



DOI: <https://doi.org/10.34883/PI.2022.12.1.020>
УДК 616.379-008.64:616.153.454



Рыков С.А. ✉, Коробов К.В., Могилевский С.Ю., Варивончик Д.В.
Национальный университет здравоохранения Украины имени П.Л. Шупика, Киев,
Украина

Прогнозирование развития начальной стадии непролиферативной диабетической ретинопатии при сахарном диабете 2-го типа

Вклад авторов: идея исследования – Рыков С.А.; дизайн исследования, сбор и обработка материалов – Коробов К.В.; формулирование окончательных положений – Могилевский С.Ю.; консультативная помощь в статистической обработке материала – Варивончик Д.В.

Конфликт интересов: не заявлен.

Подана: 29.11.2021
Принята: 14.02.2022
Контакты: eye-bolit@ukr.net

Резюме

Одним из ранних и наиболее распространенных микроваскулярных осложнений является микроангиопатия сетчатки, которая служит ключевым фактором в развитии диабетической ретинопатии (ДР) при сахарном диабете 2-го типа (СД2). Комплексные повреждения, провоспалительные и антиангиогенные свойства конечных продуктов гликирования (Advanced Glycated End Products – AGE) и эндотелиальный моноцитоактивирующий полипептид-II (EMAP-II) позволяют предположить их возможную роль в возникновении и прогрессировании сосудистых изменений при непролиферативной диабетической ретинопатии (НПДР) в условиях сахарного диабета 2-го типа. Цель исследования – разработать новые методы прогнозирования развития начальной стадии непролиферативной диабетической ретинопатии при сахарном диабете 2-го типа на основании определения содержания карбоксиметиллизина (AGE-CML), циркулирующего рецептора AGE (sRAGE) и EMAP-II.

Был обследован 91 пациент (182 глаза) с СД2. Всех пациентов распределили на группы: в первой НПДР не было на обоих глазах; во второй на одном глазу диабетических изменений не было, а на другом были отмечены единичные сосудистые аномалии (уровень баллов по шкале ETDRS составил 14, 15). В контрольную группу были включены 25 человек соответствующего возраста и пола. Повторно пациентов обследовали через 1 год. Содержание маркеров определяли иммуноферментным методом в плазме крови однократно в начале исследования. Для статистических исследований и регрессионного анализа использованы статпакеты MedStat и MedCalc v.15.1 (MedCalc Software bvba) и GLZ (Statistica 10 StatSoft, Inc. USA).

Содержание AGE-CML и EMAP-II при СД2 было существенно увеличено по сравнению с контролем и более выражено при наличии начальных сосудистых изменений сетчатки (в 1,3 и 1,4 раза больше, чем у пациентов без таких изменений, соответственно; $p < 0,02$). Содержание sRAGE при наличии диабетических изменений было в 2,2 раза ниже ($p < 0,001$). Содержание AGE-CML и EMAP-II было существенно больше (в 1,5 раза; $p < 0,001$) при наличии прогрессирования НПДР в течение 1 года, чем без него. Содержание sRAGE при наличии прогрессирования было в 1,6 раза ниже ($p < 0,001$).

Регрессионный анализ позволил получить модель прогноза прогрессирования развития НПДР в течение 1 года наблюдений с общей точностью 92,3%. Такая прогрессия прогнозируется возможной при значениях содержания в крови AGE-CML больше 617 нг/мл и продолжительностью заболевания СД2 более 4,1 года.

Вывод. Прогнозирование развития начальных стадий НПДР при СД2 определяется активностью образования AGE и продолжительностью заболевания СД2.

Ключевые слова: начальная непролиферативная диабетическая ретинопатия, сахарный диабет 2-го типа, прогрессирование, AGE-CML, sRAGE, EMAP-II

Rykov S. ✉, Korobov K., Mogilevsky S., Varyvonchuk D.
Shupyk National Healthcare University of Ukraine, Kyiv, Ukraine

Prediction of the Development of the Initial Stage of Non-Proliferative Diabetic Retinopathy in Type 2 Diabetes Mellitus

Authors' contribution: the idea of the study - Rykov S.; study design, collection and processing of materials – Korobov K.; formulation of final provisions – Mogilevsky S.; advisory assistance in the statistical processing of the material – Varyvonchuk D.

Conflict of interest: nothing to declare.

Submitted: 29.11.2021

Accepted: 14.02.2022

Contacts: eye-bolit@ukr.net

Abstract

One of the earliest and most common microvascular complications is retinal microangiopathy, which is a key factor in the development of diabetic retinopathy (DR) in type 2 diabetes mellitus (T2DM). Complex lesions, pro-inflammatory and anti-angiogenic properties of advanced glycation end products (AGE) and endothelial monocytoactivating polypeptide-II (EMAP-II) suggest their possible role in the onset and progression of vascular changes in nonproliferative diabetic retinopathy (NPDR) in conditions of type 2 diabetes mellitus. The aim of the study was to develop new methods for predicting the development of the initial stage of nonproliferative diabetic retinopathy in type 2 diabetes mellitus based on the determination of the content of carboxymethyl lysine (AGE-CML), circulating AGE receptor (sRAGE) and EMAP-II.

We examined 91 patients (182 eyes) with T2DM, who were divided into groups: in the first, there was no NAPD in both eyes; in the second, there were no diabetic changes in one eye, and isolated vascular anomalies were noted in the other (the level of points on the ETDRS scale was 14, 15). The control group included 25 people of the corresponding age and gender. The patients were re-examined after 1 year. The content of markers was determined by the enzyme immunoassay in blood plasma once at the beginning of the study. Statistical packages MedStat and MedCalc v.15.1 (MedCalc Software bvba) and GLZ (Statistica 10 StatSoft, Inc. USA) were used for statistical studies and regression analysis.

The content of AGE-CML and EMAP-II in T2DM was significantly increased compared to the control and was more pronounced in the presence of initial vascular changes in the retina (1.3 and 1.4 times more than in patients without such changes, respectively; $p < 0,02$).



The sRAGE content in the presence of diabetic changes was 2.2 times lower ($p < 0.001$). The content of AGE-CML and EMAP-II was significantly higher (1.5 times; $p < 0.001$) in the presence of progression of NPDR within 1 year than without it. The sRAGE content in the presence of progression was 1.6 times ($p < 0.001$) lower. The regression analysis made it possible to obtain a model for predicting the progression of the development of NPDD during 1 year of observation with an overall accuracy of 92.3%. Such a progression is predicted to be possible when blood levels of AGE-CML are more than 617 ng/ml and the duration of T2DM disease is more than 4.1 years.

Conclusions. Predicting the development of the initial stages of NPDR in T2DM is determined by the activity of AGE formation and the duration of the T2DM disease.

Keywords: initial nonproliferative diabetic retinopathy, type 2 diabetes mellitus, progression, AGE-CML, sRAGE, EMAP-II

■ ВВЕДЕНИЕ

Сегодня сахарный диабет (СД) является самой большой неинфекционной эпидемией XX–XXI вв. [1]. Согласно Глобальному докладу экспертов ВОЗ, в 2018 г. 422 млн человек болели диабетом; по данным Международной федерации диабета (IDF), прогнозируемая заболеваемость в 2045 г. составит 629 млн человек [2]. В Украине в 2017 г. было зарегистрировано 1 270 000 пациентов с СД, а в 2019 г. – уже 1 500 000 [3]. Риск развития слепоты у пациентов с СД в 2,4 раза больше, чем у людей без диабета [4]. Есть данные, что почти 94 млн человек имеют поражения глаз, вызванные диабетом [5].

Сахарный диабет – группа метаболических заболеваний, характеризующихся хронической гипергликемией [6, 7]. Процентная доля СД 2-го типа (СД2) достигает 90% [5]. СД2 рассматривается как нарушение углеводного обмена, основой которого является инсулинорезистентность и относительная недостаточность инсулина или нарушения его секреции на фоне хронической гипергликемии [2, 8]. Последняя приводит к развитию микро- и макроваскулярных осложнений [4, 9].

Одним из ранних и наиболее распространенных микроваскулярных осложнений является микроангиопатия сетчатки, которая является ключевым фактором в развитии диабетической ретинопатии (ДР) [10, 11]. Уровень ДР определяют по цветным фотографиям глазного дна в системе клинических признаков Airlie House согласно модифицированной шкале баллов ETDRS [12]. Оценка клинических признаков при непролиферативной диабетической ретинопатии (НПДР) включает следующие унифицированные клинические проявления: микроаневризмы (МА) и микрогеморрагии (МГ), интравитреальные микрососудистые аномалии (ИРМА), ретинальные венозные аномалии и неперфузии сетчатки. Характер и скорость развития ДР зависят от активности механизмов глюкозотоксичности, основными последствиями которой являются неферментативное гликирование белков с образованием совершенных конечных продуктов гликирования (Advanced Glycated End Products – AGE) [13] и эндотелиальная дисфункция [14].

Наиболее распространенным среди AGE является карбоксиметиллизин (AGE-CML), уровень которого в крови служит специфическим маркером их накопления [15]. В клетках AGE инициируются сигнальные каскады, которые увеличивают экспрессию

NF- κ B, VEGF с активацией межклеточных молекул адгезии, цитокинов, MAP-киназы. Модифицированные белки повреждают эндотелий сосудов, способствуют апоптозу перицитов сетчатки, являются первоочередными факторами риска развития НПДР [16]. Рецептор AGE (RAGE) – полилигандный трансмембранный белок, который экспрессируется на микроглии, перицитах, клетках Мюллера, клетках пигментного эпителия, что становится основой развития хронического воспалительного процесса в сетчатке [17]. Циркулирующая растворимая форма RAGE (sRAGE) конкурирует с мембранным RAGE и предотвращает образование комплекса AGE/RAGE [18].

Маркером эндотелиальной дисфункции считают эндотелиальный моноцитактивирующий полипептид II (EMAP-II), который представляет собой провоспалительные цитокины и хемоаттрактанты для моноцитов и гранулоцитов с мощными антиангиогенными свойствами [19, 20]. EMAP-II способен тормозить первичный и метастатический рост опухолей благодаря мощному действию на эндотелиальные клетки (путем активации их апоптоза), снижает экспрессию основного индуктора ангиогенеза – фактора роста эндотелия сосудов (VEGF), тормозит эффекты фактора индукции гипоксии (HIF-1 α) и усиливает действие фактора некроза опухолей (TNF α) [21–23]. Чрезвычайно важна роль EMAP-II для начала и поддержания воспалительного ответа – он локально экспрессируется вблизи участков повреждения, маркируя его как сигнал «найди меня» для рекрутирования макрофагов и нейтрофилов [19].

Таким образом, комплексные повреждения, провоспалительные и антиангиогенные свойства маркеров гликирования и EMAP-II позволяют предположить их возможную роль в возникновении и прогрессировании самых начальных сосудистых диабетических изменений при НПДР.

■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Разработать новые методы прогнозирования развития начальной стадии непролиферативной диабетической ретинопатии при сахарном диабете 2-го типа на основании определения содержания карбоксиметиллизина (AGE-CML), циркулирующего рецептора AGE (sRAGE) и EMAP-II.

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование было проспективным, групповым, по типу «случай – контроль».

Исследования были проведены с соблюдением положений Конвенции Совета Европы о правах человека и биомедицине, Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации об этических принципах проведения научных медицинских исследований с участием человека (1964, с последующими дополнениями, включая версию 2000). Все пациенты дали информированное согласие на участие в исследовании.

В исследование были включены данные 91 пациента (182 глаза) с СД2 в возрасте от 42 до 80 лет. В контрольную группу были включены 25 человек. У пациентов контрольной группы не было СД и они проходили плановое офтальмологическое обследование.

Пациентам на момент первичного обследования и через 1 год выполняли визометрию, рефрактометрию, тонометрию, статическую периметрию, гониоскопию, биомикроскопию, офтальмоскопию. Офтальмоскопию выполняли с помощью асферической линзы Volk Super/Field (NC USA) и контактной трехзеркальной линзы Гольдмана. Спектрально-доменную оптическую когерентную томографию



(ОКТ) выполняли на приборе Optical Coherence Tomography 3D OCT-1000 (протокол Retina3D, RetinaRaster), также использовали ОКТ в режиме «Ангио» (протокол RetinaAngio, wide 6×6 mm). Исследование глазного дна проводили на фундус-камере с фотографированием в 7 стандартных полях в соответствии с модифицированной ETDRS системой клинических признаков Airlie House [12].

Согласно классификации Американской академии офтальмологии (2002) у всех пациентов на момент первого обследования ДР выявлено не было (стадия I – по retinopathy). У большинства пациентов (72,5%) уровень ДР по итоговой шкале баллов ETDRS составил 10 на обоих глазах. У остальных пациентов (27,5%) на одном глазу уровень баллов ETDRS был 10, а на другом были отмечены единичные изменения калибра сосудов, расширение и извитость вен, ИРМА или МГ, что соответствовало уровню баллов шкалы ETDRS 14, 15. В соответствии с этим пациенты были разделены на две группы: первая, у которых в начале исследования ДР не было на обоих глазах; вторая, у которых на одном глазу ДР не было, а на другом были отмечены единичные сосудистые изменения.

В крови пациентов при первичном обследовании определяли содержание глюкозы натощак (глюкозооксидантным методом) и гликированного гемоглобина (HbA1c, методом хроматографии с использованием автоматического анализатора D10TM (Bio-Rad Laboratories, Inc., USA). Содержание маркеров гликирования и EMAP-II определяли иммуноферментным методом с применением наборов реактивов R&D System (США) и BioSource (США) соответственно в плазме крови. Забор крови осуществляли из локтевой вены натощак в количестве 3 мл однократно в момент первичного обследования.

Для статистических исследований использованы программные пакеты MedStat и MedCalc v.15.1 (MedCalc Software bvba). Рассчитывали среднее (M) и ее стандартное отклонение (SD). Для качественных характеристик использовали частоту (%) и ее стандартную ошибку (SE, %). Во всех случаях различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Для построения модели прогнозирования прогрессирования НПДР использовали данные пациентов 1-й и 2-й групп (всего 91 пациент), которые были сгруппированы по признаку наличия (56 пациентов) или отсутствия (35 пациентов) прогрессирования заболевания через 1 год наблюдения. Под прогрессией ДР мы понимали изменения на глазном дне в сторону ухудшения с развитием диабетических сосудистых изменений там, где их не было, или появление начальной (уровень баллов по шкале ETDRS 20) или умеренной (уровень баллов по шкале ETDRS 35, 43, 47) НПДР. Признаки прогрессирования использовали в качестве результирующей переменной регрессии – при ее наличии переменной присваивали индикаторное значение 1, а при отсутствии – 0. Последнее значение принимали в качестве опорного. В качестве независимых переменных привлекали следующие показатели: «продолжительность диабета», годы; «содержание в крови глюкозы», ммоль/л; «содержание в крови HbA1c», %; «содержание в крови AGE-CML», нг/мл; «содержание в крови sRAGE», нг/мл; «содержание в крови EMAP-1», нг/мл.

Модель прогнозирования строили с использованием технологии многофакторной логистической регрессии с пошаговым исключением независимых переменных в программном пакете GLZ (Statistica 10 StatSoft, Inc. США). Отбор предикторов осуществляли по методу максимального правдоподобия. При этом оценку их

эффективности проводили на основе статистики Вальда (Wald) и интервальным методом с расчетом вероятности, отличий от нулевой гипотезы. Общую адекватность модели доказывали с использованием диаграммы операционной характеристики (ROC), по которой рассчитывали площадь под ROC-кривой – AUC, ее ошибку и 95% доверительный интервал (95% ДИ). Кроме того, рассчитывали коэффициент максимального правдоподобия для полной модели ($-2 \cdot \log$), критерий хи-квадрат (χ^2), коэффициент псевдодетерминации Нейджелкерка (R2).

При определении критических значений показателей, для которых было установлено вероятное влияние на прогрессирование НПДР, был проведен регрессионный анализ, основанный на построении серии логистических однофакторных уравнений. Анализ проведен с использованием программного пакета GLZ (Statistica 10 StatSoft, Inc. USA). Операционные характеристики регрессионных моделей (ROC-диаграмм) определяли при помощи интерактивных средств MedCalc 18.9.1 (MedCalc Software, Belgium). Нахождение критического значения переменной проводили с помощью диаграмм зависимости чувствительности и специфичности регрессионной модели от значения соответствующего предиктора. Критическим считали такое его значение, при котором был возможным максимально безошибочный прогноз прогрессирования НПДР (максимальная чувствительность при максимально возможной специфичности).

■ РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Среди обследованных пациентов в первую группу были отнесены 66 человек (72,5%), а во вторую – 25 (27,5%). По возрасту и полу разницы между контролем и группами пациентов выявлено не было. Клинико-лабораторные показатели по группам пациентов представлены в табл. 1. Продолжительность СД2 была больше у пациентов 2-й группы: в среднем они болели на три года больше, чем те, у которых диабетических изменений на глазном дне не было ($p < 0,001$). Анализ состояния углеводного обмена показал худшие показатели у пациентов 2-й группы: у них был более высокий уровень гликемии и гликированного гемоглобина. Таким образом, нами отмечено, что начальные проявления диабетического поражения сетчатки проявлялись через $7,16 \pm 1,11$ года после заболевания СД2 и сопровождалась худшими показателями углеводного обмена.

Содержание AGE-CML при СД2 было увеличено по сравнению с контролем: в 1,9 раза у пациентов без изменений сетчатки и в 2,4 раза у пациентов с начальными проявлениями диабетических поражений сетчатки ($p < 0,001$). Разница между последними также была достоверной: во 2-й группе содержание AGE-CML было выше, чем в 1-й, в 1,3 раза ($p = 0,015$).

Содержание sRAGE при СД2 было значительно уменьшено, что также связано с наличием диабетических изменений сетчатки. У пациентов 1 группы он был меньше, чем в контрольной, в 2,6 раза, а во 2-й группе – в 5,7 раза ($p < 0,001$). Разница между группами была статистически значимой: во 2-й группе содержание sRAGE было в 2,2 раза ниже, чем в 1-й ($p < 0,001$).

Содержание ЕМАР-II у пациентов с СД2 было многократно увеличенным по сравнению с контролем: у пациентов без изменений сетчатки в 3,7 раза, а у пациентов с начальными проявлениями ДР – в 5,2 раза ($p < 0,001$). Разница между группами пациентов была статистически значимой: во 2-й группе оно было в 1,4 раза больше, чем



Таблица 1
Клинико-лабораторные показатели в группах пациентов
Table 1
Clinical and laboratory parameters in patient groups

Показатели		Контроль, n=25	1-я группа, n=66	2-я группа, n=25	Сравнение между группами
Возраст, годы		65,12±9,02	68,41±7,78	66,76±7,39	F=1,6; p=0,201
Пол	М	40,0±9,8%	30,3±5,7%	32,0±9,3%	$\chi^2=0,78$; p=0,676
	Ж	60,0±9,8%	69,7±5,7%	68,0±9,3%	
Длительность заболевания, годы		–	4,20±2,23	7,16±1,11	t=6,35; p<0,001
Глюкоза, ммоль/л		4,732±0,411	7,868±2,154	9,340±1,858	F=41,5; p<0,001
HbA1c, %		5,128±0,605	7,871±1,669	8,964±2,124	F=38,6; p<0,001
AGE-CML, нг/мл		363,9±74,00	685,0±267,4	875,7±263,2	F=29,8; p<0,001
sRAGE, нг/мл		1,322±0,298	0,513±0,188	0,233±0,128	F=196,7; p<0,001
EMAP-II, нг/мл		1,089±0,463	4,066±1,353	5,654±1,671	F=81,0; p<0,001

Примечания: формат отображения данных: количественных – M±SD; номинальных – %±SE; F – критерий Фишера для дисперсионного анализа (ANOVA); χ^2 – критерий Пирсона для сравнения частот распределения данных; t – критерий Стьюдента для независимых выборок; p – достоверность различий (принимается при p<0,05).

в 1-й (p<0,001). Такой результат подтверждал связь прироста содержания ЕМАР-II с диабетическими проявлениями повреждения сетчатки.

На втором этапе исследования нами было проанализировано наличие связи прогрессирования диабетических изменений сетчатки в течение 1 года наблюдения с содержанием исследуемых маркеров. Пациентов с прогрессией изменений сетчатки было 56 (61,5%). В 1-й группе пациентов прогрессия была отмечена в 50,0% случаев, во 2-й – в 92,0% (p<0,001), что указывало на существенную склонность к прогрессированию при наличии предварительного повреждения сетчатки. Прогрессирование диабетических изменений сетчатки через 1 год наблюдения приведено в табл. 2.

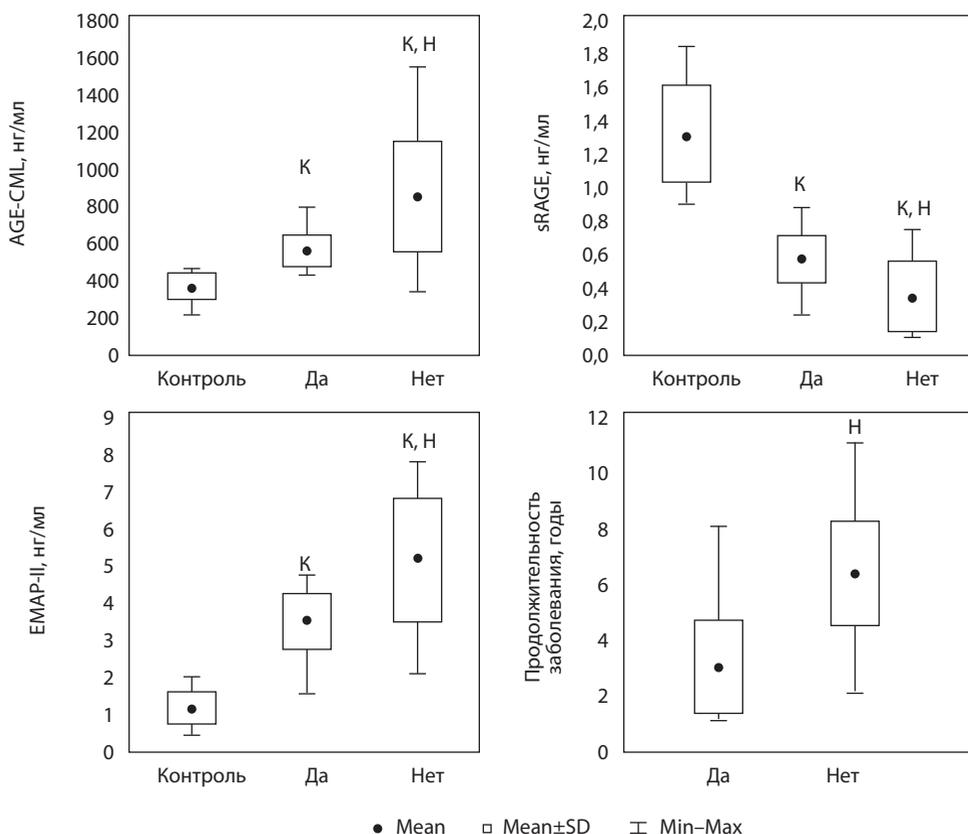
Согласно полученным результатам, была выяснена связь начального содержания в крови продуктов гликирования и ЕМАР-II с прогрессированием ДР (см. рисунок).

Нами было установлено, что содержание AGE-CML было существенно больше (в 1,5 раза; p<0,001) при наличии прогрессии диабетических изменений сетчатки, чем без них. Содержание sRAGE при наличии прогрессии было в 1,6 раза ниже (p<0,001), чем без нее. Также содержание ЕМАР-II было в 1,5 раза больше (p<0,001) при наличии прогрессии диабетических изменений сетчатки, чем без них. Установлено, что прогрессирование ДР зависело от продолжительности СД2: у

Таблица 2
Прогрессирование диабетических изменений сетчатки через 1 год наблюдений
Table 2
Progression of diabetic changes in the retina after 1 year of follow-up

Прогрессия ДР	Группы пациентов		Сравнение между группами
	1-я	2-я	
Есть (n=56)	50,00±6,15%	92,00±5,43%	$\chi^2=13,52$; p<0,001
Нет (n=35)	50,00±6,15%	8,00±5,43%	

Примечания: формат отображения данных: %±SE; χ^2 – критерий Пирсона для сравнения частот распределения данных; p – достоверность различий (принимается при p<0,05).



Содержание маркеров гликирования, EMAP-II в крови пациентов, продолжительность заболевания контрольной группы (контроль) и у пациентов с отсутствием («Нет») и наличием («Да») прогрессирования ДР. Достоверные различия отмечены над столбиками диаграмм: К – контрольной группой; Н – с пациентами без прогрессии (во всех случаях $p < 0,001$)
Contents of glycation markers, EMAP-II in blood of patients, duration of disease in control group (control) and in patients with absence («No») and presence («Yes») of DR progression. Significant differences were seen above the chart bars: K – with control group; H – with patients without progression (all cases $p < 0,001$)

пациентов с прогрессированием ДР стаж заболевания СД2 был $6,27 \pm 1,85$ года против $3,0 \pm 1,64$ года у пациентов без прогрессии (в среднем на 3,3 года; $p < 0,001$).

Таким образом, наличие самых начальных диабетических изменений сетчатой оболочки и их прогрессия в течение 1 года были связаны с содержанием в крови маркеров гликирования и EMAP-II. Такой результат указывает на необходимость доказательства влияния сывороточных маркеров на прогрессирование глазных изменений, что было выполнено путем логистического регрессионного анализа.

Коэффициенты предикторов многофакторной регрессионной модели прогноза вероятности прогрессирования НПДР и их статистическая значимость представлены в табл. 3.

Далее по признаку достоверности отличий от нулевой гипотезы (p) нами были отобраны следующие переменные, которые могли быть использованы в качестве



Таблица 3

Коэффициенты предикторов многофакторной регрессионной модели прогноза вероятности прогрессирования НПДР и их статистическая значимость
Table 3

Predictor coefficients of multivariate regression model predicting the probability of progression of non-proliferative diabetic retinopathy and their statistical significance

Показатель	$\beta \pm SE$	Wald	95% BI	p
Продолжительность СД2	0,857 \pm 0,225	14,87	0,426–1,307	<0,001
Содержание в крови глюкозы	0,160 \pm 0,190	0,70	–0,214–0,534	0,401
Содержание в крови HbA1C	0,372 \pm 0,412	0,82	–0,436–1,181	0,366
Содержание в крови AGE-CML	0,010 \pm 0,003	3,93	0,001–0,012	0,047
Содержание в крови sRAGE	0,437 \pm 2,354	0,03	–4,177–5,051	0,852
Содержание в крови EMAP-1	0,727 \pm 0,385	3,56	–0,028–1,483	0,059
Постоянная переменная	–11,431 \pm 4,822	9,11	–(24,006–5,105)	0,002

Примечания: $\beta \pm SE$ – коэффициенты регрессионного уравнения и их стандартная ошибка; Wald – статистика Вальда; 95% BI – 95% доверительный интервал для коэффициентов регрессии; p – вероятность отличий от нулевой гипотезы (принимается при $p < 0,05$).

предикторов прогностической модели: «продолжительность диабета» и «содержание в крови AGE-CML», имевшие прямую связь с зависимой переменной. В качестве математического выражения модели прогноза вероятности прогрессии НПДР может быть использована следующая формула:

$$P_{\text{НПДР}} = 1 / (1 + e^{-(-11,431 + 0,857 * ДЗ + 0,010 * AGE)}),$$

где $P_{\text{НПДР}}$ – вероятность прогрессирования НПДР;

ДЗ – длительность заболевания, годы;

AGE – содержание в крови AGE-CML, нг/мл.

Значимость связи между предикторами и зависимой переменной описывали следующие параметры ROC-анализа: AUC=0,971 \pm 0,013 (95% BI 0,922–0,993). Эти показатели статистически значимо отличались от значения AUC=0,500, которое принято для нулевой гипотезы ($p < 0,001$). Об удовлетворительном соответствии рассчитанных данных фактическим свидетельствовали показатели общего соответствия модели: $-2 * \log = 47,75$; $\chi^2 = 112,92$ ($p < 0,001$); $R^2 = 0,830$.

Классификационные характеристики регрессионной модели прогнозирования НПДР (пороговое значение вероятности: cut off = 0,5) приведены в табл. 4.

Таким образом, проведенный анализ показал, что при использовании разработанной модели может быть достигнуто безошибочное прогнозирование прогрессии НПДР при общей достоверности прогноза 92,3%.

Для установления предельных значений значимых предикторов был проведен однофакторный логистический анализ. В табл. 5 представлены коэффициенты предикторов однофакторных регрессионных моделей прогноза вероятности прогрессирования НПДР и их статистическая значимость.

Анализ данных свидетельствовал о достоверном различии β -коэффициентов привлеченных предикторов от нулевой гипотезы ($p < 0,001$ в обоих случаях). Их знаки указывали на прямую зависимость итоговой переменной регрессионных уравнений от содержания в крови AGE-CML и продолжительности заболевания.

Полученные результаты ROC-анализа свидетельствовали об удовлетворительных операционных характеристиках регрессионных уравнений и подтвердили

Таблица 4

Классификационные характеристики регрессионной модели прогнозирования НПДР (пороговое значение вероятности: cut off = 0,5)

Table 4

Classification characteristics of the regression model for predicting non-proliferative diabetic retinopathy (cutoff probability: cut off = 0.5)

Прогрессия НПДР по факту	Прогрессия НПДР по прогнозу		Процент правильных данных
	Нет	Есть	
Есть (n=35)	32	3	91,43%
Нет (n=56)	4	52	92,86%
Общая правильность прогноза:			92,31%
Отношение шансов:			182,0

значимость связи между предикторами и вероятностью прогрессирования НПДР: для модели влияния продолжительности заболевания на прогрессирование она была несколько больше ($AUC=0,893\pm 0,035$; 95% ВИ 0,810–0,948; $p<0,001$), чем для AGE-CML ($AUC=0,825\pm 0,044$; 95% ВИ 0,731–0,897; $p<0,001$).

Анализ чувствительности и специфичности разработанных регрессионных моделей прогрессирования НПДР позволил нам установить предельные значения содержания AGE-CML в крови и длительности СД2, при которых достигнута максимально возможная точность прогноза. Такое значение для AGE-CML составило 617 нг/мл, для продолжительности СД2 – 4,1 года.

Итак, прогрессирование НПДР в течение 1 года наблюдения возможно при значениях содержания в крови AGE-CML больше 617 нг/мл и продолжительности заболевания более 4,1 года (правильность прогноза 92,3%).

Эффект AGE белков проявляется в их ковалентном сшивании с биохимическими модификациями, приводящим к нарушению структуры и функции клетки. Процесс патологического гликирования белков и активации пути AGE-RAGE является одним из самых первых патологических факторов повреждения клеток при хронической гипергликемии [24, 25]. Согласно результатам нашего исследования, содержание AGE при СД2 было существенно увеличенным, причем как у пациентов без диабетических изменений сетчатки, так и при их наличии. При этом содержание AGE у

Таблица 5

Коэффициенты предикторов однофакторных регрессионных моделей прогноза вероятности прогрессирования НПДР и их статистическая значимость

Table 5

Predictor coefficients of univariate regression models for predicting the probability of progression of non-proliferative diabetic retinopathy and their statistical significance

Показатели	$\beta\pm SE$	Wald	95% BI	p
«AGE-CML»				
Постоянная переменная	-4,739±1,213	15,26	-(7,116–2,361)	<0,001
AGE-CML	0,008±0,002	16,76	0,004–0,012	<0,001
«Длительность заболевания»				
Постоянная переменная	-3,492±0,765	20,82	-(4,992–1,992)	<0,001
Длительность заболевания	0,870±0,168	26,96	0,542–1,199	<0,001

Примечания: $\beta\pm SE$ – коэффициенты регрессионного уравнения и их стандартная ошибка; Wald – статистика Вальда; 95% BI – 95% доверительный интервал для коэффициентов регрессии; p – вероятность отличий от нулевой гипотезы (принимается при $p<0,05$).



пациентов 2-й группы с наличием первичных диабетических изменений сетчатки на одном глазу, стаж болезни которых был $7,16 \pm 1,11$ года, являлся в 1,3 раза выше, чем в 1-й группе пациентов с отсутствием изменений на обоих глазах.

Из этого сравнения следует, что активность гликирования увеличивается до того, как начинается диабетическое повреждение сетчатки, возможно, сразу после начала заболевания, но его влияние на развитие самых начальных проявлений ДР начинается в среднем через 4 года после заболевания, а через 7 лет охватывает 27,5% пациентов. Через 1 год наблюдения изменения сетчатки наблюдались у 50,0% пациентов без диабетических изменений в начале исследования.

Еще одной из причин активации пути AGE-RAGE является уменьшение пула циркулирующих рецепторов sRAGE. Большая их часть генерируется протеолизом связанных с мембраной RAGE [18]. sRAGE функционируют как рецепторы-приманки и предотвращают мембранное связывание AGE. В наших исследованиях было установлено уменьшение содержания циркулирующего пула рецепторов, что также было связано со степенью прогрессирования НПДР.

Активация пути AGE-RAGE тесно связана с другими факторами патогенеза ДР. Важное место в поддержке хронического воспаления имеет ядерный фактор NF- κ B, активатором которого является RAGE. В условиях повышенного количества последних эффект NF- κ B имеет положительную обратную связь, что и обуславливает хронический характер воспаления [26]. И так, уже начавшись, патологический процесс приобретает характер самоподдерживающегося и прогрессирующего по типу порочного круга. Усиление пути AGE-RAGE снимает запрещающий сигнал на пролиферацию эндотелиальных клеток, активирует образование VEGF и облегчает ангиогенез, приводит к гибели перицитов, что и является решающим фактором в развитии сосудистых аномалий при НПДР [27]. Накопление AGE-RAGE в перицитах индуцирует активацию фактора некроза опухоли- α (TNF- α), что приводит к перемещению NF- κ B в ядро и создает условия для активации проапоптических белков [28]. Вследствие ядерной активации NF- κ B стабильная α -субъединица модулирует транскрипцию генов непосредственно в ядре клетки, следствием чего является апоптоз перицитов [29].

Поскольку и содержание AGE-CML (в 1,5 раза), и прогрессирование НПДР (в 92,0% случаев) были существенно выше при наличии диабетических изменений в начале исследования, можно предположить, что активность образования продуктов гликирования влияла не только на возникновение, но и на прогрессирование НПДР. Иными словами, патологический процесс после некоторой задержки (латентный период) в первые годы заболевания СД2, после появления первых сосудистых нарушений в сетчатке шел лавинообразно. Стартовые значения этого скачка предоставил регрессионный анализ – именно после увеличения содержания в крови AGE-CML больше 617 нг/мл и продолжительности заболевания СД2 более 4,1 года развитие НПДР было вероятным с точностью прогноза 92,3%.

Также были установлены существенное увеличение содержания ЕМАР-II в крови пациентов с СД2 и зависимость начальных диабетических изменений сетчатки и степени их прогрессии через 1 год от прироста содержания ЕМАР-II. Эти результаты позволили предположить важную роль этого цитокина для развития НПДР. При этом степень увеличения его содержания в крови является фактором, предшествующим развитию самых начальных проявлений ДР. Вследствие утолщения и разрыхления белков межклеточного матрикса соединительной ткани и базальной мембраны

капилляров, хронического воспаления происходит их гиалинизация, что приводит к потере перицитов, деструкции эндотелиальных клеток, атрофии капилляров. Эти патологические процессы объединены в понятие диабетической вазорегрессии, которая и определяет формирование НПДР уже с первых лет заболевания [30].

Прогрессирование начальных патологических изменений в сетчатке приводит к секторальной окклюзии сосудов и формированию ишемических очагов в виде мягких экссудатов, ИРМА, МА и других проявлений, характерных для НПДР [12]. На данном этапе патологического процесса вероятно развитие спонтанных МГ, источником которых являются поврежденные сосуды микроциркуляторного русла.

В связи с вышеизложенным можно предположить, что одной из причин вазорегрессии является активация образования ЕМАР-II, которая на первых этапах является компенсаторной реакцией тканей сетчатки на гипоксию и хроническое воспаление, вызванное накоплением AGE [24]. Впоследствии уже и накопление ЕМАР-II может превращаться в фактор повреждения. Это наше предположение нашло свое подтверждение в результатах данного исследования – изменения содержания AGE-CML и ЕМАР-II синхронно отвечали наличию и прогрессированию НПДР.

Обсуждая пути патогенного действия избыточного накопления AGE и ЕМАР-II, в первую очередь можно отметить повреждения эндотелия. Установлено, что в условиях гипоксии эти факторы синергично повышают чувствительность эндотелиальных клеток к апоптозу [29]. Это объясняет тесную связь эндотелиальной дисфункции и хронического воспаления в патогенезе НПДР.

В нашем исследовании фактором, показывающим влияние на прогрессирование НПДР, было увеличение содержания в крови AGE. Эти соединения ухудшают микроциркуляцию, состояние эндотелия и перицитов, обуславливают развитие начальных стадий НПДР и установленную динамику нарастания диабетических сосудистых изменений сетчатки.

■ ВЫВОДЫ

1. Установлено, что содержание в крови AGE-CML и ЕМАР-II при СД2 было существенно увеличено по сравнению с контролем, что более выражено при начальных изменениях сетчатки (соответственно в 1,3 и 1,4 раза больше, чем у пациентов без таких изменений; $p < 0,02$). Содержание sRAGE было многократно уменьшено, что также было связано с наличием диабетических изменений сетчатки (при их наличии оно было в 2,2 раза ниже; $p < 0,001$).
2. Прогрессия диабетических изменений сетчатки в течение 1 года наблюдений была связана с начальным содержанием маркеров гликирования. Содержание в крови AGE-CML было существенно больше (в 1,5 раза; $p < 0,001$) при наличии прогрессии ДР, чем без нее. Содержание в крови sRAGE при наличии прогрессии было в 1,6 раза ниже ($p < 0,001$), чем без нее. Содержание в крови ЕМАР-II в начале исследования также было связано с прогрессированием диабетических изменений сетчатки через 1 год – при их наличии оно было в 1,5 раза больше, чем без таковых ($p < 0,001$).
3. Проведенный нами регрессионный анализ позволил получить модель прогноза прогрессирования начальных проявлений НПДР в течение 1 года наблюдения с общей точностью 92,3%. Такая прогрессия прогнозировалась возможной при значениях содержания в крови AGE-CML больше 617 нг/мл и продолжительности заболевания более 4,1 года.



■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Heidemann C, Paprott R, Stühmann LM, Baumert J, Mühlenbruch K, Hansen, Schiborn C, Zahn D, Gellert P, Scheidt-Nave Ch. Perceived diabetes risk and related determinants in individuals with high actual diabetes risk: results from a nationwide population-based survey. *BMJ. Open Diabetes Res Care*. 2019 Jun 21;7(1):e000680. doi: 10.1136/bmjdr-2019-000680.
2. Davies MJ, D'Alessio DA, Fradkin J, Kernan WN, Mathieu C, Mingrone G, Rossing P, Tsapas A, Wexler DJ, Buse JB. Management of Hyperglycemia in Type 2 Diabetes, 2018. A Consensus Report by the American Diabetes Association (ADA) and the European Association for the Study of Diabetes (EASD). *Diabetes Care*. 2018 Dec;41(12):2669–701. doi: 10.2337/dci18-0033.
3. Tronko MD. [Priority issues of diabetology in Ukraine at the present stage and ways to solve them]. 2020 [Internet]. [cited 20.10.2020]; Available on: http://iem.net.ua/endocrinology_task/ [in Ukrainian]
4. Nowak MS, Grzybowski A. Rewie of the epidemiology of diabetic retinopathy [Internet]. *Modern Retina. Ophthalmology Times*. 2018 June 11; Available from: <https://www.modernretina.com/diabetic-retinopathy/review-epidemiology-diabetic-retinopathy>.
5. International Diabetes Federation and The Fred Hollows Foundation. Diabetes eye health: A guide for health care professionals. Brussel, Belgium: International Diabetes Federation [Internet]; 2015 [cited 15.07.20]; p. 10. Available from: <https://idf.org/our-activities/care-prevention/eye-health/eye-health-guide.html#sub-content-tab-nav>.
6. Ulyte A, Bähler C, Schwenglenks M, von Wyl V, Gruebner O, Wei W, Blözik E, Brünger B, Dressel H. Measuring diabetes guideline adherence with claims data: systematic construction of indicators and related challenges. *BMJ Open*. 2019 Apr 24;9(4):e027138. doi: 10.1136/bmjopen-2018-027138
7. Kowall B, Rathmann W, Stang A, Bongaerts B, Kuss O, Herder C, Roden M, Quante A, Holle R, Huth C, Peters A, Meisinger C. Perceived risk of diabetes seriously underestimates actual diabetes risk: The KORA FF4 study. *PLoS One*. 2017 Jan 31;12(1):e0171152. doi: 10.1371/journal.pone.0171152.
8. Lotfy M, Adeghate J, Kalasz H, Singh J, Adeghate E. Chronic complications of diabetes mellitus: a mini review. *Curr Diabetes Rev*. 2017;13(1):3–10. doi: 10.2174/1573399812666151016101622.
9. Kirsch S, Iroku-Malize T. Eye conditions in older adults: diabetic retinopathy. *FP Essent*. 2016 Jun;445:29–37; quiz 38-9.
10. Safi H, Safi S, Ali H-M, Hamid A. Early detection of diabetic retinopathy. *Survey of Ophthalmology*. 2018 Apr; 63 (5): 601–8. doi:10.1016/j.survophthal.2018.04.003.
11. Voigt M, Schmidt S, Lehmann T, Köhler B, Kloos C, Voigt UA, Meller D, Wolf G, Müller UA, Müller N. Prevalence and Progression Rate of Diabetic Retinopathy in Type 2 Diabetes Patients in Correlation with the Duration of Diabetes. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2018 Sep;126(9):570–6. doi: 10.1055/s-0043-120570.
12. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group. Grading diabetic retinopathy from stereoscopic color fundus photographs – an extension of the modified Airline house classification: ETDRS report № 10. *Ophthalmology*. 2020 Apr;127(4S): 99–119. doi: 10.1016/j.ophtha.2020.01.030.
13. Perrone A, Giovino A, Benny J, Martinell F. Advanced glycation end products (AGEs): biochemistry, signaling, analytical methods, and epigenetic effects [Internet]. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2020 Mar 18;2020. doi.org/10.1155/2020/3818196.
14. Eshag RS, Aldalati AMZ, Alexander JS, Harris NR. Diabetic retinopathy: Breaking the barrier. *Pathophysiology*. 2017;24(4):229–41. doi: 10.1016/j.pathophys.2017.07.001.
15. Yang P, Feng J, Peng Q, Liu X, Fan Z. Advanced glycation end products: potential mechanism and therapeutic target in cardiovascular complications under diabetes [Internet]. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2019;2019:12. Article ID 9570616. doi.org/10.1155/2019/9570616. Available from: <https://www.hindawi.com/journals/omcl/2019/9570616/>
16. Fishman SL, Sonmez H, Basman C, Singh V, Poretsky L. The role of advanced glycation end-products in the development of coronary artery disease in patients with and without diabetes mellitus: a review. *Mol Med*. 2018 Nov 23;24(11):59. doi: 10.1186/s10020-018-0060-3.
17. Altmann C, Schmidt MHH. The role of microglia in diabetic retinopathy: inflammation, microvasculature defects and neurodegeneration. *Int J Mol Sci*. 2018 Jan 1;19(1):110. doi: 10.3390/ijms19010110.
18. Scavelllo F, Zeni F, Tedesco CC, Mensà E, Veglia F, Procopio AD, Bonfigli AR et al. Modulation of soluble receptor for advanced glycation end-products (RAGE) isoforms and their ligands in healthy aging. *Aging (Albany NY)*. 2019 Mar 23;11(6):1648–63. doi: 10.18632/aging.101860.
19. Van Horsen R, Eggermont AM, ten Hagen TL. Endothelial monocyte-activating polypeptide-II and its functions in (patho)physiological processes. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2006 Oct;17(5):339–48. doi: 10.1016/j.cytogfr.2006.08.001.
20. Mogylnytska LA. Endothelial monocyte-activating polypeptide-II: properties, functions, and pathogenetic significance. *Fiziol. Zh*. 2015; 61(1): 102–11. doi: 10.15407/fz61.01.102 [in Ukrainian]
21. Awasthi N, Schwarz MA, Verma V, Cappiello C, Schwarz RE. Endothelial monocyte activating polypeptide II interferes with VEGF-induced proangiogenic signaling. *Lab Invest*. 2009 Jan;89(1):38–46. doi: 10.1038/labinvest.2008.106.
22. Tandle AT, Calvani M, Uranchimeg B, Zahavi D, Mellillo G, Libutti SK. Endothelial monocyte activating polypeptide-II modulates endothelial cell responses by degrading hypoxia-inducible factor-1alpha through interaction with PSMA7, a component of the proteasome. *Exp Cell Res*. 2009 Jul 1;315(11):1850–9. doi: 10.1016/j.yexcr.2009.03.021.
23. Matschurat S, Knies UE, Person V, Fink L, Stoelcker B, Ebenebe C, Behrendorf HA, Schaper J, Clauss M. Regulation of EMAP II by hypoxia. *Am J Pathol*. 2003 Jan;162(1):93–103. doi: 10.1016/S0002-9440(10)63801-1.
24. Zhuoshi W, Xiaxia Y, Ling Xu, Wei He. Relationship of lens advanced glycosylation end products with diabetic retinopathy. [Internet]. *Chin J Exp Ophthalmol*. 2017;35(1):64–8. Available from: <https://cjeo-journal.org/relationship-of-lens-advanced-glycosylation-end-products-with-diabetic-retinopathy/>
25. Ahmad S, Khan H, Siddiqui Z, Khan MY, Rehman S, Shahab U, Godovikova T, Silnikov V, Moinuddin. AGEs, RAGEs and s-RAGE: friend or foe for cancer. *Semin Cancer Biol*. 2018 Apr;49:44–55. doi: 10.1016/j.semcancer.2017.07.001.
26. Saleh I, Maritska Z, Parisa N, Hidayat R. Inhibition of Receptor for Advanced Glycation End Products as new promising strategy treatment in Diabetic Retinopathy. *Open Access Maced J Med Sci*. 2019 Oct 14;7(23):3921–4. doi: 10.3889/oamjms.2019.759.
27. Khan R, Ooi XY, Parvus M, Valdez L, Tsin A. Advanced glycation end products: formation, role in diabetic complications, and potential in clinical applications [Internet]. *IntechOpen*. 2019 Oct 3rd; doi: 10.5772/intechopen.89408. Available from: <https://www.intechopen.com/online-first/advanced-glycation-end-products-formation-role-in-diabetic-complications-and-potential-in-clinical-a>.
28. Chuang PY, Dai Y, Liu R, He H, Kretzler M, Jim B, Cohen CD, He JC. Alteration of forkhead box O (foxo4) acetylation mediates apoptosis of podocytes in diabetes mellitus. *PLoS One*. 2011;6(8):e23566. doi: 10.1371/journal.pone.0023566.
29. Xu J, Chen LJ, Yu J, Wang HJ, Zhang F, Liu Q, Wu J. Involvement of Advanced Glycation End Products in the Pathogenesis of Diabetic Retinopathy. *Cell Physiol Biochem*. 2018;48(2):705–717. doi: 10.1159/000491897.
30. Gupta A, Bhatnagar S. Vasoregression: A shared vascular pathology underlying macrovascular and microvascular pathologies? *OMICS*. 2015 Dec;19(12):733–53. doi: 10.1089/omi.2015.0128.