© **Т.П. Гальбинур**, 2013
УДК 617.736-053.9-092:[612.6.05:577.21

ОЦЕНКА РИСКА РАЗВИТИЯ ХОРИОИДАЛЬНОЙ НЕОВАСКУЛЯРИЗАЦИИ ПРИ ВОЗРАСТНОЙ МАКУЛЯРНОЙ ДЕГЕНЕРАЦИИ

Т.П. Гальбинур, кандидат медицинских наук
Университет Иврит, Медицинский центр Хадассах, Иерусалим, Израиль
E-mail: tgalbinur@gmail.com

Сообщение посвящено разработанному способу оценки риска неоваскулярной (НВ) формы возрастной макулярной дегенерации (ВМД) с учетом генетических и клинических факторов риска. В исследовании участвовали 255 пациентов с НВ ВМД (основная группа) и 119 испытуемых контрольной группы. Диагноз и стадию ВМД устанавливали согласно рекомендациям AREDS. Средний возраст в контрольной группе (70,8±8,2 года) был ниже, чем в группе НВ ВМД (78,1±7,6 года). Все исследуемые были генотипированы по rs11200638 в гене HTRA1, rs10490924 в гене LOC387715/ARMS2, rs1061170 в гене CFH. Определение полиморфизмов выполнялось путем секвенирования продуктов полимеразной цепной реакции (ПЦР), содержащих данные SNPs.

В основной группе полиморфизмы rs11200638 и rs10490924 имеют почти полное сцепление, D'=0,96–1,00. Различия в распределении частоты аллелей и генотипов данных SNPs в основной и контрольной группах были статистически значимыми. Подтверждена связь курения и НВ ВМД (OR=3,95% ДИ 1,7–5,3; p<0,001). Выявлена статистически значимая ассоциация генотипа CFH rs1061170 и типа хориоидальной НВ (ХНВ) (p=0,027). Индивидуальный риск развития НВ ВМД для пациента может быть выражен как вероятность наступления данного события (%) или в виде одной из категорий: среднепопуляционный риск (1-я категория; медиана 0,92%), высокий риск (2-я категория; медиана 8,4%), очень высокий риск (3-я категория; медиана 47,6%).

Определение индивидуального риска развития НВ, внимательное динамическое наблюдение за пациентами из группы риска, превентивное или возможно более раннее начало лечения гарантируют успех в предотвращении НВ-осложнений ВМД.

Ключевые слова: *хориоидальная неоваскуляризация, неоваскулярная возрастная макулярная дегенерация, однонуклеотидный полиморфизм*

THE RISK ASSESSMENT OF DEVELOPMENT OF CHOROIDAL NEOVASCULARIZATION IN AGE-RELATED MACULAR DEGENERATION

T.P. Galbinur
The Hebrew University-Hadassah Schools of Medicine and Dental Medicine, Jerusalem, Israel

Aim. *To study a method of risk assessment neovascular age-related macular degeneration (AMD) with the genetic and clinical risk factors.*

Methods. *The study included 255 patients with neovascular AMD (NVAMD) and 119 subjects in control group. Diagnosis and stages of AMD were set as recommended by AREDS. The mean age of patients in the control group (70,8±8,2 years) was lower than in the NVAMD group (78,1±7,6 years). All studied cases were genotyped for rs11200638 in the gene HTRA1, rs10490924 in the gene LOC387715/ARMS2, rs1061170 in the gene CFH. Determination of polymorphisms was performed by sequencing PCR products containing data SNPs.*

Results. *In the NVAMD group polymorphisms rs11200638 and rs10490924 have almost complete adhesion, D'=0,96–1,00. The differences in the distribution of alleles and genotypes of these SNPs in AMD patients and control groups were statistically significant. The relationship of smoking and NVAMD development(OR=3,95% CI 1,7–5,3, p<0,001) has been confirmed. A statistically significant association of CFH rs1061170 genotype and type of CNV (p=0,027) has been revealed. Individual risk for NVAMD development can be expressed as a probability of occurrence of the event (%) or one of the categories: middle population risk (category 1, median 0,92%), high risk (category 2, median 8,4%) and very high risk (category 3, median 47,6%).*

Conclusion. *Determination the individual risk of development of neovascularization, careful dynamic monitoring of patients at risk, preventive or as much as possible early treatment ensures success in preventing complications of NVAMD.*

Key words: *choroidal neovacularization, neovascular AMD, singlenucleotide polymorphism*

ВВЕДЕНИЕ

Увеличение заболеваемости и стоимости лечения больных возрастной макулярной дегенерацией (ВМД) требует эффективного и доступного метода скрининговой диагностики, способного снизить затраты на медицинское обслуживание пациентов. К 2050 г. население мира увеличится приблизительно в 1,4 раза, в том числе людей старше 60 лет станет больше почти в 4 раза, соответственно увеличится и количество больных ВМД [9]. Прогнозируется беспрецедентное увеличение числа больных неоваскулярной (НВ) ВМД к 2050 г. с 23,47 до 80,44 млн [11]. С другой стороны,

Определение полиморфизмов выполнялось путем секвенирования продуктов полимеразной цепной реакции (ПЦР), содержащих данные SNPs, с использованием методики iPLEX™ на времяпролетном масс-спектрометре (MALDI-TOF), работающем на принципе матрично-активированной лазерной десорбции/ионизации (Sequenom Inc., San Diego, CA).

Другие факторы, учитываемые в исследовании: пол, возраст при выявлении НВ, стаж курения, тип хориодальной НВ (ХНВ), острота зрения на момент выявления ХНВ. Испытуемые, курившие во время исследования или раньше, считались курящими, испытуемые, не курившие никогда – некурящими.

Клиническое обследование включало визометрию, биомикроскопию, тонометрию, оптическую когерентную томографию и выполнение флюоресцеиновой ангиографии. Тип ХНВ определяли в соответствии с критериями Macular Photocoagulation Study Group (классические ХНВ, преимущественно классические, минимальные классические и скрытые ХНВ).

Статистическая обработка результатов осуществлена с помощью пакета прикладных программ STATISTICA® 10,0 (Statsoft Inc). Для сравнения групп использован непарный двусторонний t-тест. Для расчета отношения шансов (OR – odds ratio), доверительных интервалов (95% ДИ) и уровня значимости использовали логистический регрессионный анализ и критерий χ^2. Для составления статистической модели оценки риска применялась бинарная логистическая регрессия с функцией последовательного включения и исключения признаков. Для всех методов статистически значимыми считали различия при $p<0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Распределение частоты аллелей данных SNPs соответствовало распределению Харди–Вайнберга. Выявлено, что в основной группе полиморфизмы rs11200638 и rs10490924 имеют почти полное сцепление; D'=0,96–1,00. Различия в распределении частоты аллелей и генотипов данных SNPs в группах ВМД и контрольной статистически значимые (табл. 1).

Курение признано важным фактором риска ВМД, в том числе и НВ-формы. В исследуемой популяции подтверждена связь курения и НВ ВМД (OR=3,95% ДИ 1,7–5,3; p<0,001). Логистический регрессионный анализ не выявил ассоциации курения с какими-либо генотипами; в настоящей модели курение рассматривается как независимый фактор риска.

Выявлена статистически значимая ассоциация генотипа *CFH* rs1061170 и типа ХНВ (p=0,027). Классический тип ХНВ, к которому отнесены классические и преимущественно классические варианты, был более характерен для гомозигот по риск-аллели полиморфизма, а среди нормальных гомозигот чаще встречалась скрытая ХНВ. Распространенность скрытой ХНВ была в 2,5 раза выше среди гетерозигот (к скрытой ХНВ отнесены минимальные классические и собственно скрытые типы).

Методом логистического регрессионного анализа не выявлено статистически значимых ассоциаций данных SNPs с другими клиническими и демографическими параметрами.

Построение статистической модели для прогнозирования вероятности заболевания проводили с применением логистического регрессионного анализа. Составлена модель, описывающая вероятность НВ ВМД в зависимости от наличия или отсутствия предвестников.

Таблица 1

ЧАСТОТА АЛЛЕЛЕЙ И ГЕНОТИПОВ ПОЛИМОРФИЗМОВ rs11200638, rs10490924 И rs1061170 В ОСНОВНОЙ И КОНТРОЛЬНОЙ ГРУППАХ

Ген	SNPs	Частота аллелей N/R; %				Частота генотипов NN/NR/RR; %					
		НВ ВМД	контроль	p	OR (95%CI)	НВ ВМД	контроль	NR p	NR OR (95%CI)	RR p	RR OR (95%CI)
LOC387715/ ARMS2	rs10490924 N=G R=T	56/44	80/ 20	<0,0001	3,1 (2,2–4,5)	36,5/ 39/ 24,5	64,2/ 30,3/ 5	0,0012	2,3 (1,4–3,7)	<0,0001	8,6 (3,5–2,8)
HTRA1	rs1200638 N=G R=A	63,7/ 73,6	82,8/ 17,2	<0,0001	2,7 (1,9–4)	45,5/ 36,5/ 18	68,1/ 29,4/ 2,5	0,013	1,8 (1,1–3,0)	<0,0001	10,7 (3,2–35,7)
CFH	rs1061170 N=T R=C	49,4/ 5,6	64,4/ 35,6	0,0002	1,9 (1,3–2,6)	22,9/ 52,9/ 24,2	41,5/ 45,8/ 12,7	0,0004	2,1 (1,3–3,4)	<0,0001	3,4 (1,7–6,8)

Примечание. N – нормальная аллель, R – риск-аллель; NN – нормальная гомозигота, NR – гетерозигота, RR – гомозигота по риск-аллели.

Вероятность НВ ВМД (probability – P) описывается уравнением:

$$p = \frac{1}{1 + a^{-y}},$$

где y – значение уравнения логистической регрессии;

$$y = const + \sum_{i=1}^{n} \beta i \times xi$$

коэффициенты и переменные указаны в табл. 2.

Таблица 2

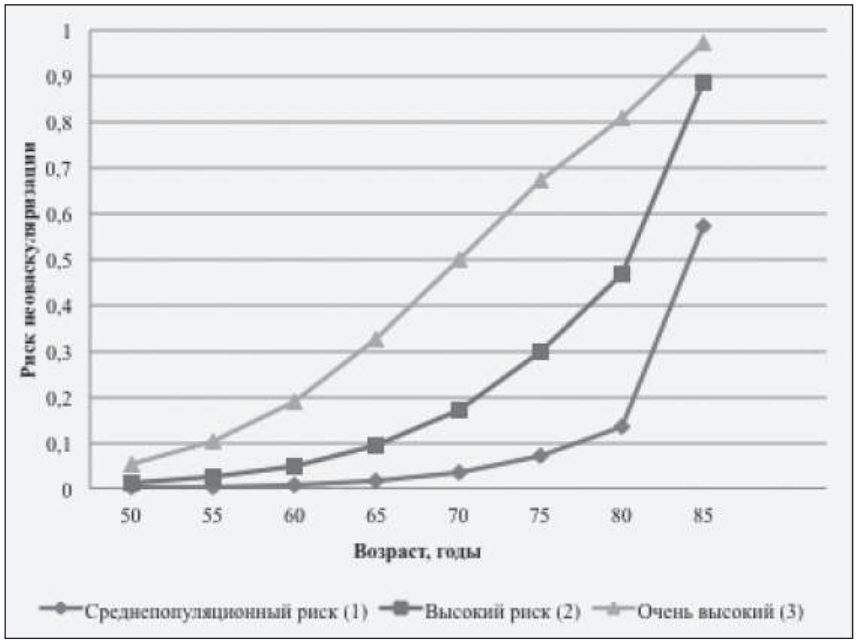
КОЭФФИЦИЕНТЫ РЕГРЕССИОННОГО УРАВНЕНИЯ И ЗНАЧЕНИЯ ПЕРЕМЕННЫХ

Параметр	Регрессионный коэффициент (β)	p	X
Const	-7,82	0,045	1
ARMS2	1,13	<0,001	GG =0, GT =1, TT =2
HTRA1	0,99	=0,002	GG=0, GA=1, AA=2
CFH	0,64	=0,002	TT=0, TC=1, CC=2
Курение	1,1	=0,030	Нет=0, да=1
Возраст, годы	1,44	<0,001	50-60=0, 60-70=1, 70-80=2, >80=3

Таблица 3

СТРАТИФИКАЦИЯ РИСКА НВ-ОСЛОЖНЕНИЙ ПРИ ВМД

Категории риска	Медиана, %	Интервал, %
1-я (среднепопуляционный)	0,92	0,04-3,0
2-я (высокий)	8,4	3,1-20,0
3-я (очень высокий)	47,6	20,1-95,7



Зависимость риска НВ ВМД от возраста пациентов: 1 – среднепопуляционный риск; 2 – высокий; 3 – очень высокий

Таким образом, найдя значение переменных X для каждого испытуемого (количество риск-аллелей каждого полиморфизма, возраст), с помощью составленной модели можно определить индивидуальный риск развития ХНВ.

По данным мета-анализа 2012 г., распространенность НВ ВМД логарифмически увеличивается с возрастом – приблизительно в 4 раза за каждое десятилетие после 50 лет (OR=4,2 за десятилетие; 95% ДИ (Байесовский)=3,8–4,6). Ввиду исключительной значимости возраста пациента в оценке риска НВ ВМД в настоящую модель включена переменная «возраст», расчеты основаны на данных мета-анализа эпидемиологических исследований повозрастной заболеваемости ВМД в европейской популяции [10].

Все возможные значения уравнения регрессии сгруппированы в 3 категории для стратификации риска НВ-осложнений при ВМД. Индивидуальный риск развития НВ ВМД для пациента может быть выражен как вероятность наступления данного события (%) или в виде одной из категорий: среднепопуляционный риск (1-я категория), высокий риск (2-я категория) и очень высокий риск (3-я категория). Категории, медиана и интервал вероятности для каждой группы представлены в табл. 3.

Помимо общего определения индивидуального риска, разработана более детализированная система оценки риска НВ по категориям в разных возрастных группах (см. рисунок).

Развитие ХНВ – наиболее прогностически неблагоприятное осложнение ВМД, приводящее при естественном течении заболевания к тяжелой потере центрального зрения.

Разработка способа оценки риска НВ-формы ВМД и внедрение доступного клинико-генетического тестирования позволит выявить группу риска и своевременно принять превентивные меры. Определение категории риска и выдача соответствующих рекомендаций по модификации образа жизни, объяснение пациенту первых симптомов НВ ВМД и

важности регулярного наблюдения, составление индивидуального графика обследования и выполнения инструментальных исследований обеспечит высокий уровень ранней диагностики ХНВ. Существуют также возможности превентивного лечения пациентов из группы риска (анти-VEGF, PEDF) [16]. Генотипирование пациентов с неэкссудативной формой ВМД может предоставить ценную клиническую информацию о предполагаемой скорости прогрессирования (полиморфизм гена *ARMS2* – фактор быстрого прогрессирования, тяжести течения ВМД) и вероятности перехода неэкссудативной ВМД в экссудативную (полиморфизмы генов *ARMS2, HTRA1, CFH*).

Кроме того, определение риск-вариантов исследуемых полиморфизмов позволит прогнозировать эффективность лечения и определить оптимальную терапевтическую стратегию. Так, риск-аллель *CFH* rs1061170 снижает эффективность анти-VEGF-терапии и лечения антиоксидантами [7]. Пациенты с риск-вариантом *ARMS2/HTRA1*, наоборот, быстрее отвечают на лечение ранибизумабом и методом фотодинамической терапии, у них лучше результат восстановления остроты зрения [6, 13]. С другой стороны, данные гены или их продукты привлекательны как мишень для разработки новой, патогенетически ориентированной или генной терапии [16].

ЛИТЕРАТУРА

1. Age-Related Eye Disease Study Research Group. A randomized, placebo-controlled, clinical trial of high-dose supplementation with vitamins C and E, beta carotene, and zinc for age-related macular degeneration and vision loss: AREDS report no 8 // Arch Ophthalmol. – 2001; 119: 1417–36.
2. Budzinskaia M., Pogoda T., Generozov É. et al. Influence of genetic mutations on clinical presentation of subretinal neovascularization. Report 1: The impact of CFH and IL-8 genes polymorphism // Vestn. Oftalmol. – 2011; 127: 3–8.
3. Budzinskaia M., Pogoda T., Strelkova I. et al. (Influence of genetic mutations on clinical presentation of subretinal neovascularization. Report 2: The impact of HTRA and VEGF genes polymorphism) // Vestn. Oftalmol. – 2011; 127: 9–16.
4. Conley Y., Jakobsdottir J., Mah T. et al. CFH, ELOVL4, PLEKHA1 and LOC387715 genes and susceptibility to age-related maculopathy: AREDS and CHS cohorts and meta-analyses // Hum. Mol. Genet. – 2006; 15: 3206–18.
5. Cruess A., Zlateva G., Xu X. et al. Economic burden of bilateral neovascular age-related macular degeneration: multi-country observational study // Pharmacoeconomics. – 2008; 26: 57–73.
6. Kibbin M., Ali M., Bansal S. et al. VEGF and HTRA1 promoter genotype may influence the response to intravitrealranibizumab therapy for neovascular age-related macular degeneration // Br. J. Ophthalmol. – 2012; 96: 208–12.
7. Orlin A., Hadley D., Chang W. et al. Association between high-risk disease loci and response to anti-vascular endothelial growth factor treatment for wet age-related macular degeneration // Retina. – 2012; 32: 4–9.
8. Rauch R., Weingessel B., Maca S., et al. Time to first treatment: The significance of early treatment of exudative age-related macular degeneration // Retina. – 2012; 32: 1260–4.
9. Rein D., Wittenborn J., Zhang X. et al. Vision Health Cost-Effectiveness Study Group. Forecasting age-related macular degeneration through the year 2050: the potential impact of new treatments // Arch. Ophthalmol. – 2009; 127: 533–40.
10. Rudnicka A., Jarrar Z., Wormald R. et al. Age and gender variations in age-related macular degeneration prevalencein populations of European ancestry: a meta-analysis. Ophthalmology. – 2012;119: 571–80.
11. Skaat A., Chetrit A., Belkin M. et al. Time trends in the incidence and causes of blindness in Israel // Am. J. Ophthalmol. – 2012; 153: 214–221.
12. Stanton C., Chalmers K., Wright A. The chromosome 10q26 susceptibility locus in age-related macular degeneration // Adv. Exp. Med. Biol. – 2012; 723: 365–70.
13. Tsuchihashi T., Mori K., Horie-Inoue K. et al. Complement factor H and high-temperature requirement A-1 genotypes and treatment response of age-related macular degeneration // Ophthalmology. – 2011; 118: 93–100.
14. Wang G., Scott W., Whitehead P. et al. A novel ARMS2 splice variant is identified in human retina // Exp. Eye Res. – 2012; 94: 187–91.
15. Wong I., Koo S., Chan C. Prevention of age-related macular degeneration // Int. Ophthalmol. – 2011; 31: 73–82.
16. Zarbin M., Rosenfeld P. Pathway-based therapies for age-related macular degeneration: an integrated survey of emerging treatment alternatives // Retina. – 2010; 30: 1350–67.
17. Zhang L., Lim S., Du H. et al. High temperature requirement factor A1 (HTRA1) gene regulates angiogenesis through transforming growth factor-β family member growth differentiation factor 6 // J. Biol. Chem. – 2012; 287: 1520–6.