків ВДМ у разі наявності генотипу 509CC гена TGFB1.

На наступному етапі було проведено порівняльний аналіз розподілу генотипів за варіантами досліджених генів залежно від форми ВДМ (табл. 4).

В результаті проведених досліджень, було виявлено протективний ефект генотипу 1277TT за геном CFH до розвитку ГА та СНМ, так як частота розповсюдження цього генотипу була достовірно меншою, ніж у осіб контрольної групи (16,1% та 20,0%, відповідно). Привертає увагу те, що у пацієнтів групи СНМ-I частота виявлення варіанту 1277TT гена CFH значуще не відрізнялась від показників контрольної групи. Отже протективний ефект генотипу 1277TT не поширювався на ризик розвитку СНМ-I. Натомість, протективний ефект спостерігався у пацієнтів з СНМ-II. Про це свідчило достовірно менша, на 33,5%, частота генотипу 1277TT гена CFH у пацієнтів цієї групи порівняно з контрольною.

Схожі особливості було з'ясовано при аналізі розповсюдженості частоти генотипу 1277CC при різних

Таблиця 3. Розподіл генотипів за варіантами генів CFH та TGFB1 у групах порівняння (n, %)

Ген, варіант		Група контролю (n=50)	ВДМ (n=61)	Результати статистичного аналізу
CFH T1277C	1277TT	23 (46,0%)	11 (18,0%)	$\chi^2=10,11$, $p=0,0015$, OR=0,26 (0,11-0,61)
	1277TC	22 (44,0%)	29 (47,5%)	$p>0,05$
	1277CC	5 (10,0%)	21 (34,4%)	$\chi^2=4,73$, $p=0,0051$, OR=4,73 (1,63-13,70)
TGFB1 C509T	509CC	14 (28,0%)	23 (37,7%)	$p>0,05$
	509CT	30 (60,0%)	32 (52,5%)	$p>0,05$
	509TT	6 (12,0%)	6 (9,8%)	$p>0,05$

Примітка: n – кількість хворих; χ^2 – коефіцієнт Пірсона; p – рівень значущості різниці між показниками.

формах ВДМ. За наявності генотипу 1277СС відмічено значуще підвищення ризиків розвитку ГА та СНМ-II. В той же час розповсюдження цього генотипу у пацієнтів з СНМ-I також не відрізнялось від групи контролю.

Для гена TGFB1 було показано, що наявність генотипу 509СС асоційована із збільшенням ризику розвитку ГА. Так, у пацієнтів з ГА генотип 509СС виявлявся майже вдвічі частіше, ніж у здорових осіб групи контролю (51,6% проти 28% в контрольній групі). А от розподіл інших генотипів за варіантом С509Т гена TGFB1 у пацієнтів з ВДМ не відрізнявся від осіб групи контролю.

Також слід відмітити достовірне ($\chi^2=4,06$, $p=0,044$) підвищення частоти розповсюдження генотипу 509СС

та зниження частоти розповсюдження генотипу 509ТТ ($\chi^2=3,97$, $p=0,046$) гена TGFB1 у пацієнтів із ГА у порівнянні із пацієнтами з СНМ-I (табл. 4).

Відповідно до мети роботи нами було проведено оцінку дуального (поєданого) впливу досліджуваних варіантів генів на різні форми ВДМ (табл. 5, 6). В результаті проведених досліджень виявлена нейтралізація протективного ефекту варіанту 1277ТТ гена CFH при наявності гомозиготного варіанту 509СС гена (табл. 5). Разом з тим при наявності гетерозиготного варіанту 509СТ гена TGFB1 і гомозиготного 1277ТТ гена CFH протективний ефект щодо виникнення ВДМ зберігається, про що свідчить менша на 16,5% кількість пацієнтів з ВДМ з таким генотипом порівняно з контролем.

Таблиця 4. Розподіл генотипів за варіантами генів CFH та TGFB1 у групах порівняння залежно від форми ВДМ (n, %)

Ген, варіант		Група контролю (n=50)	ГА (n=31)	нВМД (n=30)	СНМ-I (n=14)	СНМ-II (n=16)
CFH T1277C	1277ТТ	23 (46,0%)	5 (16,1%) ¹	6 (20,0%) ²	4 (28,6%)	2 (12,5%) ³
	1277ТС	22 (44,0%)	13 (41,9%)	16 (53,3%)	8 (57,1%)	8 (50,0%)
	1277СС	5 (10,0%)	13 (41,9%) ⁴	8 (26,7%)	2 (14,3%)	6 (37,5%) ⁵
TGFB1 C509T	509СС	14 (28,0%)	16 (51,6%) ⁶	7 (23,3%)	2 (14,3%)	5 (31,3%)
	509СТ	30 (60,0%)	14 (45,2%)	18 (60,0%)	8 (57,1%)	10 (62,5%)
	509ТТ	6 (12,0%)	1 (3,2%)	5 (16,7%)	4 (28,6%)	1 (6,3%)

Порівняння пацієнтів з відповідною формою ВДМ зі здоровими особами групи контролю:
¹ – $\chi^2=6,29$, $p=0,0122$, OR=0,23 (0,07-0,68)
² – $\chi^2=4,77$, $p=0,029$, OR=5,40 (1,37-21,26)
³ – $\chi^2=4,44$, $p=0,035$, OR=0,17 (0,03-0,82)
⁴ – $\chi^2=9,52$, $p=0,002$, OR=6,50 (2,02-20,89)
⁵ – $\chi^2=4,77$, $p=0,029$, OR=5,40 (1,37-21,26)
⁶ – $\chi^2=4,58$, $p=0,032$, OR=2,74 (1,08-7,00).

Примітки: n – кількість хворих; χ^2 – коефіцієнт Пірсона; p – рівень значущості різниці між показниками; OR – відношення шансів.

Таблиця 5. Розподіл частоти сполучень генотипів за варіантами генів CFH та TGFB1 у пацієнтів з різними формами ВДМ (%)

Ген, варіант		Група контролю (n=50)	ВДМ (n=61)	Результати статистичного аналізу
CFH T1277C	TGFB1 C509T			
1277ТТ	509СС	14%	4,9%	$p>0,05$
	509СТ	28%	11,5%	$\chi^2=3,87$, $p=0,0491$, OR=0,33 (0,12-0,91)
	509ТТ	4%	1,6%	$p>0,05$
1277ТС	509СС	6%	21,3%	$\chi^2=4,05$, $p=0,0441$, OR=4,24 (1,14-15,86)
	509СТ	30%	21,3%	$p>0,05$
	509ТТ	8%	4,9%	$p>0,05$
1277СС	509СС	8%	11,5%	$p>0,05$
	509СТ	2%	19,7%	$\chi^2=6,68$, $p=0,0098$, OR=12,0 (1,50-95,87)
	509ТТ	0%	3,3%	$p>0,05$

Примітки: n – кількість хворих; χ^2 – коефіцієнт Пірсона; p – рівень значущості різниці між показниками; OR – відношення шансів.

Таблиця 6. Розподіл частоти сполучень генотипів за варіантами генів *CFH* та *TGFB1* у групах порівняння залежно від форми ВДМ (%)

Ген, варіант		Група контролю (n=50)	ГА (n=31)	нВМД (n=30)	СНМ-I (n=14)	СНМ-II (n=16)	Результати статистичного аналізу
CFH T1277C	TGFB1 C509T						
1277TT	509CC	14%	9,7%	0,0%	0%	0,0%	p>0,05
	509CT	28%	6,5% ¹	16,7%	21,4%	12,5%	¹ χ ² =4,33, p=0,0375, OR=0,18 (0,04-0,84)
	509TT	4%	0,0%	3,3%	7,10%	0,0%	p>0,05
1277TC	509CC	6%	25,8% ²	16,7%	14,3%	18,8%	² χ ² =4,28, p=0,0281, OR=5,45 (1,32-22,49)
	509CT	30%	16,1%	26,7%	21,4%	31,3%	p>0,05
	509TT	8%	0,0%	10,0%	21,4%	0,0%	p>0,05
1277CC	509CC	8%	16,1%	6,7%	0%	12,5%	p>0,05
	509CT	2%	22,6% ³	16,7% ⁴	14,3%	18,8%	³ χ ² =6,94, p=0,0084, OR=14,29 (1,66-122,87) ⁴ χ ² =3,89, p=0,0485, OR=9,80 (1,09-88,48)
	509TT	0%	3,2%	3,3%	0%	6,3%	p>0,05

Примітки: n – кількість хворих; χ² – коефіцієнт Пірсона; p – рівень значущості різниці між показниками; OR – відношення шансів.

При гомозиготному варіанті 509CC гена *TGFB1* в поєднанні з гетерозиготним варіантом 1277TC гена *CFH* збільшувався ризик виникнення ВДМ. Про це свідчило збільшення кількості пацієнтів з таким сполученням генотипів і з ВДМ на 15,3% порівняно з контрольною групою.

Привертає увагу і потребує подальших досліджень/окремого обговорення відсутність відмінностей кількості хворих з ВДМ і кількості здорових осіб в контрольній групі зі сполученням генотипів 509CC гена *TGFB1* і 1277CC гена *CFH*. Адже, як наведено вище, при цих варіантах генотипів зростає ризик виникнення різних форм ВДМ і можна було б очікувати сумачії їх негативних ефектів. Надалі з'ясували, що при комбінації генотипів 1277CC гена *CFH* і 509CC гена *TGFB1* зростає ризик виникнення ВДМ. Про це свідчило зростання в декілька разів кількості хворих з ВДМ з таким генотипом порівняно з контрольною групою (табл. 5).

Надалі дослідили дуальний ефект впливу варіантів генів *TGFB1* і *CFH* на ризик виникнення різних форм ВДМ. Значущі відмінності визначено лише для підгрупи пацієнтів із ГА (табл. 6). Протективний ефект суттєво не змінився за наявності комбінацій геноти-

пів 1277TT/509CT (OR=0,18) порівняно із впливом генотипу 1277TT (OR=0,23). Але при цьому ризик розвитку даної форми ВДМ при поєднаному впливі варіантів досліджуваних генів вищий. Так, за наявності поєднання 1277CC/509CT ризик розвитку збільшується (OR=14,5) порівняно з генетичним ризиком, пов'язаним тільки із генотипом 1277CC (OR=6,5). Гетерозиготний варіант гена *CFH* у поєднанні з *TGFB1* – 1277TC/509CC у нашому дослідженні також підвищував ризик розвитку ГА (OR=5,45) порівняно із моногенним генетичним ризиком, обумовленим генотипом 509CC (OR=2,74) за геном *TGFB1*.

Ще одним аспектом нашого дослідження було проведення моделювання взаємодії досліджуваних варіантів генів та таких факторів, як вік і стать при розвитку різних форм ВДМ. Із використанням методу мультифакторної просторової редукції було отримано різноманітні моделі взаємодії, але жодна з них не пройшла пермутаційний тест і тому вони не є статистично значущими. Також із використанням програми MDR було побудовано дендрограми міжфакторної (в тому числі і генетичної) взаємодії для різних форм ВДМ (рис.2).

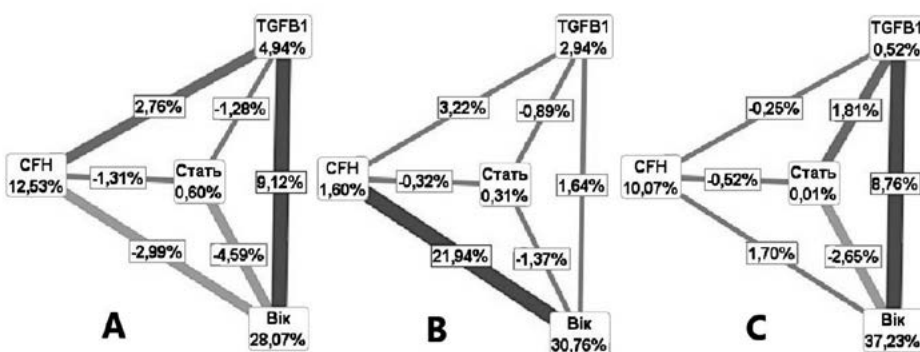


Рис. 2. Дендрограми міжфакторної взаємодії. Зеленими та коричневими кольорами зображено адитивну або незалежну взаємодію досліджуваних факторів, а червоним та оранжевим – позитивну (синергічну) взаємодію. А – при оцінці ризику розвитку ГА. В – при оцінці ризику розвитку СНМ-I. С – при оцінці ризику розвитку СНМ-II.

Аналізуючи графічне зображення, ми встановили, що найбільша частина ентропії при розвитку різних форм ВДМ пов'язана із віком. Найбільша частина ентропії генетичної складової припадає на варіант T1277C за геном CFH при розвитку ГА – 12,53%. А найсильніша синергічна міжгенна взаємодія досліджуваних варіантів генів TGFB1 – та CFH визначена при розвитку ГА – ентропія даної взаємодії становить 2,76%. Такий фактор ризику розвитку як стать має самі найменші показники ентропії при різних формах ВДМ.

Обговорення

На сьогоднішній день етіопатогенез ВДМ до кінця не вивчений. Офтальмологи розглядають ВДМ як мультифакторне захворювання, основними факторами ризику якого є вік, стать, куріння, надлишкова вага, дефіцит вітаміну D, тощо. Основною причиною безповоротної втрати зору при ВДМ є структурні порушення в фоторецепторах, що виникають під дією тривалих деформаційних змін на рівні пігментного епітелію сітківки та нейроепітелію [13]. Актуальною є розробка предикторів розвитку різних форм ВДМ на ранніх стадіях, що дозволить вчасно планувати її терапію. Виявлено, що пацієнти з різними фенотипічними проявами ВДМ відрізняються за середніми показниками субфовеолярної товщини хоріоїдеї за даними SS-OKT [14]. Перспективним на сьогодні є пошук молекулярно-генетичних предикторів даного захворювання. Основним методом лікування хронічної патології сітківки, що супроводжується розвитком хоріоїдальної неоваскуляризації є антиангіогенна терапія [15, 16, 17]. Пацієнти з нВДМ, що отримують антиангіогенні препарати показують різну відповідь на лікування, що також може бути генетично детерміновано. В багатьох дослідженнях наведено докази важливої ролі генетичної складової у розвитку даного захворювання [18, 19]. Але, при цьому, патогенетичні механізми розвитку ВДМ досліджуються на прикладі окремих генетичних варіантів, без урахування взаємодії між ними.

В даному дослідженні ми вирішили зосередити увагу на двох молекулярно-генетичних маркерах – варіантах C509T за геном TGFB1 та T1277C за геном CFH – оцінити їх внесок у ризик розвитку різних форм ВДМ у пацієнтів з України та проаналізувати їх міжгенну взаємодію при розвитку даного захворювання.

Глікопротеїн CFH (complementfactorH) є центральним регулятором системи комплементу – основного неклітинного компонента вродженої імунної системи, яка бере участь у мікробному захисті, процесингу імунного комплексу та запрограмованій смерті клітин. CFH синтезується в печінці та в сітківці ока. Він бере участь в опосередкованій імунній відповіді, зокрема інгібує імунну відповідь та пов'язане із нею запалення [20]. За нормальних умов CFH зв'язує С-реактивний білок, зменшуючи опосередковану ним вторинну альтерацію [21].

Ген CFH, що кодує однойменний глікопротеїн, локалізований на довгому плечі хромосоми 1 – 1q31.3.

Серед варіантів гена CFH найбільш значущим та поширеним є варіант T1277C (rs1061170, синонім Y402H), який утворюється внаслідок одонуклеотидної заміни тіаміну на цитозин, що призводить до амінокислотної заміни тирозину на гістидин в положенні 402. Наявність даного варіанту призводить до зниження або повного порушення захисної функції CFH, це викликає гіперактивацію комплементу, що, в свою чергу, призводить до пошкодження клітин, включаючи клітини сітківки ока [22]. Дослідницьким шляхом показано, що у носіїв 1277CC генотипу спостерігається значне зниження зв'язування CFH (а, відповідно, підвищення рівнів) із С-реактивним білком та епітопами малонового діальдегіду і його похідних, що присутні у сітківці ока [23, 24]. Також у пацієнтів із генотипом 1277CC визначено вищі рівні C5a, IL-18 і TNF- α в оболонці Бруха та судинній оболонці [25]. Результати мета-аналізів вказують на те, що сила асоціації між варіантом T1277C гена CFH і ВДМ відрізняється для різних форм ВДМ та різних етнічних груп [26].

В нашому дослідженні було визначено, що частота генотипу 1277CC значуще підвищена у пацієнтів загальної групи із ВДМ, та для пацієнтів із ГА та СНМ-II. Отже варіант T1277C за геном CFH асоційований із ризиком розвитку ВДМ для української популяції як і для білих європейців. Ці результати також важливі в тому плані, що дозволяють проектувати результати досліджень для європейського населення, де визначено вплив варіанту T1277C за геном CFH на ефективність застосування анти-VEGF терапії при ексудативній формі ВДМ. Так, показано що носії генотипу 1277CC мають гіршу відповідь на терапію бевацизумабом та ранібізумабом [22, 27]. Крім того, отримані результати відкривають поле для досліджень щодо лікування «сухої форми» ВДМ – а саме, підбір терапії для зниження гіперактивації системи комплементу.

Трансформуючий фактор росту- β (TGF- β) – це клас секреторних поліпептидних сигнальних молекул, які є не лише допоміжним фактором росту сполучної тканини, але й основним фактором, що впливає на регенерацію епітеліальних клітин і кровотворну систему. TGF- β модулює клітинну проліферацію, клітинну міграцію, синтез матриксу, кальцифікацію та імунну відповідь, а також бере участь у всіх основних етапах реконструкції тканин, відновлення та інших функцій [28]. TGF- β має три ізоформи – TGF- β 1, TGF- β 2 і TGF- β 3, серед яких TGF- β 1 (трансформаційний фактор росту бета 1) становить значну частку сімейства та є його найактивнішим членом [29].

Ген TGFB1, що кодує TGF- β 1, локалізований на хромосомі 19 – 19q13.2. Варіант C509T (rs1800469) промоторної ділянки гена TGFB1 є найбільш поширеним та добре вивченим. Зокрема, досліджено, що наявність варіанта C509T за геном TGFB1 пов'язана із майже подвійною різницею рівнів TGF- β 1 у плазмі крові (при 509T – рівень TGF- β 1 вищий) [29]. Показано асоціацію даного варіанту із ризиком розвитку таких

патології ока як міопія, глаукома [10, 11]. Даних щодо дослідження варіанта C509T за геном TGFB1 у пацієнтів із ВДМ ми не знайшли.

У нашому дослідженні було показано, що наявність генотипу 509CC за геном TGFB1 є ризиком розвитку ГА. І це логічно, адже розвиток ГА можна розглядати як короткий шлях до загибелі фоторецепторів, який проходить без стадії новоутворення судин. А генотип 509CC за геном TGFB1, як було згадано вище, асоційований із нижчими рівнями TGF- β 1. В той же час нами визначено значущу різницю у поширенні генотипу 509TT між пацієнтами із ГА та пацієнтами із МНВІ. Тобто, при наявності генотипу 509TT у пацієнтів, згідно наявних даних, вищі рівні TGF- β 1, які призводять до утворення мембрани, тобто до розвитку «волової форми» ВДМ.

Щодо аналізу даних про міжгенний та міжфакторний взаємодії. При оцінці ризику розвитку ГА нами було визначено взаємодію між варіантами генів CFH та TGFB1. Як видно із даних таблиць 4 та 5 – досліджувані варіанти генів підсилюють дію один одного при розвитку ГА. Цей результат було підтверджено при проведенні міжфакторного аналізу. Також при проведенні міжфакторного аналізу було визначено провідний вплив такого фактору як вік на розвиток різних форм ВДМ. Отримані результати повністю співпадають із наявними на сьогоднішній день даними щодо ризиків розвитку ВДМ [30]. В той же час нами не визначено суттєвий вплив такого фактору ризику як стать. Хоча попередні дані вказують на те, що стать як фактор ризику розвитку ВДМ у деяких популяціях має значення, зокрема, дослідники вказують на те, що жінки хворіють частіше чоловіків [30].

Висновки

1. Виявлено значущий вплив варіантів генів TGFB1 – C509T(rs1800469) та CFH – T1277C (rs1061170) на ризик розвитку ВДМ. Генотип 1277CC за геном CFH асоціюється із зростанням ризику розвитку ВДМ, при наявності генотипу 1277TT, навпаки, зменшується ризик розвитку ВДМ.

2. Встановлена різна залежність між поліморфізмом генів TGFB1 – C509T(rs1800469) та CFH – T1277C (rs1061170) і ризиком виникнення різних форм ВДМ. Так, варіант 1277CC гену CFH – є фактором ризику виникнення ГА. Варіант 509CC асоційований з підвищеним ризиком виникнення як ГА так і СНМ-II. Варіант 509TT гену CFH асоціюється зі зменшенням ризику розвитку ГА, нВДМ та СНМ-II.

3. Ризик розвитку ВДМ збільшувався при комбінованому впливі обох варіантів досліджуваних генів, а окремі комбінації варіацій асоціювалися зі зменшенням ризику виникнення ВДМ. Так, виявлена нейтралізація протективного ефекту варіанту 1277TT гену CFH при наявності гомозиготного варіанту 509CC гену TGFB1. Разом з тим, при наявності гетерозиготного варіанту 509CT гену TGFB1 і гомозиготного 1277TT гену CFH протективний ефект щодо виникнен-

ня ВДМ зберігається. Одночасна наявність алеля С генів TGFB1 та CFH виявляє синергічну взаємодію щодо підвищення ризику виникнення ГА.

Література

1. **Brandl C, Breinlich V, Stark KJ, et al.** Features of Age-Related Macular Degeneration in the General Adults and Their Dependency on Age, Sex, and Smoking: Results from the German KORA Study. *PLoS One*. 2016;11(11):e0167181.
2. **Li JQ, Welchowski T, Schmid M, et al.** Prevalence and incidence of age-related macular degeneration in Europe: a systematic review and meta-analysis. *Br J Ophthalmol*. 2020;104(8):1077-1084.
3. **Zhou M, Duan PC, Liang JH, et al.** Geographic distributions of age-related macular degeneration incidence: a systematic review and meta-analysis. *Br J Ophthalmol*. 2021;105(10):1427-1434.
4. **Shin HT, Yoon BW, Seo JH.** Comparison of risk allele frequencies of single nucleotide polymorphisms associated with age-related macular degeneration in different ethnic groups. *BMC Ophthalmol*. 2021;21: 97.
5. **Shughoury A, Sevgi DD, Ciulla TA.** Molecular Genetic Mechanisms in Age-Related Macular Degeneration. *Genes (Basel)*. 2022;13(7):1233. doi:10.3390/genes13071233
6. **Malachkova NV, Yatsenko DA, Ljudkevich GP, et al.** Polymorphism of TGF- β 1 (rs1800469) in children with different degrees of myopia. *OftalmolZh*. 2018;5(484):45-48.
7. **Klein RJ, Zeiss C, Chew EY, et al.** Complement factor H polymorphism in age-related macular degeneration. *Science*. 2005;308(5720):385-389. doi:10.1126/science.1109557
8. **Supanji S, Romdhoniyyah DF, Sasongko MB, et al.** Associations of ARMS2 and CFH Gene Polymorphisms with Neovascular Age-Related Macular Degeneration. *Clin Ophthalmol*. 2021;15:1101-1108.
9. **Kato Y, Oguchi Y, Omori T, et al.** Age-Related Maculopathy Susceptibility 2 and Complement Factor H Polymorphism and Intraocular Complement Activation in Neovascular Age-Related Macular Degeneration. *Ophthalmol Sci*. 2022;2(2):100167.
10. **Derakhshan A, TavakkolAfshari J, Sadeghi Allah Abadi J, et al.** The Association Between the Transforming Growth Factor Beta-1 -509C>T Gene Polymorphism and Primary Open Angle Glaucoma in North Eastern Iran. *Rep Biochem Mol Biol*. 2019;7(2):167-173.
11. **Meng B, Li SM, Yang Y, et al.** The association of TGFB1 genetic polymorphisms with high myopia: a systematic review and meta-analysis. *Int J Clin Exp Med*. 2015;8(11):20355-67
12. **Ezzeldin N, El-Lebedy D, Darwish A, et al.** Complement factor H polymorphism rs1061170 and the effect of cigarette smoking on the risk of lung cancer. *Contemp Oncol (Pozn)*. 2015;19(6):441-5.
13. **Peretiahina D, Shakun K, Ulianov V, Ulianova N.** The Role of Retinal Plasticity in the Formation of Irreversible Retinal Deformations in Age-Related Macular Degeneration. *Curr Eye Res* 2022;47(7):1043-1049.
14. **Ульянова Н.А., Перетягіна Д.О.** Морфометричні зміни судинної оболонки у хворих з віковою дегенерацією макули за даними Swept-Source-оптичної когерентної томографії. *Офтальмологіческий журнал*. 2019; 6: 63–69.
15. **Andrii, Korol, Iryna, Bezkorovayna, Maryna, Karlychuk, Nina, Lutsenko, Andrii, Sergienko, Nadiya, Ulyanova, Oleg, Parkhomenko, Diana, Chichur, Vasyi, Shevchyk** Treatment approaches to patients with neovascular

- age-related macular degeneration who need frequent intravitreal injections of aflibercept. *Oftalmol Zh* 2022;96(1):80-83.
16. **Korol A, Kustryn T, Zadorozhnyy O, Pasyechnikova N, Kozak I.** Comparison of efficacy of intravitreal ranibizumab and aflibercept in eyes with myopic choroidal neovascularization: 24-month follow-up. *J Ocul Pharmacol Ther* 2020;36(2):122-125.
 17. **Umanets N, Korol A, Vit V, Zavodnaya V, Pasyechnikova N.** Peculiarities of vitrectomy and morphologic changes in the paretinal membrane after intravitreal aflibercept in patients with severe proliferative diabetic retinopathy. *Retinal Cases Brief Rep* 2017;11(2):114-118.
 18. **Colijn JM, Meester-Smoor M, Verzijden T, et al.** Lifestyle, and Age-Related Macular Degeneration in Europe: The EYE-RISK Consortium. *Ophthalmology*. 2021;128(7):1039-1049.
 19. **Chakravarthy U, McKay GJ, de Jong PT, et al.** ARMS2 increases the risk of early and late age-related macular degeneration in the European Eye Study. *Ophthalmology*. 2013;120(2):342-8.
 20. **Tzoumas N, Hallam D, Harris CL, et al.** Revisiting the role of factor H in age-related macular degeneration: Insights from complement-mediated renal disease and rare genetic variants. *SurvOphthalmol*. 2021;66(2):378-401.
 21. **Molins B, Fuentes-Prior P, Adán A, et al.** Complement factor H binding of monomeric C-reactive protein downregulates proinflammatory activity and is impaired with at risk polymorphic CFH variants. *Sci Rep*. 2016;6:22889.
 22. **Kubicka-Trzaska A, Żuber-Laskawiec K, Dziedzina S, et al.** Genetic Variants of Complement Factor H Y402H (rs1061170), C2 R102G (rs2230199), and C3 E318D (rs9332739) and Response to Intravitreal Anti-VEGF Treatment in Patients with Exudative Age-Related Macular Degeneration. *Medicina (Kaunas)*. 2022;58(5):658.
 23. **Alic L, Papac-Milicevic N, Czamara D, et al.** A genome-wide association study identifies key modulators of complement factor H binding to malondialdehyde-epitopes. *Proc Natl AcadSci U S A*. 2020;117(18):9942-9951.
 24. **Laine M, Jarva H, Seitsonen S, et al.** Y402H polymorphism of complement factor H affects binding affinity to C-reactive protein. *J Immunol*. 2007;178(6):3831-6.
 25. **Cao S, Wang JC, Gao J, et al.** CFH Y402H polymorphism and the complement activation product C5a: effects on NF-κB activation and inflammasome gene regulation. *Br J Ophthalmol*. 2016;100(5):713-8.
 26. **Maugeri A, Barchitta M, Agodi A.** The association between complement factor H rs1061170 polymorphism and age-related macular degeneration: a comprehensive meta-analysis stratified by stage of disease and ethnicity. *ActaOphthalmol*. 2019;97(1):e8-e21.
 27. **Menghini M, Kloeckener-Gruissem B, Fleischhauer J, et al.** Impact of loading phase, initial response and CFH genotype on the long-term outcome of treatment for neovascular age-related macular degeneration. *PLoS One*. 2012;7(7):e42014.
 28. **Peng XQ, Cheng F, Zhou L.** Association Between Transforming Growth Factor-β1 Polymorphisms and Ischemic Stroke Susceptibility: A Meta-Analysis. *ClinApplThromb-Hemost*. 2023;29:10760296231166666.
 29. **Shah R, Hurley CK, Posch PE.** A molecular mechanism for the differential regulation of TGF-beta1 expression due to the common SNP -509C-T (c. -1347C > T). *Hum Genet*. 2006;120(4):461-9.
 30. **Rudnicka AR, Jarrar Z, Wormald R, et al.** Age and gender variations in age-related macular degeneration prevalence in populations of European ancestry: a meta-analysis. *Ophthalmology*. 2012;119(3):571-80.

Відомості про авторів та розкриття інформації

Автор листування: Ульянова Надія Анатоліївна – ulyanova@ukr.net

Внесок кожного автора в роботу. Усі автори приймали участь у зборі, аналізі результатів та схвалили остаточний варіант рукопису.

Відмови від відповідальності. Висловлені у поданій статті думки є власними, а не офіційними позиціями установи.

Джерела підтримкию Відсутні.

Конфлікт інтересів Автори засвідчують про відсутність конфліктів інтересів, які б могли вплинути на їх думку стосовно предмету чи матеріалів, описаних та обговорених в даному рукопису.

Надійшла 10.07.2023