

Міністерство охорони здоров'я України  
Вінницький національний медичний університет імені М.І. Пирогова

Кваліфікаційна наукова  
праця на правах рукопису

**Осама Мохаммад Мітеб Аль-Джаррах**

УДК: 617.736-08:616-036.1:575

**ДИСЕРТАЦІЯ**

**ОПТИМІЗАЦІЯ СУЧАСНИХ ПІДХОДІВ ЛІКУВАННЯ ВОЛОГОЇ  
ФОРМИ ВІКОВОЇ МАКУЛЯРНОЇ ДЕГЕНЕРАЦІЇ З УРАХУВАННЯМ  
КЛІНІЧНИХ ТА БІОМОЛЕКУЛЯРНИХ МАРКЕРІВ**

Галузь знань 22 «Охорона здоров'я»

222 – «Медицина»

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,  
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

\_\_\_\_\_ (підписано ЕП) Осама Мохаммад Мітеб Аль-Джаррах

Науковий керівник: Малачкова Наталія Валентинівна, кандидат медичних наук,  
професор

Вінниця – 2023

## АНОТАЦІЯ

*Осама Аль-Джаррах.* Оптимізація сучасних підходів лікування вологої форми вікової макулярної дегенерації з урахуванням клінічних та біомолекулярних маркерів. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії з галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 – «Медицина». – Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова МОЗ України, Вінниця, 2023.

Дисертація присвячена вирішенню актуального завдання сучасної офтальмології – оптимізації сучасних підходів лікування вологої форми вікової макулярної дегенерації на підставі комплексного аналізу патогенетичного значення поліморфізмів (rs11200638 гена HTRA1, rs2010963 гена VEGFA, rs1800629 гена TNF).

Вікова макулярна дегенерація є однією з найпоширеніших проблем погіршення та втрати зору, особливо у людей старше 60 років. Вона становить 9% усіх випадків сліпоти по всьому світу, що безупинно збільшується щонайменше як на 600 000 щорічно внаслідок старіння населення.

На сьогодні близько 200 мільйонів осіб мають вікову макулярну дегенерацію повсюдно, а загалом очікується 288 мільйонів хворих до 2040 року. Згідно з даними Європейського консорціуму епідеміології очей, поширеність вікової макулярної дегенерації серед дорослих віком 70 років і старше становить 16,2 % в Європі, що прогнозовано збільшиться майже вдвічі до 2040 року. Станом на 2015 рік в Європі 67 мільйонів осіб уражені цією хворобою; передбачається, що у 2050 році понад 77 мільйонів осіб у Європейському Союзі матимуть вікову макулярну дегенерацію. Найбільше зростання на 15 % очікується серед осіб віком від 75 років (від 50 до 57,6 млн). У той час як у США вона є причиною 54,4 % порушень зору та 22,9 % сліпоти. Макула складається з мільйонів світлочутливих клітин, які забезпечують чіткий центральний зір. Це найчутливіша частина сітківки, яка розташована в задньому полюсі ока.

Фоторецептори сітківки перетворюють світлові хвилі на нервові імпульси і посилають їх через зоровий нерв до мозку, де формується зображення, яке ми бачимо. Якщо макула ушкоджена, центр поля зору стає розпливчастим, спотвореним або темним. Відомо, що слабкий зір і сліпота значно збільшуються з віком, особливо серед людей старше 65 років. Так, люди віком 80 років і старше наразі складають 8% населення США, але становлять 69 % випадків сліпоти.

Вікова макулярна дегенерація є багатofакторним захворюванням, у патогенезі якого відіграють роль як генетичні, так і метаболічні чинники. До факторів ризику виникнення патології відносять: вік, етнічність, генні мутації, куріння, серцево-судинні захворювання, ожиріння, спадковість, оксидативний стрес та запалення.

Протягом останніх років завдяки розвитку молекулярної генетики було виявлено численні генетичні алелі ризику вікової макулярної дегенерації. На цей час ідентифіковано щонайменше 103 локуси, асоційовані з захворюванням. Гени мають сильний вплив на патогенез вікової макулярної дегенерації, оскільки вони беруть участь у багатьох процесах, зокрема у факторах комплементу, метаболізмі ліпідів, ангиогенезі, імунітеті, клітинному русі, апоптозі та проліферації, а також клітинному з'єднанні.

Завдяки відомостям з боку генетики було створено провідний метод боротьби з неоваскулярною формою вікової макулярної дегенерації – anti-VEGF терапію. Однак, абсолютна ефективність даного методу лікування проявляється не у всіх досліджуваних, що також належить обґрунтуванню за допомогою вивчення генетичного коду. Тому проведення генетичних досліджень для передбачення майбутнього ефекту anti-VEGF терапії у лікуванні вікової макулярної дегенерації є актуальним завданням сучасної офтальмології.

Під час дослідження дотримувались етичних принципів Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації, при цьому було обстежено 162 пацієнти, за допомогою наступних методів дослідження: клініко-анамнестичні, офтальмологічні, молекулярно-генетичні, статистичні методи дослідження.

Аналіз проведений після проходження курсу антиангіогенної терапії показав, що середньогрупове значення гостроти зору у пацієнтів статистично значуще збільшилось з  $0,17 \pm 0,12$  до  $0,35 \pm 0,16$  ( $p < 0,05$ ). Хоча в усіх досліджених ділянках за даними ОКТ спостерігали тенденцію до зменшення товщини сітківки, зміни середньогрупових значень мали недостатній рівень статистичної значущості, що значною мірою обумовлено індивідуальними розбіжностями результатів лікування.

Встановлено, що при проведенні анти-VEGF терапії з використанням препарату афліберсепт у пацієнтів з «волоогою» формою ВМД, які є мешканцями Подільського регіону України, у 33,4% випадків спостерігається резистентність до лікування. В групі пацієнтів з відсутністю відповіді на лікування динаміка в резорбції набряку була відсутня, в деяких випадках спостерігали збільшення товщини центральної ділянки макули, що супроводжувалось відсутністю динаміки максимально корегованої гостроти зору. Результати аналізу індивідуальної відповіді на антиангіогенну терапію за анатомічними критеріями в різних ділянках сітківки виявили тенденцію до більш вираженої резистентності в ділянці ОКТ8 (внутрішня скронева ділянка, inner temporal) – 40,74% ( $p = 0,07$ ).

Показана асоціація ОНП з rs2010963 гена *VEGFA*, rs11200638 гена *HTRA1* та rs1800629 гена *TNF* з ризиком розвитку «волоогої» форми ВМД у мешканців Подільського регіону України. Зокрема, у гетерозиготних і гомозиготних носіїв мінорного алеля ОНП rs11200638 гена *HTRA1* шанси розвитку данної патології збільшені в 1,92 (95% ДІ 1,17 – 3,17) і 17,21 (95% ДІ 2,29 – 129,49) рази, відповідно ( $p < 0,0001$ ). Для гетерозиготних і гомозиготних носіїв мінорного алеля ОНП rs2010963 гена *VEGFA* показник відношення шансів становить 1,52 (95% ДІ 0,91 – 2,54 ) та 2,06 (95% ДІ 0,79 – 5,38), відповідно ( $p = 0,01$ ). Для гетерозигот і гомозигот за мінорним алелем ОНП rs1800629 гена *TNF*,  $VSH = 3,46$  (95% ДІ ) та  $VSH = 1,77$  (95% ДІ ), відповідно,  $p < 0,0001$ .

Не виявлено статистичної значущості асоціації ОНП rs11200638 гена *HTRA1* з відповіддю на лікування препаратом афліберсепт у пацієнтів з

«волоогою» формою ВМД. Зв'язок між відповіддю на повний курс анти-*VEGF* терапії і ОНП rs2010963 гена *VEGFA* було виявлено в рецесивній моделі успадкування. Збільшений ризик резистентності до лікування показано для гомозиготних носіїв мінорного алеля (CC) за цим ОНП, ВШ = 2,13 (95% ДІ 1,06 – 4,28),  $p = 0,03$ . Виявлена асоціація ОНП rs1800629 гена *TNF* з відповіддю на проведення анти-*VEGF* терапії з використанням препарату афліберсепт. При цьому показано, що підвищений ризик резистентності до лікування цим препаратом існує як для гетерозигот (GA) – ВШ = 1,50 (95% ДІ 0,92 – 2,45,  $p = 0,03$ ), так і гомозигот за мінорним алелем (AA) – ВШ = 1,55 (95% ДІ 0,56 – 4,27,  $p = 0,03$ ), за цим ОНП. Таким чином, запровадження молекулярно-генетичного аналізу однонуклеотидних поліморфізмів генів *VEGFA* (rs2010963) та *TNF* (rs1800629) як складової діагностики вікової макулярної дегенерації достовірно дозволить визначити схильність до резистентності щодо anti-*VEGF* терапії.

Отримані в роботі дані про розподіл генотипів та алелей серед досліджуваних осіб, мешканців Подільського регіону України можуть бути використані як референтні при подальших дослідженнях молекулярних основ генетичної схильності до розвитку, перебігу та лікування вікової макулярної дегенерації серед населення України. Зважаючи на розраховане прогностичне значення досліджених алельних варіантів щодо ризику резистентності до anti-*VEGF* терапії, обрані для роботи поліморфізми генів *VEGFA* (rs2010963) та *TNF* (rs1800629) можуть бути використані як фактори ризику при побудові оптимальної стратегії лікування вікової макулярної дегенерації серед жителів України, що буде сприяти більш ефективній терапії захворювання та зниженню рівня інвалідизації хворих внаслідок хвороби.

Ключові слова: вікова макулярна дегенерація, сітківка ока, оптична когерентна томографія, анти-*VEGF* терапія, зоровий нерв, прогнозування якості життя, генетичні маркери, однонуклеотидний поліморфізм гена *HTRA1*, однонуклеотидний поліморфізм гена *VEGFA*, однонуклеотидний поліморфізм гена *TNF- $\alpha$* , цитогенетика, афліберсепт, сліпота, інвалідність, фактори ризику.

## ABSTRACT

*Osama Al-Jarrah*. Optimization of modern approaches to the treatment of wet age-related macular degeneration, taking into account clinical and biomolecular markers. - Qualifying scientific work on the rights of the manuscript.

Thesis for a Doctor of Philosophy degree in the field of study 22 Healthcare by specialty 222 – «Medicine». National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsya Ministry of Health of Ukraine, Vinnytsia, 2023.

The dissertation is dedicated to the solution of the actual problem of modern ophthalmology – optimization of modern approaches to the treatment of wet age-related macular degeneration based on a complex analysis of polymorphisms pathogenetic value (rs11200638 of HTRA1 gene, rs2010963 of VEGFA gene, rs1800629 of TNF gene).

Age-related macular degeneration is one of the most common problems of vision deterioration and loss, especially in people over 60 years of age. It accounts for 9% of all cases of blindness worldwide, steadily increasing by at least 600,000 annually due to an aging population.

Approximately 200 million people have age-related macular degeneration globally as of today, and a total of 288 million patients are expected by 2040. According to the European Eye Epidemiology Consortium, the prevalence of age-related macular degeneration among adults aged 70 years and older is 16.2% in Europe, which is projected to almost double by 2040. As of 2015, 67 million people in Europe are affected by this disease; it is predicted that in 2050 more than 77 million people in the European Union will have age-related macular degeneration. The largest growth of 15 % is expected among people aged 75 and older (from 50 to 57.6 million). While in the US it is the cause of 54.4 % of visual impairments and 22.9 % of blindness. The macula consists of millions of light-sensitive cells that provide clear central vision. This is the most sensitive part of the retina, which is located in the posterior segment of the eye. The photoreceptors of the retina convert light waves into nerve impulses and send them through the optic nerve to the brain, where the image

we see is formed. If the macula is damaged, the center of the field of vision becomes blurry, distorted, or dark. Low vision and blindness are known to increase significantly with age, especially among people over the age of 65. Accordingly, people aged 80 and older currently make up 8 % of the US population, but account for 69 % of blindness.

Age-related macular degeneration is a multifactorial disease. Both genetic and metabolic factors play a role in its pathogenesis. Risk factors for the occurrence of pathology include: age, ethnicity, gene mutations, smoking, cardiovascular diseases, obesity, heredity, oxidative stress and inflammation.

In recent years, due to the development of molecular genetics, numerous genetic risk alleles of age-related macular degeneration have been discovered. Currently, at least 103 loci associated with the disease have been identified. Genes have a strong influence on the pathogenesis of age-related macular degeneration, as they are involved in many processes, including complement factors, lipid metabolism, angiogenesis, immunity, cell movements, apoptosis, proliferation, and cell junction.

Thanks to the information from genetics, a leading method of combating the neovascular form of age-related macular degeneration was created and named anti-VEGF therapy. However, the absolute effectiveness of this method is not manifested in all subjects, which also has to be substantiated by studying the genetic code. Therefore, conducting genetic studies to predict the future effect of anti-VEGF therapy in the treatment of age-related macular degeneration is an relevant task of modern ophthalmology. The ethical principles of the Helsinki Declaration of the World Medical Association were followed during the study, while 162 patients were examined using the following research methods: clinical and anamnestic, ophthalmological, molecular genetic, and statistical methods.

The analysis conducted after the course of antiangiogenic therapy showed that the average group value of visual acuity in patients increased statistically significantly from  $0.17 \pm 0.12$  to  $0.35 \pm 0.16$  ( $p < 0.05$ ). Although there was a trend toward a decrease in retinal thickness in all studied areas according to OCT data, the changes in average

group values had an insufficient level of statistical significance, which is largely due to individual differences in the results of treatment. It was established that during anti-VEGF therapy using the drug aflibercept in patients with a "wet" form of AMD who are residents of the Podilsk region of Ukraine, resistance to treatment is observed in 33.4% of cases. In the group of patients with no response to treatment, there was no dynamics in the resorption of edema, in some cases, an increase in the thickness of the central area of the macula was observed, which was accompanied by a lack of dynamics in maximally corrected visual acuity. The results of the analysis of the individual response to antiangiogenic therapy according to anatomical criteria in different areas of the retina revealed a tendency towards more pronounced resistance in the OKT8 area (inner temporal area) - 40.74% ( $p = 0.07$ ). The association of ONP with rs2010963 of the VEGFA gene, rs11200638 of the HTRA1 gene, and rs1800629 of the TNF gene with the risk of developing a "wet" form of AMD in residents of the Podilsk region of Ukraine is shown. In particular, in heterozygous and homozygous carriers of the minor ONP allele rs11200638 of the HTRA1 gene, the chances of developing this pathology are increased by 1.92 (95% CI 1.17 – 3.17) and 17.21 (95% CI 2.29 – 129.49) times, respectively ( $p < 0.0001$ ). For heterozygous and homozygous carriers of the ONP minor allele rs2010963 of the VEGFA gene, the odds ratio is 1.52 (95% CI 0.91 – 2.54) and 2.06 (95% CI 0.79 – 5.38), respectively ( $p = 0.01$ ). For heterozygotes and homozygotes for the minor allele of ONP rs1800629 of the TNF gene, OR = 3.46 (95% CI) and OR = 1.77 (95% CI), respectively,  $p < 0.0001$ . No statistical significance was found for the association of ONP rs11200638 of the HTRA1 gene with the response to treatment with aflibercept in patients with "wet" AMD. The relationship between the response to a full course of anti-VEGF therapy and ONP rs2010963 of the VEGFA gene was revealed in a recessive model of inheritance. An increased risk of resistance to treatment is shown for homozygous carriers of the minor allele (SS) for this ONP, OR = 2.13 (95% CI 1.06 – 4.28),  $p = 0.03$ . The association of ONP rs1800629 of the TNF gene with the response to anti-VEGF therapy using the drug aflibercept was revealed. At the same time, it is shown



that there is an increased risk of resistance to treatment with this drug both for heterozygotes (GA) - RR = 1.50 (95% CI 0.92 - 2.45, p = 0.03) and homozygotes for the minor allele (AA) – OR = 1.55 (95% CI 0.56 – 4.27, p = 0.03), according to this ONP. Thus, the introduction of molecular genetic analysis of single-nucleotide polymorphisms of the VEGFA (rs2010963) and TNF (rs1800629) genes as a component of the diagnosis of age-related macular degeneration will reliably determine the tendency to resistance to anti-VEGF therapy. The data obtained in the work on the distribution of genotypes and alleles among the studied persons, residents of the Podilsk region of Ukraine, can be used as a reference in further studies of the molecular basis of the genetic predisposition to the development, course and treatment of age-related macular degeneration among the population of Ukraine. Taking into account the calculated prognostic value of the investigated allelic variants regarding the risk of resistance to anti-VEGF therapy, the polymorphisms of the VEGFA (rs2010963) and TNF (rs1800629) genes selected for work can be used as risk factors in the construction of an optimal strategy for the treatment of age-related macular degeneration among residents of Ukraine, which will contribute to more effective treatment of the disease and decrease the level of disability of patients due to the disease.

Key words: age-related macular degeneration, retina, optical coherence tomography, anti-VEGF therapy, optic nerve, predicting quality of life, genetic markers, single nucleotide polymorphism of the HTRA1 gene, single nucleotide polymorphism of the VEGFA gene, single nucleotide polymorphism of the TNF- $\alpha$  gene, cytogenetics, aflibercept, blindness, disability, risk factors.

### **Список публікацій здобувача**

**Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:**

1. Малачкова Н. В., Осама Мохаммад Мітеб Аль-Джаррах. (2022). Вивчення впливу поліморфізму rs1800629 TNF на перебіг вікової макулярної дегенерації

крізь призму anti-VEGF терапії. Вісник Вінницького національного медичного університету, 26(2). 267–273.

2. Малачкова Н. В., Осама Мохаммад Мітеб Аль-Джаррах. (2022) Вплив поліморфізму rs2010963 гена VEGFA на відповідь лікування «вологоді» форми вікової макулярної дегенерації. Вісник Вінницького національного медичного університету. 26(3). 411–417.

3. Малачкова, Н. В., Осама Мохаммад Мітеб Аль-Джаррах (2022). Роль поліморфізмів генів HTRA серинової пептидази 1, фактора росту ендотелію судин, фактора некрозу пухлин у лікуванні «вологоді» форми вікової макулярної дегенерації. Львівський клінічний вісник. 3(39) – 4(40), 45–53.

**Наукові праці, які додатково відображають наукові результати дисертації:**

4. Малачкова Н. В., Маса'дех, М. М. М., Аль-Джаррах О. М. М., Людкевич Г. П., Сухань Д. С. (2021). Сучасний погляд на етіопатогенез вікової макулярної дегенерації та роль молекулярно-генетичних детермінант у ньому. Архів офтальмології України, 9(3), 21-27.

**Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:**

5. Malachkova N. V., Osama Mohammad Miteb Al-Jarrah. (2022) Study of Susceptibility To The Occurrence of Age-related Macular Degeneration on The Basis of The VEGF Gene Polymorphism. Proceedings of X International Scientific and Practical Conference «Eurasian Scientific Discussions» (23-25 жовтня 2022 р., м. Барселона, Іспанія). С. 38–43.

6. Malachkova N. V., Osama Mohammad Miteb Al-Jarrah. (2022) Study of Susceptibility To The Occurrence of Age-related Macular Degeneration on The Basis of The HTRA1 Gene Polymorphism. Proceedings of VIII International Scientific and Practical Conference «Modern Research in World Science» (29-31 жовтня 2022 р., м. Львів, Україна). С. 126–131.

7. Malachkova N. V., Osama Mohammad Miteb Al-Jarrah. (2022). Study of Susceptibility To The Occurrence of Age-related Macular Degeneration on The Basis

of The TNF Gene Polymorphism. Proceedings of II International Scientific and Practical Conference «Scientific Progress: Innovations, Achievements and Prospects» (6-8 листопада 2022 р., м. Мюнхен, Німеччина). С. 43–49.

## ЗМІСТ

<b>ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ</b>	14
<b>ВСТУП</b>	15
<b>РОЗДІЛ 1</b>	
<b>СУЧАСНИЙ ПОГЛЯД НА ПРОБЛЕМУ ВІКОВОЇ МАКУЛЯРНОЇ ДЕГЕНЕРАЦІЇ НА ОСНОВІ ГЕНЕТИЧНИХ ПОЛІМОРФІЗМІВ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)</b>	23
1.1 Патофізіологічні аспекти розвитку ВМД: сучасні дані	23
1.2 Зв'язок генетичних поліморфізмів із розвитком ВМД	27
1.3 Асоціація генетичних поліморфізмів із ефективністю anti-VEGF терапії	32
<b>РОЗДІЛ 2</b>	
<b>МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ</b>	39
2.1 Дизайн дослідження і клінічна характеристика хворих	39
2.2. Методи офтальмологічних досліджень	41
2.3. Класифікація вікової макулярної дегенерації	46
2.4. Методи лікування «волоγοї» форми ВМД	47
2.5. Методи молекулярно-генетичних досліджень	50
2.6. Методи статистичних досліджень	53
<b>РОЗДІЛ 3</b>	
<b>ОЦІНКА ЕФЕКТИВНОСТІ АНТИ-VEGF ТЕРАПІЇ ПРЕПАРАТОМ EYLEA (АФЛІБЕРСЕПТ) У ПАЦІЄНТІВ З «ВОЛОГОЮ» ФОРМОЮ ВМД</b>	55
<b>РОЗДІЛ 4</b>	
<b>ВИВЧЕННЯ ВПЛИВУ ПОЛІМОРФІЗМУ RS11200638 ГЕНА <i>HTRA1</i> НА ЕФЕКТИВНІСТЬ АНТИ-VEGF ТЕРАПІЇ У ПАЦІЄНТІВ З «ВОЛОГОЮ» ФОРМОЮ ВМД</b>	59
4.1 Аналіз асоціації поліморфізму rs11200638 гена <i>HTRA1</i> з ризиком розвитку «волоγοї» форми ВМД	59
4.2 Оцінка ефективності анти-VEGF-терапії залежно від варіанту поліморфізму	

rs11200638 гена HTRA1 у хворих із «волоогою» формою ВМД \_\_\_\_\_ 62

## **РОЗДІЛ 5**

**ВИВЧЕННЯ ВПЛИВУ ПОЛІМОРФІЗМУ RS2010963 ГЕНА VEGFA НА ЕФЕКТИВНІСТЬ НА ЕФЕКТИВНІСТЬ АНТИ-VEGF ТЕРАПІЇ У ПАЦІЄНТІВ З «ВОЛОГОЮ» ФОРМОЮ ВМД \_\_\_\_\_ 70**

5.1 Аналіз асоціації поліморфізму rs2010963 гена VEGFA з ризиком розвитку «волоогої» форми ВМД \_\_\_\_\_ 70

5.2 Оцінка ефективності анти-VEGF-терапії залежно від варіанту поліморфізму rs2010963 гена VEGFA у хворих із «волоогою» формою ВМД \_\_\_\_\_ 73

## **РОЗДІЛ 6**

**ВИВЧЕННЯ ВПЛИВУ ПОЛІМОРФІЗМУ RS1800629 ГЕНА TNF НА ЕФЕКТИВНІСТЬ АНТИ-VEGF ТЕРАПІЇ У ПАЦІЄНТІВ З «ВОЛОГОЮ» ФОРМОЮ ВМД \_\_\_\_\_ 81**

6.1 Аналіз асоціації поліморфізму rs1800629 гена *TNF* з ризиком розвитку «волоогої» форми ВМД \_\_\_\_\_ 81

6.2 Оцінка ефективності анти-VEGF-терапії залежно від варіанту поліморфізму rs1800629 гена *TNF* у хворих із «волоогою» формою ВМД \_\_\_\_\_ 84

## **РОЗДІЛ 7**

**АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ \_\_\_\_\_ 92**

**ВИСНОВКИ \_\_\_\_\_ 109**

**ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ \_\_\_\_\_ 111**

**СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ \_\_\_\_\_ 112**

**ДОДАТОК А \_\_\_\_\_ 147**

**ДОДАТОК Б \_\_\_\_\_ 149**

**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ**

ВМД	– вікова макулярна дегенерація
ОНП, SNP	– однонуклеотидний поліморфізм
ОКТ	– оптична когерентна томографія
95% ДІ	– 95% довірчий інтервал
ВШ	– відношення шансів
ПЕС	– пігментний епітелій сітківки
ПЛР	– полімеразна ланцюгова реакція
ПЛР-РЧ	– полімеразна ланцюгова реакція у режимі реального часу
HTRA1	– High-Temperature Requirement A Serine Peptidase 1
VEGFA	– Vascular Endothelial Growth Factor A
TNF	– Tumor Necrosis Factor

## ВСТУП

### Обґрунтування вибору теми дослідження

Вікова макулярна дегенерація (ВМД) є пріоритетною проблемою сучасної офтальмології. Це захворювання призводить до необоротної сліпоти та втрати працездатності, а також переважно вражає населення середнього та старечого віку [118, 232, 246]. Щороку проблема стає ще більш актуальною у зв'язку зі зростанням середньої тривалості життя, старінням популяції, збільшенням хронічних хвороб, що нівелюється прогресом у галузі медицини, в тому числі як серед методів генетичних обстежень, так і у діагностиці захворювань очей [118, 230, 246]. Ризик ураження центральної частини сітківки зростає з віком, тому очікується зростання кількості хворих на ВМД по всьому світу, зокрема і в Україні [246].

Існує дві основні запущені форми захворювання: «суха» або атрофічна форма, яка є найбільш поширеною, та «волога» або неоваскулярна форма, яка зустрічається рідше, але відповідає за 90 % випадків гострої сліпоти внаслідок ВМД [55, 61, 90, 171, 232].

У основі молекулярної трансформації нормальних процесів старіння до виникнення патологічної ВМД лежить судинне запалення і дисрегуляція, пошкодження мітохондрій та накопичення активних форм кисню, що супроводжується старінням клітин пігментного епітелію сітківки (ПЕС) [74, 153]. ВМД є мультифакторним захворюванням: метаболічні, генетичні фактори, а також спосіб життя лежать в основі схильності, розвитку та тяжкості хвороби [118, 120 – 122, 153]. Встановлено, що генетична дисрегуляція до ВМД становить 46-71% внеску хвороби, а двома найбільш помітними локусами ризику вважають CFH та ARMS2/HTRA1 [47, 93, 185, 242]. Окрім цього, незворотну прогресуючу втрату фоторецепторів сітківки спричиняють оксидативний стрес та запалення. Через те, що сітківка містить найбільш високо диференційовані клітини нервової тканини організму людини, які надзвичайно чутливі до гіпоксії та ішемії, утворені вільні радикали кисню згубно впливають на них [118].

Через обмежену кількість варіантів профілактики та лікування ВМД постійно досліджуються нові терапевтичні цілі [26, 153]. Наявні методи лікування захворювання є достатньо коштовні, а терапія – тривалою, з ймовірністю наявності у людини резистентності, що викликає повну або часткову неефективність застосування препаратів. Основним медикаментозним методом лікуванням неоваскулярної форми ВМД є anti-VEGF терапія, що базується на введенні інгібіторів фактора росту ендотелію судин [48, 178, 187, 218]. Anti-VEGF терапію проводять у вигляді внутрішньоочних ін'єкцій препаратів, що має на меті пригнічення утворення неоваскуляризації [48]. Саме тому було припущено, що anti-VEGF терапія значно покращить зір і якість життя пацієнтів із «волоогою» формою ВМД. Однак, попри те, що цей вид лікування на сьогодні являється стандартом у протистоянні з «волоогою» формою хвороби, багато пацієнтів не реагують належним чином на терапію або ж відчують повільну втрату ефективності anti-VEGF агентів після їх повторного введення, а приблизно одна третина пацієнтів не отримує ефекту від даної терапії через макулярний фіброз або атрофію [178, 206, 235, 251].

Однією з можливих причин резистентності до цього виду лікування є ондонуклеотидні поліморфізми (ОНП) генів, які напряду чи опосередковано пов'язані з патофізіологією ВМД [9, 20, 249].

Наприклад, одним з потенційних кандидатів, який асоціюється з низькою відповіддю на anti-VEGF терапію, є поліморфізм rs2010963 гена VEGFA. Його наявність сприяє функціональній гіперактивності проангіогенної сигналізації внаслідок збільшення фактора VEGF, яка стимулює процеси неоваскуляризації в сітківці [51, 86, 135, 249]. Сучасні дані вказують, що у випадку ОНП rs2010963 резистентність до anti-VEGF терапії виникає через фармакодинамічну толерантність у результаті значного збільшення концентрації проангіогенного фактора, що стало однією з причин його вибору як гена кандидата для дисертаційної роботи [20, 67, 79].



На додачу, вченими було виявлено, що гіпоксія та місцеве запалення в сітківці також здатні стимулювати процеси неоваскуляризації через викид проангіогенних факторів імунними клітинами, тому було б важливо проаналізувати роль генів, які залучені до їх розвитку. Зокрема, через вплив на мікроглію все більше уваги приділяється гену *HTRA1* та його поліморфізму rs11200638, роль якого у виникненні «вологої» форми ВМД залишає все менше сумнівів [83, 132, 189, 190]. З усім тим, його місце в розвитку резистентності до anti-VEGF терапії досі лишається дискутабельним [150, 165].

Ще одним перспективним об'єктом дослідження є ген *TNF*, кодуєчий білок якого залучається до усіх запальних реакцій організму. Знову ж таки, на сьогодні виявлено, що підвищення експресії *TNF- $\alpha$*  сприяє виникненню «вологої» ВМД. Проте, вплив гена та його поліморфізму rs1800629 на резистентність до лікування anti-VEGF препаратами наразі є лише теоретичним і не підкріпленим практичними дослідженнями, що зумовило вибір ОНП rs11200638 та rs1800629 генів *HTRA1* і *TNF* відповідно як кандидатів для дисертаційної роботи.

### **Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами**

Дисертаційна робота є складовою частиною планової науково-дослідної роботи (НДР) кафедри очних хвороб Вінницького національного медичного університету (ВНМУ) ім. М.І. Пирогова МОЗ України на тему: «Мультидисциплінарний підхід до діагностики, лікування та профілактики захворювань органу зору травматичного, інфекційного, дегенеративного характеру на клітинному рівні», № державної реєстрації 0117U003119 і виконана відповідно плану наукових досліджень ВНМУ ім. М.І. Пирогова. Дисертант є співвиконавцем вказаної тематики НДР.

**Мета дослідження:** Визначити рівень резистентності до терапії афліберсептом при лікуванні вологої форми вікової макулярної дегенерації серед пацієнтів Подільського регіону та роль генетичних маркерів (поліморфних варіантів rs2010963 гена *VEGFA*, rs11200638 гена *HTRA1* та rs1800629 гена *TNF*) в персоналізації антиангіогенної терапії.

**Завдання дослідження:**

1. Визначити рівень резистентності до антиангіогенної терапії з використанням препарату афліберсепт серед пацієнтів з «вологою» формою вікової макулярної дегенерації, які є мешканцями Подільського регіону України.

2. Провести аналіз асоціації поліморфізму rs2010963 гена *VEGFA* з ризиком розвитку вологої форми вікової макулярної дегенерації. Оцінити значущість поліморфних варіантів rs2010963 щодо виникнення резистентності до анти-VEGF терапії.

3. Провести аналіз асоціації поліморфізму rs11200638 гена *HTRA1* з ризиком розвитку вологої форми вікової макулярної дегенерації. Оцінити значущість поліморфних варіантів rs11200638 щодо виникнення резистентності до анти-VEGF терапії.

4. Провести аналіз асоціації поліморфізму rs1800629 гена *TNF* з ризиком розвитку вологої форми вікової макулярної дегенерації. Оцінити значущість поліморфних варіантів rs11200638 щодо виникнення резистентності до анти-VEGF терапії.

*Об'єкт дослідження:* вікова макулярна дегенерація (МКХ 10–H35.3).

*Предмет дослідження:* прогностичне значення ОНП rs1800629, rs2010963 і rs11200638 генів *TNF*, *VEGFA* і *HTRA1* відповідно у виникненні резистентності до anti-VEGF терапії у хворих на «вологу» форму ВМД.

*Методи дослідження:* загальноклінічні (огляд, збір анамнезу), офтальмологічні (оптична когерентна томографія), молекулярно-генетичні (полімеразна ланцюгова реакція), статистичні (критерії Шапіро-Уїлка та

Колмогорова-Смирнова, критерії Вілкоксона та Стьюдента для залежних вибірок, логістична регресія, відносний ризик,  $\chi^2$ ).

### **Наукова новизна отриманих результатів:**

Вперше в популяції Подільського регіону України визначали зв'язок клінічної ефективності анти-VEGF терапії у пацієнтів із «вологою» формою ВМД з однонуклеотидними поліморфізмами rs11200638 гена *HTRA1*, rs2010963 гена *VEGFA* та rs1800629 гена *TNF*.

У результаті дослідження виявлено, що після проходження курсу антиангіогенної терапії з використанням препарату афліберсепт у пацієнтів з «вологою» формою ВМД у 33,4% випадків спостерігається резистентність до лікування. Середньогрупове значення гостроти зору у пацієнтів після лікування статистично значуще збільшилось з  $0,17 \pm 0,12$  до  $0,35 \pm 0,16$  ( $p < 0,05$ ). Хоча в усіх досліджених ділянках за даними ОКТ спостерігали тенденцію до зменшення товщини сітківки, зміни середньогрупових значень мали недостатній рівень статистичної значущості, що значною мірою обумовлено індивідуальними розбіжностями результатів лікування. Результати аналізу індивідуальної відповіді на антиангіогенну терапію за анатомічними критеріями в різних ділянках сітківки виявили тенденцію до більш вираженої резистентності в ділянці ОКТ8 (внутрішня скронева ділянка, inner temporal) – 40,74% очей ( $p = 0,07$ ).

Показана асоціація ОНП з rs2010963 гена *VEGFA*, rs11200638 гена *HTRA1* та rs1800629 гена *TNF* з ризиком розвитку «вологої» форми ВМД у мешканців Подільського регіону України. Зокрема, у гетерозиготних і гомозиготних носіїв мінорного алеля ОНП rs11200638 гена *HTRA1* шанси розвитку данної патології збільшені в 1,92 (95% ДІ 1,17 – 3,17) і 17,21 (95% ДІ 2,29 – 129,49) рази, відповідно ( $p < 0,0001$ ). Для гетерозиготних і гомозиготних носіїв мінорного алеля ОНП rs2010963 гена *VEGFA* показник відношення шансів становить 1,52 (95% ДІ 0,91 – 2,54) та 2,06 (95% ДІ 0,79 – 5,38), відповідно ( $p = 0,01$ ). Для гетерозигот і гомозигот за мінорним алелем ОНП rs1800629 гена *TNF*,  $VSH = 3,46$

(95% ДІ ) та ВШ = 1,77 (95% ДІ ), відповідно,  $p < 0,0001$ .

Не виявлено статистичної значущості асоціації ОНП rs11200638 гена *HTRA1* з відповіддю на лікування препаратом афліберсепт у пацієнтів з «волоогою» формою ВМД. Зв'язок між відповіддю на повний курс анти-*VEGF* терапії і ОНП rs2010963 гена *VEGFA* було виявлено в рецесивній моделі успадкування. Збільшений ризик резистентності до лікування показано для гомозиготних носіїв мінорного алеля (CC) за цим ОНП, ВШ = 2,13 (95% ДІ 1,06 – 4,28),  $p = 0,03$ . Виявлена асоціація ОНП rs1800629 гена *TNF* з відповіддю на проведення анти-*VEGF* терапії з використанням препарату афліберсепт. При цьому показано, що підвищений ризик резистентності до лікування цим препаратом існує як для гетерозигот (GA) – ВШ = 1,50 (95% ДІ 0,92 – 2,45,  $p = 0,03$ ), так і гомозигот за мінорним алелем (AA) – ВШ = 1,55 (95% ДІ 0.56 – 4.27,  $p = 0,03$ ), за цим ОНП.

### **Практичне значення отриманих результатів**

У ході роботи та проаналізовано ефективність та обґрунтовано доцільність оптимізації діагностики «волоогої» вікової макулярної дегенерації сітківки з використанням клінічних, інструментальних та молекулярно-генетичні методів.

Використання молекулярно-генетичного аналізу поліморфізмів rs2010963 гена *VEGFA* та rs1800629 гена *TNF* у сукупності зі стандартизованими алгоритмами діагностики вікової макулярної дегенерації сітківки дозволить значно підвищити ефективність діагностики захворювання та спрогнозувати його перебіг.

Отримані в роботі дані про розподіл алелей та генотипів досліджуваних однонуклеотидних поліморфізмів можуть бути використані в якості референтних при дослідженні генетичної схильності до розвитку та важчого перебігу «волоогої» форми вікової макулярної дегенерації сітківки.

Проведене дослідження демонструє необхідність комплексного обстеження хворих на цю патологію з метою прогнозування ризику резистентності до анти-*VEGF* терапії.

Вирахуване прогностичне значення досліджених генотипів та алелей щодо розвитку клінічної резистентності до анти-VEGF терапії при «вологій» віковій макулярній дегенерації сітківки можуть застосовуватись при формуванні груп хворих, які мало-/несприйнятливі до цього виду лікування.

Комплексний аналіз досліджуваних поліморфізмів у сукупності з наявними на сьогодні методами прогнозування перебігу захворювання і визначення чутливості до терапії дозволить значно підвищити ефективність лікування «вологої» вікової макулярної дегенерації сітківки шляхом побудови індивідуально-оптимальної терапевтичної стратегії для кожного пацієнта.

### **Впровадження в практику**

Результати даної роботи були впроваджені у план навчального процесу кафедри очних хвороб Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова.

### **Особистий внесок здобувача**

Дисертація є особистою науковою роботою здобувача.

Обрання напряму дослідження, ідеї його проведення, формулювання завдань та визначення методів дослідження сформовані спільно з науковим керівником – к. мед .н., проф. Н. В. Малачковою.

Науковий пошук і аналіз вітчизняних та закордонних літературних джерел за тематикою дисертаційного дослідження був проведений автором особисто. У процесі виконання дисертаційної роботи автором визначені мета дослідження, проведений патентно-інформаційний пошук, написані усі розділи роботи.

Дисертант самостійно здійснював рандомізований відбір хворих у групи дослідження з подальшим шифруванням та інтерпретацією даних шляхом створення їх бази. Молекулярно-генетичні дослідження були виконані на базі Навчально-наукової клініко-діагностичної лабораторії полімеразно ланцюгової реакції Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова. Автором самостійно був здійснений аналіз отриманих результатів дослідження та статистична обробка даних.

Разом з науковим керівником к. мед. Н., проф. Н. В. Малачковою було проаналізовано та узагальнено отримані результати, сформовано їх практичну значимість, положення наукової новизни, а також оформлено висновки роботи.

У наукових працях, опублікованих у співавторстві, здобувачу належить провідна роль у визначенні мети, завдань, зборі клінічного матеріалу, статистичній обробці та аналізі отриманих результатів.

### **Апробація результатів дисертації**

Основні положення й результати роботи були представлені на X Міжнародній науково-практичній конференції «Eurasian Scientific Discussions» (23-25 жовтня 2022 р., м. Барселона, Іспанія); VIII Міжнародній науково-практичній конференції «Modern Research in World Science» (29-31 жовтня 2022 р., м. Львів); II Міжнародній науково-практичній конференції «Scientific Progress: Innovations, Achievements and Prospects» (6-8 листопада 2022 р., м. Мюнхен, Німеччина).

### **Публікації**

Основні результати дисертаційної роботи викладені у 7 публікаціях. Опубліковано 4 статті у наукових фахових виданнях України відповідно до переліку наукових фахових видань України. Крім того, опубліковано 3 тези доповідей – в матеріалах науково-практичних конференцій, включаючи 2 іноземні.

### **Структура та обсяг дисертації**

Дисертація викладена українською мовою на 151 сторінці комп'ютерного тексту і містить вступ, шість розділів, висновки, практичні рекомендації, список використаних джерел. Дисертація ілюстрована 13 таблицями та 6 рисунками. Список літератури містить 255 джерел латиницею.

## РОЗДІЛ 1

# СУЧАСНИЙ ПОГЛЯД НА ПРОБЛЕМУ ВІКОВОЇ МАКУЛЯРНОЇ ДЕГЕНЕРАЦІЇ НА ОСНОВІ ГЕНЕТИЧНИХ ПОЛІМОРФІЗМІВ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

### 1.1 Патофізіологічні аспекти розвитку ВМД: сучасні дані.

Як відомо, сітківка являє собою прозору тканину, яка вистилає внутрішню частину ока та є частиною центральної нервової системи [17]. З віком функція сітківки, зокрема, її центральної частини – макули, зазнає дегенеративних змін з розвитком вікової макулярної дегенерації (ВМД), що клінічно проявляється прогресивним зниженням зору [21, 77, 117].

Зважаючи на патофізіологічні особливості розвитку захворювання, розрізняють «суху» (при переважанні атрофічних змін сітківки) та «вологу» (при наявності неоваскуляризації) [23, 90]. Діагноз «сухої» (атрофічної) ВМД ставиться при наявності в пацієнта друз на ранній або проміжній стадії захворювання, або при переважанні географічної атрофії сітківки, яка виникає насамперед через втрату зовнішньої тканини сітківки (шар пігментного епітелію (ПЕС)) та навколишньої судинної мережі, зокрема, мембрани Бруха та хоріокапіляру [181, 216, 243].

Фізіологічно пігментний епітелій підтримує гомеостаз ретіни шляхом регуляції фагоцитозу, електролітного балансу, поглинання поживних речовин структурними елементами сітківки (паличками та колбочками) [95]. Порухення його нормальної роботи є однією з початкових та основних явищ, які ведуть до клінічної маніфестації «сухої» ВМД. Його дисфункція, яка спостерігається при ВМД, веде до ураження фоторецепторного шару, що перешкоджає фототрансдукції та нормальному сприйняттю зорових подразників [19, 148, 186].

Так, ураження цього шару сітківки веде до порушення гемато-

ретиального бар'єру, а також дисфункції клітин при захопленні та деградації вільних радикалів кисню [43, 175]. Вважається, що ключовими факторами в ураженні ПЕС є вікова фагоцитарна та метаболічна недостатність постмітотичних клітин пігментного шару. Окремі автори вказують на приналежність певних генетичних факторів у розвитку абнормальної роботи ПЕС. Наприклад, Terasaki H. Et al. виявив, що надмірна активність гена TNF негативно впливає на концентрацію проангіогенного фактора VEGF, що сприяє атрофії та розвитку «сухої» ВМД [209]. Водночас Efstathiou N. Et al. встановили, що надмірна активність гена сприяє розвитку місцевого запалення в ділянці пігментного епітелію, що також погіршує прогноз хвороби [53].

У результаті порушення роботи ПЕС відбувається накопичення гранул ліпосфугину («вікового пігменту»). Один з його компонентів – бісретиноїдний флуорофор, який є фотоіндукованим генератором реактивних форм кисню, у надмірній кількості чинить пошкоджувальний вплив на основні органели клітин сітківки, тим самим викликаючи їх атрофію та розвиток «сухої» форми ВМД [111].

Як вже було сказано, судинна оболонка і хоріокапіляр також залучені у патогенез ВМД. Вважається, що схильність до захворювання зростає через мікросудинні ураження цих структур унаслідок впливу певних системних захворювань, зокрема, гіпертонії та атеросклерозу. Своєю чергою мікросудинні ушкодження ведуть до розвитку ішемії та місцевого запального процесу, наслідком чого є дегенерація клітин макули [21].

Водночас мембрана Бруха опосередковує взаємодію між ПЕС та хоріокапіляром і відіграє важливу роль у розвитку неоваскулярних уражень при ВМД [173, 220]. Іншим поширеним патогенним компонентом ВМД є друзи – позаклітинні аморфні відкладення, що накопичуються між пігментним епітелієм сітківки та внутрішньою колагеновою зоною мембрани Бруха [45, 176, 199, 200]. Залежно від їх розміру та форми вони поділяються на «тверді» та «м'які» [217, 250]. Друзогенез є складним і багатофакторним процесом, який триває роками



[69, 160]. Сучасні теорії утворення друз вказують, що на їх розвиток впливають не лише вікові зміни у сітківці та її функціонуванні, але й активація імунної системи з подальшим розвитком місцевого запального процесу [47, 101, 231].

Зокрема, імуногістохімічний аналіз друз виявив наявність у них імуноасоційованих клітин або їх елементів, наприклад, залишки дендритних клітин, імуноглобуліни, фактор комплементу Н та комплекс мембранної атаки (МАС, С5b-9) [151, 168]. Останній є небезпечним фактором не лише для чужорідних патогенів, але й для місцевих клітин та тканин господаря, таких як ПЕС, фоторецептори, тощо [119].

Таким чином, згідно з даними сучасних досліджень, локальне запалення та активація каскаду комплементу з неконтрольованою генерацією МАС можуть активно сприяти друзогенезу, дегенерації ПЕС/фоторецепторів та руйнуванню мембрани Бруха. Остання також пов'язана з неоваскулярною ВМД пізньої стадії [52, 96]. Ряд досліджень також вказують на приналежність певних генетичних факторів, залучених до функціонування імунної системи, зокрема генів HTRA1 та TNF, до розвитку ВМД [57, 125, 127, 247].

«Волога» (ексудативна або неоваскулярна) ВМД є найпоширенішою формою прогресивної ВМД. Так, за даними статистики 10-15 % усіх атрофічних форм ВМД трансформуються в неоваскулярні. Водночас в рідкісних випадках може спостерігатися поєднання атрофічних та неоваскулярних ознак ВМД при переході однієї форми в іншу [91]. Неоваскуляризація, яка виникає при «вологій» формі, призводить до крововиливів у внутрішніх шарах сітківки або субретинальному просторі, що в кінцевому результаті веде до фіброзу ураженої ділянки та незворотнього погіршення зору до повної сліпоти [139, 244].

У нормі про- та антиангіогенні системи збалансовані, проте, при надмірній активності проангіогенних факторів, зокрема білку VEGF, у певних ділянках сітківки починається активний ріст судин, які, внаслідок хаотичності росту, характеризуються ламкістю та звивистістю [123, 208, 249]. Сам процес неоваскуляризації залежить від великого числа факторів. Безпосередньо росту

судин сприяє підвищення проангіогенних білків, найпоширенішим з яких є фактор росту ендотелію судин – VEGF. Через його вплив вважається, що порушення в роботі гена VEGFA, відповідального за кодування проангіогенного фактора, також веде до більшого ризику виникнення неоваскулярної форми ВМД [29, 59, 107, 123]. Схожий патогенез «вологої» ВМД виникає при зниженні активності антиангіогенних чинників, наприклад, фактора, отриманого з пігментного епітелію – PEDF, що також веде до надмірної функціональної проангіогенної сигналізації VEGF > PEDF [82, 166, 245, 249].

Сучасна точка зору припускає, що в ініціації та розвитку неоваскулярної ВМД вагому роль також можуть грати й імунні реакції, які виникають внаслідок ішемії, яка, своєю чергою, розвивається через порушене кровопостачання в неоваскуляризованих ділянках [37, 44, 203, 252]. При цьому вважається, що можливість певних клітин фагоцитарної системи (нейтрофілів, макрофагів, тощо) продукувати проангіогенні фактори тільки посилює ріст нових судин та погіршує перебіг захворювання [10, 154, 161].

Глибоке розуміння етіології та патогенезу ВМД здатне пролити світло на його перебіг та шляхи переривання. Сучасні методи досліджень дозволяють на молекулярному та генетичному рівнях вивчати патофізіологічні аспекти ВМД. Однак, деякі питання досі потребують відповідей, наприклад, проблема резистентності до стандартизованих методів лікування при «вологій» формі захворювання. Тому особлива увага вчених приділяється генетичним факторам як одним із ключових предикторів перебігу та ефективності лікування патології, а саме ОНП, які пов'язують гетерогенні ланки патогенезу та розглядаються як потенційні мішені для терапії.

## 1.2. Зв'язок генетичних поліморфізмів із розвитком ВМД.

Генетична дисрегуляція процесів, таких як оксидативний стрес та метаболізм ліпідів, які вважаються провокативними факторами ВМД, становить 46-71% ризику захворювання [48]. Нещодавні дослідження геномних асоціацій успішно виявили множинні одонуклеотидні поліморфізми (ОНП), пов'язані зі сприйнятливістю до ВМД [112, 150, 152].

Різноманітні ОНП можуть призводити до надмірного виділення прозапальних цитокінів, які спричиняють дегенеративні процеси, що лежать в основі патогенетичних механізмів розвитку ВМД. Також зміни в генетичному матеріалі можуть впливати на потовщення судинної стінки, що в майбутньому викликає оксидативний стрес. Окрім цього, зміна експресії генів зумовлює порушення розвитку мікрофіламентів судинної стінки, що спонукає до патологічних змін у структурі тканини. Усе перелічене ймовірно відбувається при «вологій» формі ВМД та пов'язане, зокрема, з поліморфізмами rs11200638 гена *HTRA1*, rs2010963 гена *VEGFA* та rs1800629 гена *TNF*.

*HTRA1* представляє собою сімейство серинових протеаз, які виконують функцію нормального дозрівання та апоптозу білка [196]. Вони належать до родини пептидаз MEROPS S1, підродина S1C [236]. Вони функціонально регулюють доступність інсуліноподібних факторів росту (IGF) шляхом розщеплення IGF-зв'язуючих білків та являються регуляторами росту клітин [71]. Ген *HTRA1* розташований на довгому плечі 10 хромосоми у локусі 26.13 та складається з 480 амінокислот [55, 71, 78, 94, 155].

Існують твердження базовані на дослідженнях представників європейських та азійських популяцій, що поліморфізм rs11200638 гена *HTRA1*, який розташований у його промоторній ділянці (також відомий як -625 G>A) та впливає на рівень експресії однойменного білка, пов'язаний зі схильністю до розвитку неоваскулярної ВМД [132, 134, 150, 152, 158, 190]. Окрім цього, є дані, що при носійстві алелі А або наявності генотипу АА rs11200638 підвищується ризик розвитку «вологої» ВМД майже у 26 разів [204]. Виявлено, що утворення

друз, які є однією з основних клінічних ознак ВМД, відбувається за рахунок хороїдальної неоваскуляризації в макулі, що може бути пов'язано з надмірною експресією гена *HTRA1* [162]. Також його гіперпродукція ймовірно спричиняє зниження фагоцитозу через порушення захисних механізмів у тканинах [68, 147].

За рахунок мутантного генотипу ОНП rs11200638 підвищуються рівні білка *HTRA1* у друзах, пігментному епітелії сітківки та хороїдальних неоваскулярних мембранах ока у хворих із ВМД, що підтверджується даними протеомного аналізу [100]. Теж відомо, що він може призводити до внутрішньоклітинної деградації тубуліну, за рахунок чого зменшується кількість мікротрубочок [147].

Тому вчені вважають, що надмірна експресія *HTRA1* може змінити цілісність мембрани Бруха та прискорити розвиток неоваскуляризації у тканинах сітківки шляхом інвазії хороїдальних капілярів через позаклітинний матрикс [137, 150, 255]. *Beguier F. Et al.* У своєму дослідженні показують, що підвищена експресія *HTRA1* у моноцитах та макрофагах пов'язана з ризиком ВМД шляхом посилення запальної реакції [16]. Крім того, *Zhang et al.* Повідомляють, що ген *HTRA1* відіграє ключову роль у надмірному ангиогенезі через трансформацію фактора диференціації росту  $\beta$ , що входить до складу членів сімейства факторів росту- $\beta$  [248].

У той час як *VEGFA* представляє собою тирозинкіназний глікопротеїн, який грає важливу роль у міграції і проліферації ендотеліальних клітин та приймає участь у ангиогенезі [36, 126]. Ген *VEGFA* є членом сімейства факторів росту PDGF/VEGF та кодує гепарин-зв'язуючий білок VEGF, який існує у вигляді гомодимеру з дисульфідним зв'язком [126]. Основною функцією сімейства глікопротеїнів є утворення кровоносних судин *de novo* (стимулюють васкулогенез, як при ембріональному розвитку) та ангиогенез (утворення нових кровоносних судин із вже наявних судин) шляхом активації клітинних сигнальних шляхів [27, 124].

Ген *VEGFA* локалізується на короткому плечі 6 хромосоми у положенні

21.1 [56, 73]. При активації він продукує білкову полімерну структуру довжиною 232 амінокислот та молекулярною масою 27042 Да [73]. На сьогодні найчастіше вивчається асоціація патологій із поліморфізмом rs2010963 (також відомим як +405G/C), розташованим у 5'-нетрансльованій області [138]. Даний ОНП підвищує синтез VEGF, результатом чого є неоваскуляризація у сітківці. При цьому, утворена стінка судин є високопроникною, через що вміст має тенденцію просочуватись у шари сітківки, сприяючи фіброзному гліозу, який призводить до утворення дископодібного рубця, а також більш крихкою, що в кінцевому випадку призводить до крововиливів та різкої втрати зору, особливо при відсутності належного лікування [22]. Окрім цього, у гені VEGFA загалом відмічаються можливими 15-19 мутацій [213].

При дослідженні осіб європеїдної раси Huang et al. Встановили, що мутантний генотип гена *VEGFA* поєднаний з підвищеною схильністю до ВМД, а носії мутантної алелі С демонструють значно більший ризик розвитку тяжких форм захворювання [92, 221]. Також вчені вказують на наявність взаємозв'язку між поліморфізмом rs2010963 у гені *VEGFA* та розвитком ВМД [14, 92].

Дані наукових праць останніх років свідчать про те, що надмірне накопичення ліпофусцину, а саме одне з його з'єднань А2Е, може впливати на експресію гена *VEGFA*, що в майбутньому, можливо, зумовлює розвиток вікової макулярної дегенерації [141]. Відомо, що «волога» форма характеризується проростанням нових судин, які утворюються з хоріокапілярів, через мембрану Бруха [133, 221]. Згідно з науковими даними, фактор росту ендотелію судин А відіграє важливу роль у регуляції утворення нових судин [32, 146]. У літературних джерелах описується, що хоріокапіляри у хворих на ВМД зазнають зниження щільності [195]. До того ж, істотним чинником розвитку ВМД є запалення, що характеризується збільшеною секрецією макрофагів та активацією мікроглії сітківки. Внаслідок цих процесів відбуваються дегенеративні зміни у сітківці, при чому виділяється надмірна кількість VEGFA [143, 163]. Через усі вищеописані трансформації значно підвищується

проникність судин, що спричиняє потрапляння прозапальних факторів у просвіт клітин, які, у свою чергу, призводять до дегенерації [206, 221].

Вчені стверджують, що патологічна експресія гена *VEGFA* породжує оксидативний стрес, який виснажує тканини сітківки та унеможлиблює окиснення речовин, тому здійснюються фенотипові зміни, що тягнуть за собою майбутній розвиток ВМД [128, 184].

Водночас висока насиченість ділянки макули судинами, а отже й медіаторами запалення, привертає увагу до регулятора запальної відповіді першого порядку – фактора некрозу пухлин. Як відомо, фактор некрозу пухлин-альфа ( $TNF-\alpha$ ) є цитокином із надшироким спектром функціональних властивостей, що варіюють від класичного шляху альтерації, запалення та запрограмованої клітинної загибелі (апоптозу) до менш традиційних міжклітинних зв'язків та комунікацій у сигнальних шляхах [207, 223]. Окрім цього,  $TNF-\alpha$  грає важливу роль в ініціюванні патологічного ангиогенезу та вивільненні численних прозапальних цитокінів, які призводять до розвитку великої кількості патологічних станів, зокрема до ВМД [105, 229].

$TNF$  представляє собою плейотропний цитокін, який бере участь у підтриманні гомеостазу та є однією з основних ланок у патогенезі запальних реакцій за рахунок активації механізмів, які викликають некроз та виділення прозапальних факторів [106, 145]. Дослідження останніх років показали, що в клітинах сітківки при ВМД некроз відбувається частіше, аніж запрограмована смерть клітини [85, 88, 238]. Багатофункціональний прозапальний цитокін кодується геном *TNF*, який знаходиться на короткому плечі 6 хромосоми у локусі 21.3, що кодує III клас основного комплексу гістосумісності, та має довжину 2772 азотисті основи [103, 156, 174, 214, 54]. Він містить у собі 233 амінокислоти, має молекулярну масу 25644 Да [72]. Однонуклеотидний поліморфізм rs1800629 впливає на експресію гена *TNF* та розташований у його промоторній області перед ініціатором транскрипції, на 308 нуклеотиді, тому також відомий як ОНП G-308A [1, 3]. У цьому положенні аденін змінюється на гуанозин, що сприяє

збільшенню активності прозапального маркера TNF- $\alpha$  [253].

Старіння, запалення та порушення регуляції комплементу, що впливають на ПЕС, вважаються важливими факторами патогенезу, і декілька доказів пов'язують із TNF- $\alpha$  при ВМД [53, 89]. Тут особливо зацікавлюють запальні клітини, зокрема макрофаги, які були гістологічно репрезентовані в областях руйнування мембрани Бруха, атрофії ПЕС та неоваскуляризації судинної оболонки [51]. Також Nussenblatt та Ferris заявили про важливість пригнічення імунного середовища в оці [51, 62]. Згідно з цією теорією, природне середовище ока призначене для пригнічення запалення, завдяки чому підтримується рівновага. Тому будь-який дефект ока призведе до надмірної імунної відповіді [191, 194]. Виявлено, що мембранозв'язаний протеїн попередник TNF- $\alpha$  (mTNF- $\alpha$ ) має здатність переходити у розчинну форму і поширюватися організмом, зокрема проникати у ділянку сітківки [172]. У такій формі TNF має надважливе значення для внутрішньоочної імунної реакції, яку називають «девіацією імунітету, пов'язаною з передньою камерою», а також для ауторегуляції апоптозу внутрішньоочних клітин [102].

Відомо, що TNF- $\alpha$  може призводити до зміни експресії молекул, що зумовлює адгезію лейкоцитів, а в подальшому спричиняє зміни в кровопостачанні та розвитку запальної реакції [33, 65]. Неадекватна імунна відповідь, яка може бути спричинена дисрегуляторними змінами у експресії гена *TNF*, за таких умов можливо призводить до розвитку ВМД, а мутантний генотип поліморфізму rs1800629 зумовлює дисбаланс регуляції запальних процесів, що викликає дегенеративні зміни у сітківці [34]. Підвищена кількість TNF- $\alpha$  була знайдена в ішемізованій сітківці, тому відомо, що його надмірне виділення викликає неоваскуляризацію та фіброз клітин сітківки, що є основним патогенетичним механізмом розвитку ВМД [98, 106, 104, 224]. Окрім цього, повідомляється, що підвищені рівні TNF- $\alpha$  присутні у сироватці крові та у водянистій волозі камер ока при кількох захворюваннях очей, що вражають сітківку і викликають набуту сліпоту, до прикладу при проліферативній

діабетичній ретинопатії та «вологій» формі ВМД [68]. Індуковані ним прозапальні медіатори, такі як TGF $\beta$ 1, TGF $\beta$ 2, TNF- $\alpha$  та IL-6, були причетні до прогресування захворювання сітківки [229].

Існують дані, що TNF має здатність активувати продукцію факторів транскрипції, прикладом чого є ядерний фактор NF- $\kappa$ B. Дана речовина відповідає за регулювання процесів запалення в клітині та фізіологічного функціонування факторів комплементу. У випадку надмірної продукції NF- $\kappa$ B можуть спостерігатися зміни, які призводять до розвитку ВМД [182, 211].

### **1.3. Асоціація генетичних поліморфізмів із ефективністю anti-VEGF терапії.**

Серйозний прорив у лікуванні «вологої» форми ВМД створило введення антиангіогенних препаратів, тобто застосування таргетної терапії. Раптово, завдяки цьому, функціональний прогноз змінився від майже повної сліпоти до більш ніж 90 % ймовірності покращення зору після двох років лікування [90]. Проте, навіть після такого прогресу терапія далека від досконалості оскільки є достатньо кошовною та довготривалою. При застосуванні anti-VEGF терапії найвищу ефективність показує введення біологічно активних агентів у склисте тіло – інтравітреально [201, 215]. Клінічний ефект інгібіторів VEGF досягається більшою мірою через зменшення проникності судин, а не завдяки пригніченню біологічного фактора – це залишає простір для варіабельності результатів лікування [201]. Окрім того, попри цілий ряд сучасних anti-VEGF препаратів, досі зберігається певний відсоток пацієнтів, клінічна ефективність у яких є недостатньою, що пов'язано з різними ендогенними та екзогенними факторами [90]. Так, за даними Farnoodian M. Et al. До 20 % пацієнтів після повного курсу лікування продовжують втрачати зір, хоч і приймають комбіновані терапевтичні схеми антагоністів VEGF. Це наводить на думку про регуляторні впливи інших факторів, зокрема, однонуклеотидних поліморфізмів [60].



Генетичний профіль, ймовірно, робить свій внесок у варіабельність терапевтичної відповіді. Тому на сьогодні перспективним є використання генної терапії на противагу таргетній [126, 205]. У поточних клінічних випробуваннях генної терапії ВМД використовуються дві основні стратегії, що ґрунтуються на внутрішньоочній ін'єкції вірусних векторів, що кодують антиангіогенні білки, або некодуючих молекул інтерференції РНК, націленої на надекспресію VEGF [66, 126]. Незважаючи на позитивні ефекти нової anti-VEGF терапії, її застосування ускладнюється тим фактом, що пацієнти повинні пройти кілька повторних ін'єкцій з подальшим клінічним контролем. Враховуючи велику кількість пацієнтів, які потребують лікування, це є серйозною фінансовою проблемою, що вказує на важливість завчасного визначення пацієнтів, які не відповідають на лікування позитивно. Однією з таких можливостей є ідентифікація ОНП, які пов'язані з кращими результатами лікування [24].

Як відомо, надлишкове лікування anti-VEGF може спричинити атрофію ПЕС та поганий зоровий прогноз у пацієнтів із ВМД [11, 237]. Тому, крім проведення генетичного тестування для попереднього встановлення необхідності застосування anti-VEGF терапії, його результати також є важливими для коригування цієї терапії та спостереження за перебігом лікування з передбаченням очікуваного результату та встановленням ефективності залученого методу.

Відомо, що ген *HTRA1* кодує однойменний протеїн, який через інгібування TGF- $\beta$  здатен модулювати ангіогенез, тим самим створювати опосередкований вплив на ефективність anti-VEGF [150]. Повідомлення про асоціацію гена *HTRA1* з відповіддю на anti-VEGF терапію нині суперечливі. У дослідженні Abedi F. Et al. Повідомляється про позитивну візуальну динаміку змін при офтальмологічному обстеженні після anti-VEGF лікування [2, 46]. Натомість у інших надійних фармакогенетичних дослідженнях CATT (Comparison of Age-Related Macular Degeneration Treatments Trials) та IVAN (Alternative Treatments to Inhibit VEGF in Patients with Age-Related Choroidal Neovascularization) не виявили

доказів зв'язку [84, 136]. Генетичні варіанти в локусі 10q26 продемонстрували вагомі докази сприйнятливості до ВМД, однак їх біологічний механізм досі повністю не вивчений [6, 165, 222].

Наявні у аналізі Lu Z. et al. дані стверджують про те, що *HTRA1* може бути міцним передвісником застосування anti-VEGF терапії. У запропонованій вченими схемі розвитку «вологоді» ВМД першість належить гену *HTRA1*, який опосередковано через MMP9 впливає на VEGF, що призводить до захворювання [140, 225]. Тому, ймовірно, *HTRA1* може відігравати суттєву роль у відповіді на лікування ВМД. Так, Diaz-Villamarin X. Et al. Розкрили значну асоціацію з *HTRA1* та терапевтичною відповіддю на anti-VEGF лікування «вологоді» ВМД, крім того, відмітивши варіабельну реакцію пацієнтів на терапію [50].

На прикладі корейської популяції науковці Kang H. K. Et al. Показали, що відповідь на лікування ВМД була різною залежно від генотипу гена *HTRA1*, а також засвідчують, що пацієнти з алеллю ризику мали кращу реакцію на лікування та менше потребували додаткових ін'єкцій [108, 144]. Інші вчені з країн Азії підтверджують попередню інформацію, пояснюючи різну реакцію на лікування тим, що наявність алелі ризику може призводити до змін транскрипційної активності, внаслідок чого здійснюється вплив на нормальну активність білків [109, 150]. На противагу цьому, при вивченні пацієнтів із «вологоді» ВМД з іспанської популяції, Cruz-Gonzalez et al. Не виявили відмінностей між розподілом поліморфізму та відповіддю на лікування, хоча і спостерігали, що носії генотипу ризику AA частіше мали негативну реакцію на терапію [42, 164].

Zhou Y. Et al. У власному мета-аналізі показали, що ефект лікування anti-VEGF залежно від генотипу за поліморфними варіантами *HTRA1* залишається спірним. Деякі дослідження виявили значний зв'язок між rs11200638 і відповіддю пацієнта та вказували на сильні фармакогенетичні асоціації; інші ж не виявили статистично фармакогенетичних зв'язків між поліморфізмом rs11200638 в гені *HTRA1* і відповіддю на anti-VEGF терапію [39, 255]. Хоча, у

цих дослідженнях вчені вагалися щодо специфічності впливу ОНП, беручи до уваги також форму захворювання, супутню патологію та особливості препаратів, що застосовувались [255].

Таргетна anti-VEGF терапія моноклональними антитілами очікувано полегшує перебіг неоваскулярної ВМД у більшості пацієнтів, хоча від 5 до 10 % пацієнтів все одно втрачають  $\geq 15$  букв при оцінці гостроти зору, попри лікування [178, 179]. Відомо про позитивний ефект таргетної anti-VEGF терапії, яка має здатність безпосередньо діяти на ген *VEGFA* [31, 177].

Управління контролю за продуктами та ліками США (Food and Drug Administration, FDA) схвалили препарати для лікування ВМД, перевагами яких є висока специфічність до *VEGFA* порівняно з іншими засобами – неселективними інгібіторами [63, 126]. Однак, як вже було зазначено вище, у двох багатоцентрових рандомізованих клінічних випробуваннях CATТ та IVAN повідомили про недостатній статистично значущий зв'язок між генотипом пацієнта та його чутливістю до anti-VEGF терапії [165, 254].

На противагу попереднім даним, у мета-аналізі Zhou Y. Et al. Стверджують, що ген *VEGFA* пов'язаний із лікуванням «вологоді» ВМД, тому його ефект залишається спірним [255]. Окрім цього, Miyake M. Et al. Повідомляють, що поліморфізм *VEGFA* асоційований з відповіддю на інтравітреальне введення anti-VEGF препаратів, а генетичні варіанти ОНП слід розглядати як прогностичні фактори лікування «вологоді» форми ВМД [149]. Також науковці Hagstrom S. A. Et al. Повідомляють про неоднозначні результати позитивного ефекту від anti-VEGF терапії у осіб з поліморфізмом rs2010963 гена *VEGFA* [84]. Так, вчені стверджують, що хоч *VEGFA* відіграє ключову роль у регулюванні ангиогенезу та запалення характерного для неоваскулярної форми ВМД шляхом стимулювання росту нових кровоносних судин, а у клінічних випробуваннях відмічають різке і тривале покращення зору у пацієнтів після застосування anti-VEGF терапії, існують індивідуальні варіації у початковій відповіді на лікування та тривалості клінічного ефекту [83].

Одним із логічних пояснень мінливості відповіді на лікування можуть бути відмінності у генетичному фоні. Добре встановлено, що саме кілька генетичних варіантів пов'язані з розвитком та прогресуванням ВМД. А, отже, ймовірно вони ж у сукупності здатні впливати на ефективність anti-VEGF терапії [83, 84].

Наступною стратегією виявлення фармакогенетичних маркерів, які можуть передбачити антиангіогенну терапію, є аналіз поліморфізмів у генах у межах сигнального шляху VEGF, який кодований геном *VEGFA*. Він діє через специфічні рецептори тирозину, з яких VEGFR-2 опосередковує більшість ангіогенних ефектів VEGF [170]. Відомо, що новітні препарати anti-VEGF терапії безпосередньо впливають на ці структури [28]. Це твердження спричинило проведення численних досліджень, у результатах яких відмічається, що генетичні варіації *VEGFA* можуть відігравати роль у патогенезі ВМД, однак у наукових роботах заперечують зв'язок ОНП гена *VEGFA* із відповіддю на лікування «вологої» форми ВМД антиангіогенними препаратами [83]. Отримана інформація свідчить про неоднозначні результати впливу поліморфізму *VEGFA* на ефективність застосування anti-VEGF агентів.

У дослідженні вчених Boltz A. Et al. Було на меті перевірити гіпотезу про те, що поліморфізми гена *VEGFA* можуть передбачити успіхи лікування інгібіторами VEGF у пацієнтів із ексудативною ВМД. У висновку науковці стверджують, що відповідь на інтравітреальне anti-VEGF лікування безпосередньо залежала від SNP rs2010963 [24].

ВМД проявляється крізь різноманітні патогенетичні механізми, зумовлені дисбалансом у експресії генів. TNF спричиняє запальну реакцію шляхом виділення прозапальних цитокінів та ядерного фактору, зокрема NF-kB [82, 110, 182, 219, 229]. Відомо, що при призначенні таргетної anti-VEGF терапії спостерігається блокування неоваскуляризації, яка є одним із основних патогенетичних механізмів розвитку ВМД. Однак, існують дані про те, що при anti-VEGF лікуванні також ініціюється інший механізм ураження сітківки, який відрізняється від процесів неоваскуляризації, зокрема, важливим є пошкодження

структур сітківки шляхом активації численних запальних процесів, які сприяють деструктивним змінам [59, 228]. До прикладу, нижчі рівні TNF- $\alpha$  у сироватці крові були пов'язані зі збільшенням гостроти зору після anti-VEGF терапії. Це свідчить про те, що орієнтація на прозапальні цитокіни може покращити прогноз лікування неоваскулярної форми ВМД [87, 115, 142].

Існують підтвержені дані, що TNF здатен взаємодіяти зі специфічними рецепторами TNFR1 і TNFR2, які являються сайтами зв'язування для активації імунних клітин з метою поширення запалення [64, 227, 58]. Активація цих рецепторів за допомогою TNF- $\alpha$  запускає швидкий ланцюг внутрішньоклітинних сигнальних подій, включаючи динамічні посттрансляційні модифікації (убіквітинування, деубіквітинування і фосфорилування), що призводять до утворення білкових комплексів, які регулюють клітинні відповіді [64, 188].

Враховуючи, що рівні вільно циркулюючих медіаторів корелюють зі статусом поліморфізмів гена *TNF*, зокрема, відомо, що заміна G/A в позиції 308 вище від сайту ініціації транскрипції при поліморфізмі rs1800629 пов'язана з вищою швидкістю транскрипції та підвищеними рівнями TNF- $\alpha$ , що робить доцільним застосування молекулярно-генетичних методів діагностики [75].

## Резюме

За сучасними даними, патофізіологія обох форм ВМД ґрунтується на наявності дистрофічних змін насамперед у ділянках пігментного епітелію та навколишньої судинної мережі (хоріокапіляру та мембрани Бруха). Остання залучена до розвитку «вологої» форми хвороби, яка трансформується у 15 % пацієнтів із «сухою» ВМД. Вона характеризується розвитком неоваскуляризації в сітківці, яка виникає через порушення роботи про- та антиангіогенних факторів і веде до розвитку крововиливів, фіброзу, та незворотної втрати зору. Водночас ряд авторів вказує на приналежність локальних імунних реакцій у виникненні обох форм ВМД та залученість генетичних поліморфізмів до патофізіології та перебігу хвороби, а також резистентності до лікування. Зокрема, відомо, що

мутантні генотипи певних однонуклеотидних поліморфізмів можуть впливати на ефективність anti-VEGF терапії, а відсутність конкретно виявленої асоціації вчені пояснюють тим, що різні генетичні варіанти у сукупності ймовірно здійснюють вплив на ефективність anti-VEGF лікування.

## РОЗДІЛ 2

### МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

#### 2.1. Дизайн дослідження і клінічна характеристика хворих.

Для досягнення мети та виконання завдань роботи, наше дослідження було організовано почергово у декілька самостійних етапів.

Перший етап дослідження – це проведення комплексу робіт з оцінки сучасної проблеми лікування «вологої» форми ВМД. У результаті було вивчено патогенез захворювання та визначено ОНП конкретних генів для наступного встановлення їх впливу на формування ефективності anti-VEGF терапії.

Другий етап дослідження – розробка комплексної діагностики «вологої» форми ВМД з застосуванням клінічних, інструментальних та лабораторних досліджень у галузях офтальмології та молекулярної генетики; визначення основних аспектів проведення anti-VEGF терапії та встановлення критеріїв дослідження її ефективності.

Третій етап дослідження – узагальнення отриманих результатів.

Наше дослідження було просте когортне дослідження типу «випадок-контроль» та носило проспективний характер. Клінічні дослідження за хворими на вікову макулярну дегенерацію виконували в період з 2019 по 2021 роки на базі ТОВ «ОПТИМАЛ-М» (м. Вінниця). Дотримувались етичних принципів Гельсінської Декларації Всесвітньої медичної асоціації (World Medical Association Declaration of Helsinki; 1964) у роботі з обстежуваними. Дослідження розпочинали після отримання згоди пацієнта, що підтверджувало їх добровільну участь.

Досліджували 267 пацієнтів, серед яких 162 пацієнта з «вологою» формою ВМД – основна група, та 105 пацієнтів без ВМД – група порівняння.

Серед обстежених було чоловіки та жінки, вік яких становив – від 40 до 89 років.

У дослідженні застосували такі критерії відбору:

**Критерії включення пацієнтів у дослідження:**

1. Вік пацієнта 40 років та більше;
2. Наявність підтвердженої вікової макулярної дегенерації (основна група) або її відсутність (група порівняння);
3. Інформована письмова згода пацієнта (представника пацієнта) на участь в дослідженні;
4. Здатність пацієнта до адекватної співпраці в процесі дослідження.

**Критерії невключення:**

1. Вік пацієнтів менше 40 років;
2. Неможливість проведення офтальмоскопії та ОКТ;
3. Наявність глаукоми або інших офтальмологічних захворювань, що можуть знижувати гостроту зору;
4. Системні захворювання (цукровий діабет, ревматизм тощо);
5. Наявність психічних захворювань та розладів, що заважатимуть пацієнтові розумінню умов участі в дослідженні.
6. Наявність інтраокулярних оперативних втручань в анамнезі.

**Критерії виключення пацієнтів із дослідження:**

0. Відмова пацієнтів проходити певні етапи діагностичних досліджень або недотримання строків проходження досліджень.

Усіх пацієнтів, які проходили обстеження в рамках даної дисертаційної роботи, було розділено на групи:

Група I – 105 пацієнтів без вікової дегенерації макули на обох очах (група порівняння), які були набрані серед осіб віком старше 40 років, що зверталися з приводу профілактичного огляду за умов відповідності до критеріїв включення/виключення. Вік пацієнтів групи порівняння склав  $71,95 \pm 9,47$  років, серед яких 42 (40 %) чоловіки та 63 (60 %) жінок (див. табл. 2.1).

Група II – 162 пацієнти з віковою дегенерацією макули: трансудативним відшаруванням пігментного епітелію сітківки, ексудативною формою,



субретинальним фіброзом на одному чи на обох очах («волога» форма). Середній вік пацієнтів другої групи склав  $71,33 \pm 10,46$  років. Серед них 85 (52,46 %) чоловічої і 77 (47,5 %) – жіночої статті (див. табл. 2.1).

Таблиця 2.1 – Розподіл пацієнтів досліджуваної та порівняльної груп за статтю

Група	Чоловіки	Жінки
I – група порівняння	42 (40 %)	63 (60 %)
II – досліджувана група	85 (52,46 %)	77 (47,5 %)

## 2.2. Методи офтальмологічних досліджень.

Офтальмологічне обстеження проводили на базі ТОВ «ОПТИМАЛ-М» (м. Вінниця).

*Дослідження гостроти зору та суб'єктивної рефракції.*

Візометрію при попередньому відборі пацієнтів проводили за допомогою таблиць Головіна-Сівцева. Таблиця складається з двох частин по 12 рядків у кожній, які представляють значення гостроти зору від 0,1 до 2,0. Ліва частина складається з рядів кирилических літер Ш, Б, М, Н, К, Ї та И у певному порядку, а права частина таблиці складається з ряду символів Ландольта С. Ширина кожного символу дорівнює його висоті, а контури мають стандартні проміжки в  $1/5$  від загального розміру. Значення D, зазначене зліва від кожного рядка, дає відстань у метрах, з якої людина з гостротою зору 1,0 може прочитати відповідний рядок. Значення V, вказане праворуч, дає мінімальну гостроту зору, необхідну для читання рядка з відстані 5 метрів. Перший ряд містить символи розміром 70 мм ( $V = 0,1$ ); другий ряд 35 мм; нижній третій ряд 7 мм ( $V = 1,0$ ); нижній ряд 3,5 мм ( $V = 2,0$ ) [76] (рис.2.1).

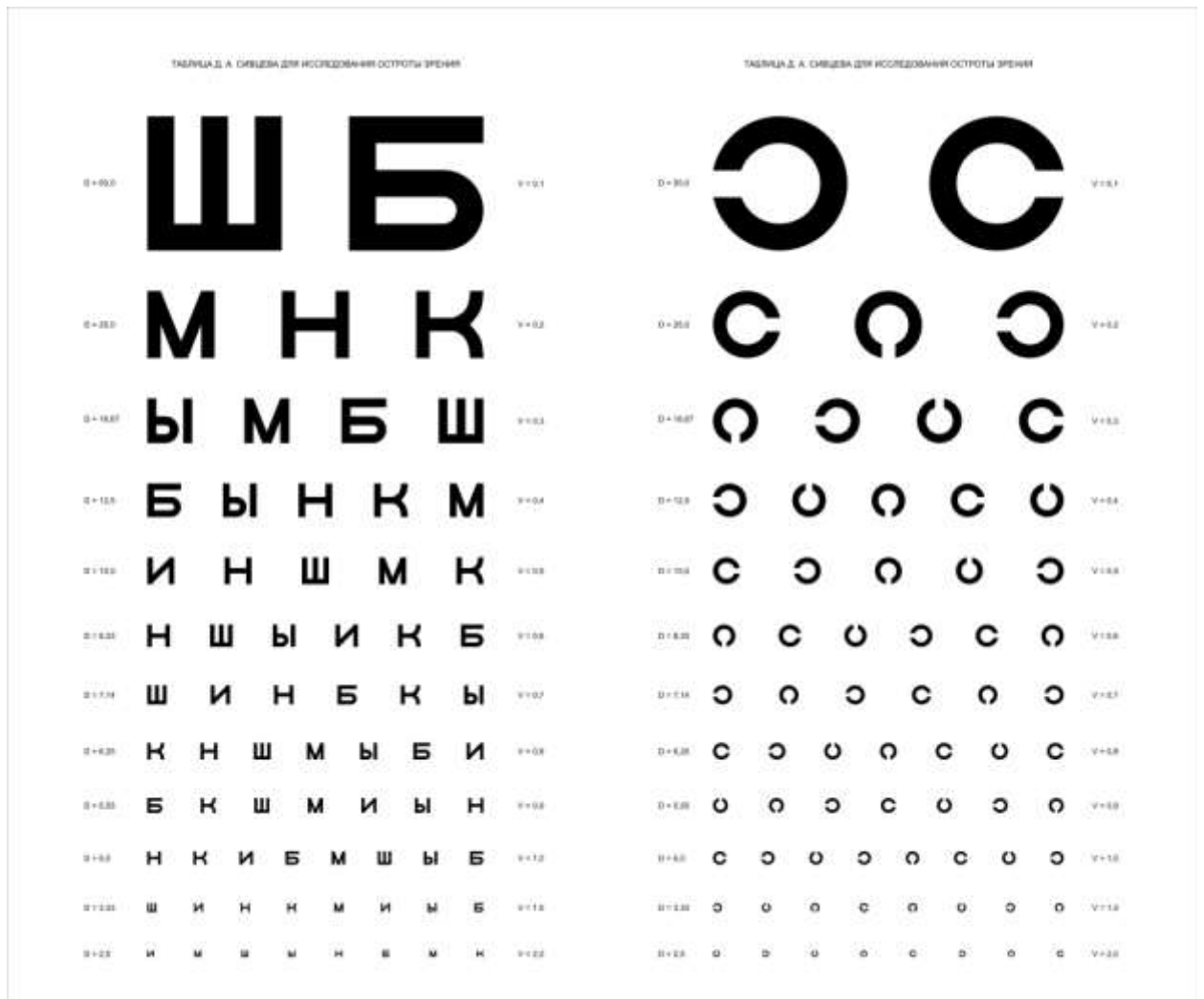


Рисунок 2.1 – Таблиця Головіна-Сівцева для визначення гостроти зору.

Дослідження суб'єктивної рефракції проводили за допомогою набору офтальмологічних пробних очкових лінз «Біомед» комплект з 266 лінз) виробництва Jiangsu Yuuyue Medical Equipment & Supply Co., Ltd (КНР). Визначення об'єктивної рефракції проводили за допомогою автоматичного рефрактометра HUVITZ, HRK-7000 (Корея).

#### *Рефрактометрія.*

Визначення об'єктивної рефракції проводили за допомогою автоматичного рефрактометра HUVITZ, HRK-7000 (Корея).

#### *Периметрія.*

Визначення полів зору виконували за допомогою проекційного периметра PTS 1000 «Optopol technology» (Польща). Відповідно до стандартів Всесвітньої

глаукомної асоціації (2002) статична периметрія є найбільш інформативним методом обстеження в порівнянні з кінетичною периметрією.

#### *Офтальмоскопія.*

Огляд очного дна виконували за допомогою тієї ж щілинної лампи (Торсон) та асферичної безконтактної лінзи 90дптр. (OCULAR MaxField®) в умовах медикаментозного мідріазу за загальноприйнятою методикою. А за необхідності контактним методом за допомогою трьохдзеркальної лінзи Гольдмана та щілинної лампи SL-1E «Торсон» (Японія).

#### *Гоніоскопія*

Огляд кута передньої камери ока, за допомогою трьохдзеркальної лінзи Гольдмана, виконували в разі наявності підозри його патологічної зміни, наприклад неоваскуляризації.

#### *Оптична когерентна томографія.*

Оптична когерентна томографія (ОКТ) була вперше представлена у 1991 році вченими Huang D. Et al. Як неінвазивна технологія безконтактної візуалізації структур ока *in vivo* з використанням інтерферометрії з низькою когерентністю [8, 70]. ОКТ було введено у клінічну практику та стало доступним у 1996 році, що кардинально змінило розуміння та лікування очних захворювань [70, 97]. Метод генерує зображення шляхом інтерферометричного вимірювання амплітуди та затримки відбитого або зворотно розсіяного світла [197, 8]. Іншими словами, ОКТ вимірює глибину певної структури в тканині, а також те, наскільки вона відбиває або розсіює світло, а функціонує за аналогією до ультразвукового дослідження [197, 70].

Оптичну когерентну томографію виконували для встановлення профілю сітківки при віковій макулярній дегенерації, а також для визначення показників макулярної ділянки сітківки. Нами було використано параметр – ILM-RPE (internal limiting membrane-retinal pigmented epithelium; внутрішня погранична

мембрана-пігментний епітелій сітківки), за допомогою спектрального оптичного когерентного топографа SOCT Copernicus «Optopol» з можливістю ангиографії (Польща). Пріоритетними для дослідження були наступні ділянки оптичної когерентної томографії: ОКТ 2 – внутрішня верхня ділянка (inner superior); ОКТ 3 – центральна ділянка, макула (fovea); ОКТ 4 – внутрішня нижня ділянка (inner inferior); ОКТ 7 – внутрішня назальна ділянка (inner nasal); ОКТ 8 – внутрішня скронева ділянка (inner temporal).

Використання ОКТ дозволяло у кожного пацієнта проводити аналіз визначення наявності або відсутності змін морфологічної структури макули. У пацієнтів з вологою формою ВМД за допомогою ОКТ візуалізували та розрізняли кістозний набряк нейроепітелію, трансудативне відшарування пігментного епітелію, класичну СНМ, хоріоретинальну судинну проліферацію, субретинальний фіброз. Процедура не потребувала додаткової підготовки пацієнта. Після вводу даних про пацієнта (номер карти, прізвище, ім'я, дата народження пацієнта) пацієнт фіксував погляд на об'єкті в лінзі фундус-камери. Камеру наближали до досліджуваного ока до того моменту, поки зображення сітківки не відображалось на моніторі. Після цього фіксували камеру натисканням кнопки фіксатора та відрегульовували чіткість зображення. Після обробки даних проводили вимірювання досліджуваних тканин та аналіз їх оптичної щільності.

Завдяки використанню ОКТ об'ємне тривимірне графічне зображення сітківки здобувалося неінвазивним способом, без необхідності проведення попередньої підготовки пацієнта, а цінність кількісного опису та оцінки топографії різних ділянок сітківки була необхідна і важлива для динамічного спостереження змін при патологічних процесах.

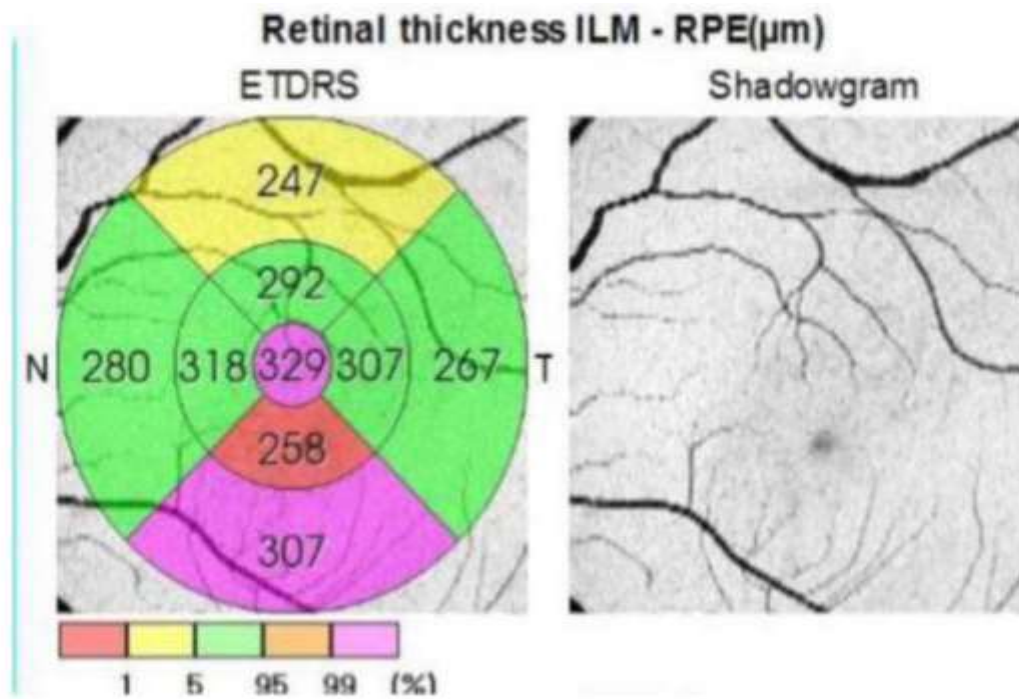


Рис.2.2 Оптична томографія для визначення профілю сітківки

### *Фундусскопія.*

Головна перевага кольорового фотографування очного дна полягає в тому, що цей метод повторює вигляд сітківки, який бачить лікар під час огляду пацієнта за допомогою офтальмоскопії. Таким чином, кольорові зображення очного дна легко інтерпретувати. Вони є корисними для документування знахідок, помічених під час обстеження, а судини та судинні аномалії видно як червонуваті структури [41].

Флюорисцентну ангиографію і фотографування очного дна виконували за допомогою комбінованої фундус-камери TRC-NW8F «Торсон» (Японія) з можливістю проведення флюорисцентної ангиографії. За необхідності для уточнення діагнозу виконували стереоскопічне фотографування очного дна.

### **2.3. Класифікація вікової макулярної дегенерації.**

ВМД – складне поліфакторне та прогредієнтне захворювання, що є основною причиною погіршення зору у людей похилого віку, яке може спричинити незворотно сліпоту [38, 68]. Захворювання може розвиватися у вигляді таких нозологічних одиниць як рання, проміжна та пізня ВМД, яку на основі клініко-морфологічних критеріїв поділяють на «суху» та «вологу» форми [40].

«Суха» (неексудативна, атрофічна) форма характеризується у першу чергу повільно прогресуючою атрофією ПЕС в макулярній зоні і розташованої під ним хоріоїдеї, що призводить до локальної вторинної атрофії фоторецепторного шару сітківки. Іншими словами, неексудативна форма характеризується друзами в макулярній зоні сітківки, дефектами ПЕС, перерозподілом пігменту, атрофією ПЕС і хоріокапілярного шару [55, 181, 209].

У той час як «волога» (неоваскулярна) форма проявляється у вигляді хоріоїдної неоваскуляризації, при чому проростання новоутворених судин через мембрану Бруха бере початок у внутрішніх шарах хоріоїдеї у відсутній в нормі

простір між ПЕС та сітківкою; ангиогенез супроводжується ексудацією в субретинальний простір, набряком сітківки та крововиливами [51, 132, 216]. Таким чином, ексудативна форма характеризується наступними стадіями: ексудативне відшарування ПЕС, ексудативне відшарування нейроепітелію сітківки, неоваскуляризація, ексудативно-геморагічне відшарування ПЕС та/або нейроепітелію сітківки, стадія рубцювання [90, 139]. «Волога» форма нозології є найпоширенішою причиною порушення зору серед пацієнтів літнього вік, а приблизно у 10 % пацієнтів із «сухою» ВМД розвивається хоріоїдальна неоваскуляризація, яка є ознакою «вологоді» форми [91]. Так, відомо, що «суха» форма ВМД становить майже 80-85 % усіх випадків нозології і зазвичай має більш сприятливий прогноз, у той час як «волога» форма ВМД вражає від 15 до 20 % і складає приблизно 80 % важкої втрати зору внаслідок захворювання [216].

Результатом багаторічної роботи дослідницької групи AREDS (The Age-Related Eye Disease Study) стала зручна класифікація, що включає як клінічні параметри – зниження та втрату зору, залучення в патологічний процес іншого ока, а також морфологічні зміни: як от неоваскуляризація, атрофія, пошкодження мембрани Бруха [212].

#### **2.4. Методи лікування «вологоді» форми ВМД.**

За останні роки лікування «вологоді» форми ВМД зазнало значних успіхів. Досі жоден з використаних методів лікування не міг напевно вилікувати хворобу чи зупинити її перебіг. У 1970-х роках дослідження макулярної фотокоагуляції показали ефективність лазерної коагуляції у лікуванні «вологоді» форми ВМД [5]. Лазерна терапія не вважається ідеальною процедурою для лікування. У даний час впровадження лазерної коагуляції ускладнюється кількома проблемами, включаючи високу частоту рецидивів, ризик втрати зору на фоні обмеженого потенціалу його покращення [5, 35]. В еру anti-VEGF терапії роль фотокоагуляції як основного підходу до лікування «вологоді» форми ВМД зменшується та

використовується обмежено для лікування невеликих уражень за межами центральної ділянки макули [180].

Наприкінці 1990-х років була запроваджена фотодинамічна терапія. Її принцип полягає у тому, що внутрішньовенно вводять фотосенсибілізатор, який активують фотонами за допомогою спеціальних контактних лінз. Активованій барвник утворює вільні радикали, які пошкоджують ендотелій судин і викликають оклюзію новоутворених судин [169]. Селективність фотосенсибілізатора до хоріоїдальної неоваскуляризації, що утримує барвник сильніше, ніж звичайні судини, дозволяє у ході терапії націлюватися на вогнище ураження, не пошкоджуючи навколишні тканини [35]. Використання фотодинамічної терапії поширилось лише на короткий період часу. Через неадекватний та непередбачуваний ефект впливу на неоваскуляризацію цей вид терапії призводив до великої кількості рецидивів та необхідності повторного лікування [5].

Сучасні дослідження визначають судинну дисфункцію хороїдальної оболонки сітківки як критичний пункт у патогенезі ВМД [60]. Тому вивчення механізмів регуляції ангіогенезу та впливу на них завдяки факторам VEGF, PEDF та TSP1 знаходиться у фокусі науково-дослідних груп. Наприклад, після публікації двох успішно завершених клінічних випробовувань anti-VEGF терапії у 2006 році, використання цього методу лікування значно поширилося, а журнал Science навіть вніс даний тип біологічної терапії до списку десяти найважливіших наукових проривів року [7]. Наразі anti-VEGF терапія є пріоритетним методом лікування. Так, у 2016 році понад 690 000 учасників програми Medicare Part B отримали майже 3 мільйони інтравітреальних ін'єкцій проти VEGF [15]. Широка доступність anti-VEGF терапії суттєво змінила поширеність «вологої» ВМД і дала можливість впливу на неї, хоча результати досліджень по оцінці ефективності в реальних умовах значно відрізнялися від проведених раніше клінічних випробувань [178].

Найпершим anti-VEGF агентом, що отримав схвалення для лікування



«вологоді» форми ВМД, був пегалтаніб [24]. Це РНК-аптамер, який специфічно зв'язується з ізоформами VEGF [5]. Далі були запропоновані нові й ефективніші засоби боротьби проти VEGF, які замінили пегалтаніб. Наприклад, ранібізумаб – рекомбінантний моноклональний Fab-фрагмент IgG1. Він пригнічує усі біологічно активні ізоформи VEGFA. Саме цей препарат надав найбільшого поширення anti-VEGF терапії [7]. Бевацизумаб – рекомбінантний моноклональний IgG1, є anti-VEGFA антитілом. Спочатку був розроблений для системного застосування як хіміотерапевтичний засіб для лікування новоутворень. Однак, через його низьку вартість, він набув популярності для лікування як альтернативний інтравітреальний anti-VEGF препарат для захворювань сітківки [12]. Проблемою ранібізумабу та бевацизумабу залишається високий показник серйозних побічних ефектів через відсутності специфічності до станів, пов'язаних з інгібуванням VEGF [5].

Eylea (афліберсепт) є останнім схваленим anti-VEGF агентом, який є приманкою для рецептора VEGFA з високою спорідненістю до всіх ізоформ VEGFA, VEGFB та плацентарного фактору росту (PGF). Це рекомбінантний білок, що складається з ліганд-зв'язуючих елементів VEGFR-1 та VEGFR-2, поєднаних з Fc-фрагментом IgG1 [28]. Афліберсепт був схвалений у 2011 році та швидко набув популярності, конкуруючи з іншими anti-VEGF агентами на ринку. Стійкі ефекти афліберсепту пояснюють його високою афінністю зв'язування [5].

У ході проведення дослідження 162 пацієнти з віковою дегенерацією макули отримували інтравітреальні ін'єкції препарату Eylea (афліберсепт) anti-VEGF терапії. Результати наукової роботи полягали у реєструванні змін показників основних офтальмологічних методів дослідження для з'ясування ефективності лікування залежно від генотипів досліджуваних поліморфізмів після застосування першої ін'єкції та після проведення індивідуального повного курсу лікування anti-VEGF терапії, який складав можливі повторні ін'єкції кожного місяця протягом півроку.

### *Критерії оцінки лікування.*

Морфологічні критерії ефективності терапії вважають визначальними, оскільки пов'язане з ними підвищення гостроти зору є значущим для пацієнта, але не відображає справжньої картини перебігу захворювання. Проте, оцінювали також категорію відповіді за функціональним параметром – гострота зору. Таким чином, для оцінки ефективності терапії вивчали зміни за функціональним критерієм – максимально корегована гострота зору та морфологічним критерієм – центральна товщина сітківки. Оцінку проводили до лікування, після першої ін'єкції та після трьох ін'єкцій. Позитивною відповіддю вважали наявність редукції не менше 10% фовеолярної товщини сітківки (ОКТ 3, макула, fovea) від базової за даними оптичної когерентної томографії та збільшення максимально корегованої гостроти зору не менше ніж на 0,1. Крім того, оцінювали також зміни в таких ділянках ОКТ 2 – внутрішня верхня ділянка (inner superior); ОКТ 4 – внутрішня нижня ділянка (inner inferior); ОКТ 7 – внутрішня назальна ділянка (inner nasal); ОКТ 8 – внутрішня скронева ділянка (inner temporal).

### **2.5. Методи молекулярно-генетичних досліджень.**

Полімеразно-ланцюгова реакція – один з найпоширеніших на сьогодні молекулярно-генетичних методів, що використовують для генотипування ОНП [193, 241]. У нашому дослідженні генотипування проводили за допомогою полімеразно-ланцюгової реакції у реальному часі (ПЛР-РЧ) та сайтспецифічної ПЛР з наступною електрофоретичною візуалізацією продуктів ампліфікації [80].

Екстракцію ДНК проводили з біологічного матеріалу (букальний епітелій) з використанням Chelex 100 Bio-Rad (USA) за стандартним протоколом.

Під час забору матеріалу дотримувались норм медичної асептики та антисептики.

Ампліфікацію проводили з використанням ампліфікатора «CFX96 Touch» (BioRad, USA). Для алельної дискримінації використовували програмне забезпечення CFX Manager Software.

Проводили генотипування за ОНП: rs11200638 гена *HTRA1*, rs2010963 гена *VEGFA*, rs1800629 гена *TNF*.

Ген *HTRA1* (HtrA Serine Peptidase 1, HtrA серинова пептидаза 1) знаходиться у локусі 10q26.13 і кодує білок довжиною 480 амінокислотних залишків, молекулярна маса якого складає 51287 Да [71]. ОНП rs11200638 розташований у промоторній ділянці (-625 G>A), впливає на рівень експресії однойменного білку [150, 152]. Алель А є мінорним алелем. Для визначення поліморфізму проводили сайтспецифічну ПЛР з наступною електрофоретичною візуалізацією продуктів ампліфікації з використанням набору реагентів «Литех» (РФ). Протокол режиму ампліфікації: 94 °С – пауза; 93 °С – 1 хв.; 35 циклів: 93 °С – 10 сек.; 64 °С – 10 с; 72 °С – 20 сек; 72 °С – 1 хв. Розділення продукту ампліфікації проводилось у 3 % агарозному гелі, зробленому на ТАЕ буфері, методом горизонтального електрофорезу. Задля візуалізації результатів електрофорезу в якості барвника вносили 1 % розчину бромистого етидію з розрахунку 5 мкл на 50 мл розплавленого гелю. Фрагменти аналізуючої ДНК проявляли у вигляді сяючих смужок під УФ-опроміненням із довжиною хвилі 310 нм.

Наявність одночасно двох продуктів ампліфікації відповідало гетерозиготному генотипу, наявність продукту лише одного типу – одному з гомозиготних генотипів (див. рис. 2.3).

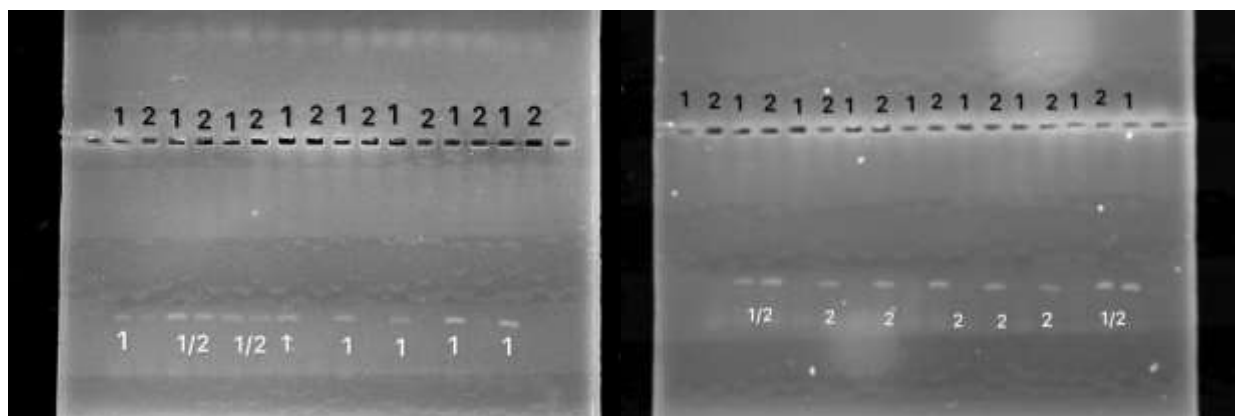


Рисунок 2.3 – Генотипування поліморфізму rs11200638 гена *HTRA1* за допомогою сайтспецифічної ПЛР з наступною електрофоретичною

візуалізацією продуктів ампліфікації (1- гомозигота за мажорним алелем GG, ½ - гетерозигота GA, 2 – гомозигота за мінорним алелем AA)

Ген *VEGFA* (vascular endothelial growth factor A, фактор росту ендотелію судин A) розташовується у локусі 6p21.1 і займає 16304 азотистих основ, складається з восьми екзонів і семи інтронів [51, 73]. При активації він продукує білкову полімерну структуру довжиною 232 амінокислот та молекулярною масою 27042 Да. ОНП rs2010963 розташований у 5'-нетрансльованій ділянці (+405 G/C) [92]. Алель С є мінорним алелем.

Генотипування ОНП rs2010963 гена *VEGFA* проводили методом ПЛР РЧ з використанням набору реагентів «Синтол» (РФ). Протокол режиму ампліфікації: 95°C – 3 хв.; 40 циклів: 95 °C – 15 с; 63 °C – 40 с – зчитування. Для оцінки генотипів можливі алельні варіанти були попередньо закодовані (мажорний алель – 1, мінорний – 2). При виході будь-якої єдиної алелі до 40 циклу генотип встановлювали як гомозиготу відповідного закодованого варіанту, а у разі виходу обох алелей до 40 циклу генотип визначали як гетерозиготу (див. рис. 2.4).

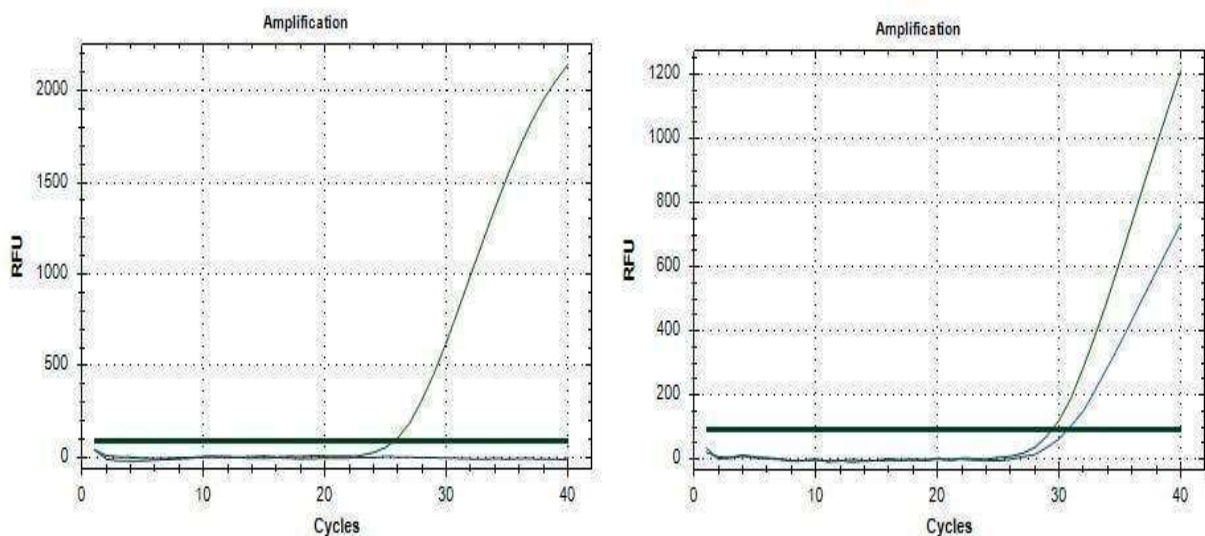


Рисунок 2.4 – Генотипування методом ПЛР РЧ

Ген *TNF- $\alpha$*  (tumor necrosis factor  $\alpha$ , фактор некрозу пухлин  $\alpha$ ) локалізований у хромосомній ділянці 6p21.33, кодує багатофункціональний прозапальний цитокін довжиною 233 амінокислот, масою 25644 Да та містить 4 екзони і 3 інтрони [72]. ОНП rs1800629 розташований у промоторній області гена перед ініціатором транскрипції на 308 нуклеотиді і відомий як -308 G/A [3]. Алель А є мінорним. Генотипування проводили методом ПЛР РЧ з використанням набору реагентів «Литех» (РФ). Протокол режиму ампліфікації: 93°C – 1 хв.; 35 циклів: 93 °C – 10 с; 64 °C – 10 с; 72°C – 20 с – зчитування. Для оцінки генотипів можливі алельні варіанти були попередньо закодовані (мажорний алель – 1, мінорний – 2). При виході будь-якої єдиної алелі до 35 циклу генотип встановлювали як гомозиготу відповідного закодованого варіанту, а у разі виходу обох алелей до 35 циклу генотип визначали як гетерозиготу (див. рис. 2.4).

## 2.6. Методи статистичних досліджень.

Статистичний аналіз отриманих результатів клінічних досліджень проводили за допомогою пакетів програм Statistica 10 (StatSoft, Inc., USA) та IBM SPSS Statistics for Windows, version 23.0 (IBM Corp., Armonk, N.Y., USA).

Статистичну обробку кількісних показників (гострота зору, товщина сітківки) розраховували за допомогою середнього значення досліджуваного параметра ( $M$ ) та його середньоквадратичної похибки ( $\pm m$ ). Перевірку на нормальність розподілу кількісних даних у вибірках проводили за допомогою критерію Шапіро-Уїлка та критерію узгодженості Колмогорова-Смирнова з побудовою кривої Гауса та визначення показника  $p$ . При значеннях критеріїв Шапіро-Уїлка  $p > 0,20$  та Колмогорова-Смирнова  $p > 0,05$  дані вважались нормально розподілені.

При нормальному розподілі даних, з метою аналізу статистичної значущості різниці показників гостроти зору пацієнтів та даних ОКТ до та після лікування використовували параметричний критерій Стюдента для залежних

вибірок (t). У випадку ненормального розподілу даних, з такою ж метою використовували критерій Вілкоксона для залежних вибірок (W). При  $p < 0,05$  результати вважались статистично значущими.

Розподіл частот генотипів перевіряли на відповідність рівновазі Харді-Вайнберга за допомогою критерію  $\chi^2$ . Для визначення ступеня асоціації поліморфних варіантів досліджуваних ОНП з ризиком розвитку «вологої» форми ВМД та резистентності до лікування використовували логістичну регресію. Оцінювали наявність асоціації в адитивній, домінантній та рецесивній моделях успадкування. Силу асоціації аналізованих ознак визначали шляхом розрахунку величини відношення шансів (ВШ) з довірчим інтервалом (ДІ) при 95%-му рівні значущості. Передбачуваний фактор ризику вважався значущим для розвитку патології (або резистентності) при значенні показника ВШ з поправкою на ДІ більше одиниці.

## РОЗДІЛ 3

## ОЦІНКА ЕФЕКТИВНОСТІ АНТИ-VEGF ТЕРАПІЇ ПРЕПАРАТОМ АФЛІБЕРСЕПТ У ПАЦІЄНТІВ З «ВОЛОГОЮ» ФОРМОЮ ВМД

Метою данного етапу роботи було дослідження асоціації функціональних (гострота зору) і анатомічних (товщина сітківки в різних ділянках) параметрів з відповіддю на анти-VEGF терапію препаратом афліберсепт у пацієнтів з «вологодю» формою ВМД, мешканців Подільського регіону України. Було проаналізовано результати офтальмологічного обстеження у 162 пацієнтів до лікування, після першої інекції та після повного курсу лікування.

Середні значення гостроти зору у пацієнтів на різних етапах лікування представлено в таблиці 3.1.

Таблиця 3.1. - Зміни гостроти зору у пацієнтів з «вологодю» формою ВМД при проведенні анти-VEGF терапії

Показник	До ін'єкції	Після першої ін'єкції	Після останньої ін'єкції
Гострота зору (мінімум-максимум)	0,17±0,12 (0,01-0,7)	0,29±0,17 (0,02-0,8)	0,35±0,16 * (0,02- 0,9)

Примітки. \*  $p < 0,05$ , порівняно з середньогруповим показником до лікування

Середньогрупове значення гостроти зору у пацієнтів за даними обстеження, проведеного до початку анти-VEGF терапії до складало 0,17±0,12. Причому індивідуальні значення цього параметру значно варіювали у різних пацієнтів – від 0,01 до 0,7. Збільшення середньогрупового значення цього показника після проведення першої ін'єкції до 0,29±0,17 мало недостатній рівень статистичної значущості ( $p > 0,05$ ). Аналіз проведений після проходження курсу антиангіогенної терапії показав, що середнє значення гостроти зору у пацієнтів

статистично значуще збільшилось до  $0,35 \pm 0,16$  (див. табл. 3.1). При цьому, на всіх етапах лікування спостерігали значну індивідуальну варіабельність цього показника. Хоча середнє значення збільшення гостроти зору після проведення всього курсу терапії, в цілому, свідчить про позитивний ефект лікування, низькі індивідуальні значення у деяких пацієнтів (мінімальне – 0,02 після останньої інекції) вказує на наявність резистентності до лікування у деяких пацієнтів.

Результати аналізу середньогрупових значень анатомічних параметрів на різних етапах лікування представлено в таблиці 3.2.

Таблиця 3.2 - Зміни анатомічних параметрів у пацієнтів з «вологодю» формою ВМД при проведенні анти-VEGF терапії

Показник	Товщина сітківки, мкм				
	Середнє (мінімум- максимум)				
	ОКТ 2*	ОКТ 3*	ОКТ 4*	ОКТ 7*	ОКТ 8*
До ін'єкції	319,87±65,22 (168-633)	289,95±87,62 (83-636)	317,98±61,13 (75-523)	314,67±64,74 (67-591)	301,72±59,35 (74-477)
Після першої ін'єкції	309,92±65,76 (185-567)	285,03±81,82 (83-599)	306,43±64,22 (75-522)	305,53±63,51 (67-513)	294,62±34,56 (74-490)
Після останньої ін'єкції	306,39±66,42 (185-567)	282,50±81,79 (83-599)	303,15±65,72 (75-519)	302,15±64,03 (67-508)	292,62±68,32 (74-485)

Примітки. ОКТ 2 – внутрішня верхня ділянка (inner superior); ОКТ 3 – центральна ділянка, макула (fovea); ОКТ 4 – внутрішня нижня ділянка (inner inferior); ОКТ 7 – внутрішня назальна ділянка (inner nasal); ОКТ 8 – внутрішня скронева ділянка (inner temporal). \* -  $p > 0,05$ , порівняно із значеннями до лікування.



Хоча в усіх досліджених ділянках спостерігали тенденцію до зменшення товщини сітківки, зміни середньогрупових значень мали недостатній рівень статистичної значущості, що значною мірою обумовлено індивідуальними розбіжностями результатів лікування.

Відповідно до визначених критеріїв було проведено оцінку ефективності анти-VEGF терапії у пацієнтів з «вологою» формою ВМД на індивідуальному рівні, результати якої представлені в таблиці 3.3.

Таблиця 3.3. – Відповідь на анти-VEGF терапію препаратом Eylea (афліберсепт) у пацієнтів з «вологою» формою ВМД

Показник	Є відповідь на лікування	Нема відповіді на лікування	Резистентність до лікування, %
Кількість очей	214	110	33,95

Таким чином встановлено, що при проведенні анти-VEGF терапії препаратом афліберсепт у пацієнтів з «вологою» формою ВМД, які є мешканцями Подільського регіону України, у 33,4% випадків спостерігається резистентність до лікування.

При цьому слід зазначити, що в групі пацієнтів з відсутністю відповіді на лікування динаміка в резорбції набряку була відсутня, а в деяких випадках спостерігали збільшення ЦТС, що супроводжувалось відсутністю динаміки максимально корегованої гостроти зору.

Результати більш детального аналізу індивідуальної відповіді на антиангіогенну терапію за анатомічними критеріями ( в різних ділянках сітківки) представлено в таблиці 3.4.

Таблиця 3.4. – Оцінка індивідуальної відповіді на проведення анти-VEGF терапії за анатомічними критеріями

Показник	Редукція $\geq 10\%$ товщини сітківки (n, очей)	Відсутня редукція $\geq 10\%$ товщини сітківки (n, очей)	Резистентність до лікування, %	p
ОКТ 2	214	110	33,95	1,0
ОКТ 3	214	110	33,95	-
ОКТ 4	197	127	39,20	0,17
ОКТ 7	196	128	39,51	0,14
ОКТ 8	192	132	40,74	0,07

Хоча чисельні значення резистентності до лікування за анатомічними параметрами, представленими в табл. 3.4. збільшенні в ділянках ОКТ4, ОКТ 7 та ОКТ 8, ці відмінності не мали достатнього рівня статистичної значущості.

**Резюме.** Встановлено, що при проведенні анти-VEGF терапії препаратом афліберсепт у пацієнтів з «вологодю» формою ВМД, які є мешканцями Подільського регіону України, у 33,4% випадків спостерігається резистентність до лікування. Аналіз відповіді за анатомічними показниками в різних ділянках сітківки не виявив статистично значущих відмінностей, хоча чисельні значення резистентності до антиангіогенної терапії в ділянках ОКТ 4, ОКТ7 і ОКТ 8 становлять 39-41%. На противагу індивідуальним показникам, середньогрупові значення товщини сітківки в різних ділянках після проведення першої і останньої інекції статистично значуще не відрізняються від аналогічних показників до лікування. Середньогрупове значення гостроти зору після проведення останньої інекції статистично значуще збільшується в 2,05 рази (на 0,18), порівняно з цим показником до лікування.

## РОЗДІЛ 4.

**ВИВЧЕННЯ ВПЛИВУ ПОЛІМОРФІЗМУ rs11200638 ГЕНА *HTRA1* НА НА  
ЕФЕКТИВНІСТЬ АНТИ-VEGF ТЕРАПІЇ У ПАЦІЄНТІВ З «ВОЛОГОЮ»  
ФОРМОЮ ВМД**

**4.1. Аналіз асоціації поліморфізму rs11200638 гена *HTRA1* з ризиком розвитку «вологоді» форми ВМД.**

При визначенні залежності ефективності лікування «вологоді» форми ВМД афліберсептом від поліморфізму *rs11200638* гена *HTRA1*, на першому етапі, оцінювали значущість цього генетичного маркера щодо ризику розвитку патології. З метою дослідження асоціації поліморфізму *rs11200638* гена *HTRA1* з ризиком розвитку «вологоді» форми вікової дегенерації макули було визначено розподіл генотипів та алелей за цим поліморфізмом в групі порівняння (105 осіб) та в групі хворих пацієнтів (162 особи).

Результати генотипування в досліджених групах та відповідність розподілу генотипів рівновазі Харді-Вайнберга представлені в таблиці 4.1.

Таблиця 4.1 – Розподіл генотипів за поліморфізмом *rs11200638* гена *HTRA1* та його відповідність закону Харді-Вайнберга у хворих на «вологоді» форму ВМД та в групі порівняння

Групи дослідження	Генотипи			Відповідність рівновазі Харді-Вайнберга	
	GG	GA	AA	$\chi^2$	<i>p</i>
Хворі (ВМД), n (%)	48 (29,6%)	91 (56,2%)	23 (14,2%)	1,89	0,17
Контроль (група порівняння), n (%)	62 (59,05%)	42 (40%)	1 (0,95%)	3,42	0,06

Частота зустрічальності генотипів групи порівняння становила: GG – 59,05%, GA – 40,0 % AA – 0,95%; частота мінорного алеля (A) – 0,21. Частота зустрічальності генотипів в групі хворих: GG – 29,60%, GA – 56,20%, AA – 14,2%; частота мінорного алеля (A) – 0,42. Розподіл генотипів в обох групах статистично значуще не вірізнявся від популяційної рівноваги. Частота мінорного алеля в контролі (група порівняння) була співставима з даними, зазначеними в світових базах даних (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/>, <https://www.snpedia.com/>). Глобальна частота мінорного алеля (GMAF) ОНП *rs11200638* становить 0,21-0,28, в популяціях Європи – 0,23. Разом з тим, в групі хворих з «волоогою» формою ВМД частота мінорного алеля ОНП *rs11200638* була в 2 рази статистично значуще більшою, ніж в групі порівняння. Шанси виникнення цієї патології у носіїв мінорного алеля були в 2,4 разів більшими, ніж в групі порівняння (див. табл. 4.2.)

Таблиця 4.2 – Асоціація ризику розвитку «волоогої» форми ВМД з носійством варіантних алелей ОНП *rs11200638* гена *HTRA1*

Алелі	Частота		$\chi^2$	<i>p</i>	ВШ	
	хворі	контроль			(відношення шансів)	
	n = 162	n = 105			значення	95 % ДІ
<i>G</i>	0.577	0.790	25.88	< 0.0001	0.36	0.24 – 0.54
<i>A</i>	0.423	0.210			2.76	1.85 – 4.12

Результати аналізу асоціації ОНП *rs11200638* гена *HTRA1* з ризиком розвитку «волоогої» форми ВМД з використанням адитивної, домінантної та рецесивної моделей успадкування представлені в таблицях 4.3 – 4.5.

Таблиця 4.3 – Асоціація ризику розвитку «вологої» форми ВМД з носійством поліморфних варіантів ОНП rs11200638 гена *HTRAI1*. Адитивна модель успадкування

Генотипи	Частота		$\chi^2$	<i>p</i>	ВШ (відношення шансів)	
	хворі	контроль			значення	95 % ДІ
	n = 162	n = 105				
<i>G/G</i>	0.296	0.590	29.13	< 0.0001	0.29	0.17 – 0.49
<i>G/A</i>	0.562	0.400			1.92	1.17 – 3.17
<i>A/A</i>	0.142	0.010			17.21	2.29 – 129.49

Таблиця 4.4 – Асоціація ризику розвитку «вологої» форми ВМД з носійством поліморфних варіантів ОНП rs11200638 гена *HTRAI1*. Домінантна модель успадкування

Генотипи	Частота		$\chi^2$	<i>p</i>	ВШ (відношення шансів)	
	хворі	контроль			значення	95 % ДІ
	n = 162	n = 105				
<i>G/G</i>	0.296	0.590	22.76	< 0.0001	0.29	0.17 – 0.49
<i>G/A + A/A</i>	0.704	0.410			3.42	2.05 – 5.73

Таблиця 4.5 – Асоціація ризику розвитку «вологої» форми ВМД з носійством поліморфних варіантів ОНП rs11200638 гена *HTRAI1*. Рецесивна модель успадкування

Генотипи	Частота		$\chi^2$	<i>p</i>	ВШ (відношення шансів)	
	хворі	контроль			значення	95 % ДІ
	n = 162	n = 105				
<i>G/G + G/A</i>	0.858	0.990	13.66	0.0002	0.06	0.01 – 0.44
<i>A/A</i>	0.142	0.010			17.21	2.29 – 129.49

В усіх моделях виявлено статистично значущу асоціацію поліморфізму ОНП *rs11200638* гена *HTRA1* з ризиком розвитку «вологоді» форми ВМД. Ризик розвитку патології значною мірою залежав від алельного статусу поліморфізму. Так, у гетерозигот за ОНП *rs11200638* ризик розвитку «вологоді» форми ВМД був в 1,92 рази більшим,  $p < 0,05$  (див. табл. 4.3). Наявність гомозиготного (AA) за мінорним алелем генотипу збільшує ризик розвитку «вологоді» форми ВМД в 17,21 рази,  $p < 0,05$  (див. з табл. 4.5). Гомозиготне носійство мажорного алеля (GG) мало протекторний вплив щодо ризику розвитку патології: ВШ = 0,29,  $p < 0,05$  (див. табл.4.3-4.4).

#### **4.2. Оцінка ефективності анти-VEGF-терапії залежно від варіанту поліморфізму *rs11200638* гена *HTRA1* у хворих із «вологоді» формою ВМД.**

Відповідно до отриманих в розд. 4.1 результатів в досліджених групах мешканців Подільського регіону України виявлена сильна асоціація ОНП *rs11200638* гена *HTRA1* з підвищеним ризиком розвитку «вологоді» форми ВМД. Враховуючи функціональне значення цього поліморфізму в процесах ремодуляції позаклітинного матриксу та в патогенезі ВМД необхідно було з'ясувати чи існує зв'язок між носійством генотипів *rs11200638* гена *HTRA1* та реакцією пацієнтів на лікування «вологоді форми» ВМД із застосуванням анти-VEGF-терапії шляхом інтравітреальних ін'єкцій препарату Eylea (афліберсепт).

Результати аналізу середньогрупових значень функціональних і анатомічних параметрів у пацієнтів з «вологоді формою» ВМД з різними поліморфними варіантами *rs11200638* гена *HTRA1* до та після проведення анти-VEGF-терапії представлені на рис. 4.1 та в таблиці 4.6.

Статистично значущих відмінностей середньогрупових значень показника гострота зору у хворих на «вологоді» форму ВМД з різними генотипами ОНП *rs11200638* гена *HTRA1* до лікування не було виявлено (див. рис. 4.1).

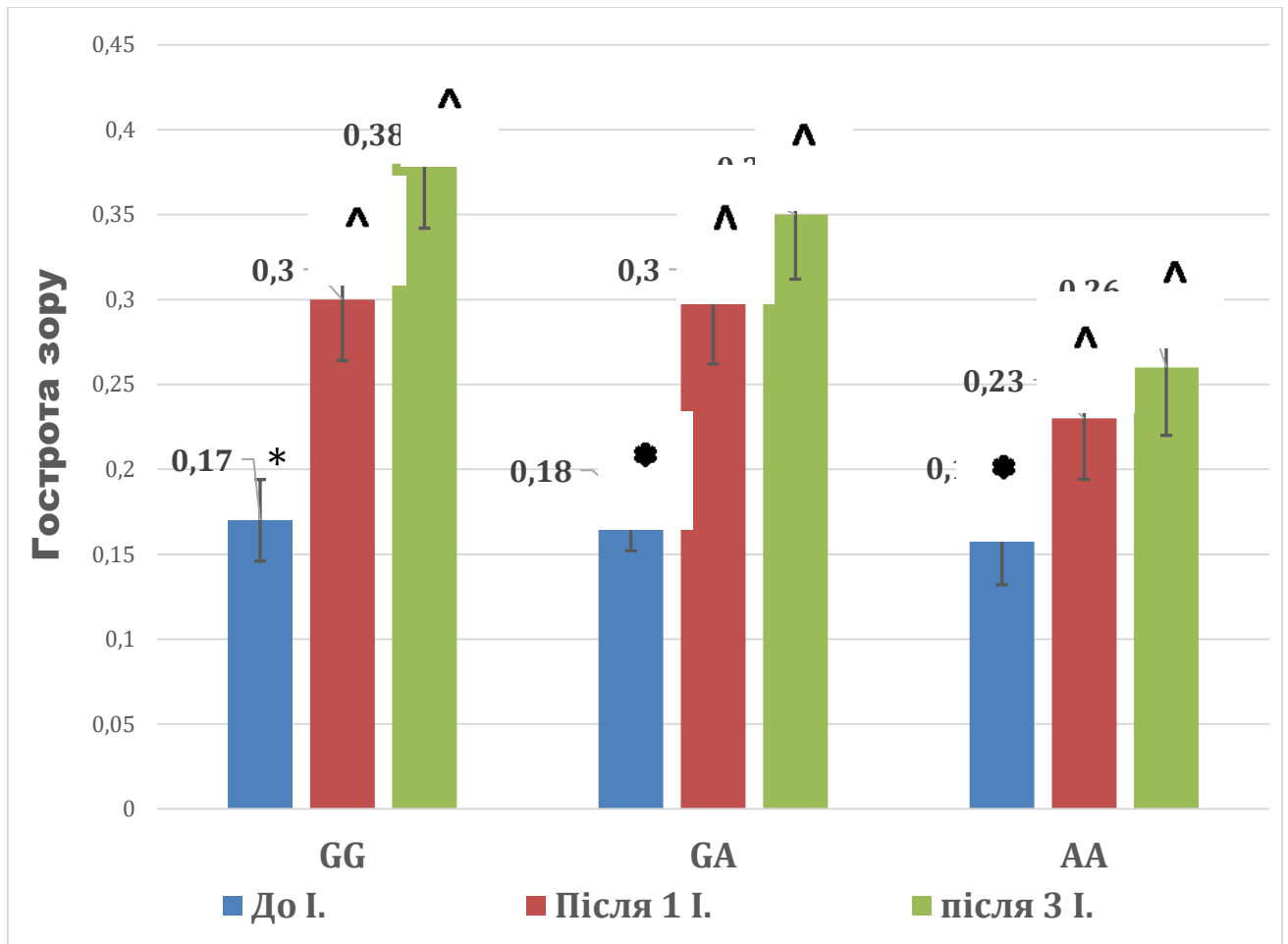


Рис. 4.1 Середньогрупові значення гостроти зору до і після лікування афліберсептом у пацієнтів з «волоگو» формою ВМД з різними генотипами ОНП rs11200638 гена *HTRA1* (До І. – до ін'єкції, після 1 І. – після першої ін'єкції, після 3 І. – після останньої ін'єкції)

Примітка. \* $p > 0,05$  (при порівнянні середньогрупових показників у осіб з різними генотипами до лікування), ^ $p < 0,05$  (відмінності середньогрупових показників для кожного генотипу після першої та останньої ін'єкції, порівняно із значенням гостроти зору до лікування)

Порівнюючи середньогрупові значення гостроти зору до початку анти-VEGF терапії та після першої ін'єкції спостерігали статистично значуще збільшення гостроти зору незалежно від генотипу. У носіїв мажорного алеля з генотипами GG та GA середньогрупові показники гостроти зору збільшились на 0,13 та 0,12, відповідно ( $p < 0,05$ ). У гомозигот за мінорним алелем AA середньогрупове значення підвищення гостроти становило 0,07 ( $p < 0,05$ ).

Після трьох ін'єкцій афліберсепту у пацієнтів з генотипами GG та GA спостерігали найкращий функціональний результат за критерієм збільшення середньогрупового значення гостроти зору. Порівняно із значеннями цього критерію у пацієнтів до лікування, підвищення гостроти зору у гомозигот за мажорним алелем становило 0,21 ( $p < 0,05$ ) та 0,17 ( $p < 0,05$ ), відповідно. У гомозиготних носіїв мінорного алеля (AA) середньогруповий показник збільшення гостроти зору, порівняно із станом до лікування, становив 0,10 ( $p < 0,05$ ).

Аналіз середньогрупових значень за анатомічними критеріями, зокрема товщини (мкм) центральної ділянки макула (fovea), внутрішньої верхньої ділянки (inner superior), внутрішньої нижньої ділянки (inner inferior), внутрішньої назальної ділянки (inner nasal), внутрішньої скроневої ділянки (inner temporal) до лікування, після першої ін'єкції та після останньої ін'єкції представлені в таблиці 4.6.

У пацієнтів, гомозиготних за мажорним алелем (GG) ОНП rs11200638 гена *HTRA1* після введення першої ін'єкції середньогрупові показники анатомічних параметрів за даними ОКТ в жодній з досліджених ділянок статистично значуще не змінились (див. табл. 4.6.). У гетерозиготних носіїв поліморфних варіантів rs11200638 (GA) спостерігали статистично значуще зменшення середньогрупових значень товщини сітківки в усіх досліджених ділянках, крім зони центральної ділянки макули (ОКТ 3). Найкращий ефект за критерієм зменшення середнього значення товщини набряку після проведення першої ін'єкції афліберсепт спостерігали у ділянках ОКТ 4 та ОКТ 2 – на 11,51 мкм ( $p < 0,01$ ) та 9,89 мкм ( $p < 0,001$ ), відповідно. У гомозиготних за мінорним алелем (AA) ОНП rs11200638 пацієнтів лише у ділянці ОКТ 8 не було виявлено статистично значущих змін. Найбільше набряк зменшився у зоні ОКТ 2: з  $362,77 \pm 80,47$  до  $341,69 \pm 85,68$  ( $p < 0,01$ ). У ділянках ОКТ 4 та ОКТ 7 середнє зменшення товщини сітківки після лікування першої ін'єкції становило 15,89 мкм (з  $357,5 \pm$



60,42 до 341,61 ± 78,7) та 13 мкм (з 339,61 ± 56,46 до 326,61 ± 71,39), відповідно (p<0,05).

Таблиця 4.6 – Середньогрупові значення анатомічних параметрів (за даними ОКТ) до і після лікування афліберсептом у пацієнтів з «вологодю» формою ВМД з різними генотипами ОНП rs11200638 гена *HTRA1*

До ін'єкції					
Генотипи	ОКТ 2	ОКТ 3	ОКТ 4	ОКТ 7	ОКТ 8
GG	295,5± 49,9*	268,2 ± 68,9*	294,3±53,5*	288,7± 59,4*	279,0 ± 44,2*
GA	321,3± 63,5^	301,1 ± 86,9*	319,6±60,6^	321,1± 66,4^	306,2± 62,2^
AA	362,8±80,5^	343,4 ± 84,9*	357,5± 60,4^	339,6±56,5^	328,8 ± 65,8^
Після першої ін'єкції					
Генотипи	ОКТ 2	ОКТ 3	ОКТ 4	ОКТ 7	ОКТ 8
GG	291,2 ± 54,4*	256,9± 63,9*	285,0± 51,1*	284,5± 52,7*	276,1± 56,3*
GA	311,5± 63,5^	288,5± 78,8*	308,1± 63,4^	310,5± 65,6^	297,9± 67,2^
AA	341,7± 85,7^	325,9± 97,9*	341,6± 78,7^	326,6± 71,4^	319 ± 81,27*
Після останньої ін'єкції					
Генотипи	ОКТ 2	ОКТ 3	ОКТ 4	ОКТ 7	ОКТ 8
GG	286,8± 54,7^	252,4± 64,9^	279,7± 51,2^	280,2± 52,6*	271 ± 57,61^
GA	307,9± 63,3^	286,9± 79,5*	305,6± 64,7^	307,1± 65,7^	296,0± 68,1^
AA	307,9± 63,3^	286,9± 79,5*	305,5± 64,7^	307,1± 65,7^	295,96± 68,1^

Примітка. ^p<0,05, \*p>0,05. Ділянки оптичної когерентної томографії: мкм. ОКТ 2 – внутрішня верхня ділянка (inner superior); ОКТ 3 – центральна ділянка, макула (fovea); ОКТ 4 – внутрішня нижня ділянка (inner inferior); ОКТ 7 – внутрішня назальна ділянка (inner nasal); ОКТ 8 – внутрішня скронева ділянка (inner temporal).

Після проходження повного індивідуального курсу anti-VEGF лікування у гомозигот GG, лише в ділянці ОКТ 7 середньогрупове значення зміни

товщини сітківки не мало достатнього рівня статистичної значущості. У ділянках ОКТ 2, ОКТ 3, ОКТ 4 та ОКТ 8 після повного індивідуального курсу anti-VEGF лікування набряк сітківки зменшився на 8,69 мкм ( $p < 0,05$ ), 15,82 мкм ( $p < 0,05$ ), 14,62 мкм ( $p < 0,01$ ) та 8,04 мкм ( $p < 0,05$ ) відповідно.

У гетерозиготних носіїв поліморфних варіантів rs11200638 (GA), після останньої інекції, так само, як і після першої, статистично значуще зменшення середньогрупових значень товщини сітківки спостерігали в усіх досліджених ділянках, крім зони центральної ділянки макули (ОКТ 3). В ділянках ОКТ 2, ОКТ4, ОКТ 7 та ОКТ 8 спостерігали зменшення середнього значення набряку сітківки після проходження повного індивідуального курсу anti-VEGF лікування на 13,42 мкм, 14,06 мкм, 14,03 мкм та 10,24 мкм, відповідно ( $p < 0,001$ ). У гомозигот AA найкращий ефект від лікування був виявлений у ділянці ОКТ 2, де середнє значення товщини сітківки після повного курсу лікування становило  $339,08 \pm 88,32$  мкм, знизившись на 23,69 мкм ( $p < 0,01$ ), порівняно з даними ОКТ до лікування. У ділянках ОКТ 3, ОКТ 4 та ОКТ 7 середнє значення набряку зменшилось на 18,77 мкм, 17,7 мкм та 14,53 мкм відповідно ( $p < 0,05$ ). Статистично значущих змін не було виявлено у ділянці ОКТ 8 ( $p > 0,05$ ).

Результати аналізу розподілу генотипів в залежності від індивідуальних показників відповіді на антиангіогенну терапію представлені в таблиці 4.7.

Таблиця 4.7 – Розподіл генотипів за ОНП rs11200638 гена *HTRA1* при різних варіантах відповіді на анти-VEGF терапію

Варіант відповіді на терапію	Розподіл генотипів, n (%)		
	GG	GA	AA
Є відповідь на терапію (n = 214 очей)	64	124	26
Резистентність до терапії (n = 110 очей)	28	62	20

Розподіл генотипів GG / GA / AA при наявності відповіді на терапію становив 29,9%, 57,95%, 12,15%, відповідно. При відсутності відповіді на терапію розподіл генотипів GG / GA / AA становив 25,45%, 56,36% та 18,18 %, відповідно.

Як видно з таблиць 4.8-4.10, в жодній з проаналізованих моделей успадкування не виявлено статистично значущого зв'язку резистентності до лікування у пацієнтів з «волоогою» формою ВМД.

Таблиця 4.8 – Зв'язок між відповіддю на лікування і ОНП rs11200638 гена *HTRAI*. Адитивна модель.

Генотипи	р	Відношення шансів (відповідь на лікування (0), резистентність (1))	
		значення	95% довірчий інтервал
GG	0,16	0,80	0.48 – 1.35
GA		0,94	0.59 – 1.49
AA		1,61	0.85 – 3.03

Таблиця 4.9 – Зв'язок між відповіддю на лікування і ОНП rs11200638 гена *HTRAI*. Домінантна модель.

Генотипи	р	Відношення шансів (відповідь на лікування (0), резистентність (1))	
		значення	95% довірчий інтервал
GG	0.4	0.80	0.48 – 1.35
GA + AA		1.25	0.74 – 2.10

Таблиця 4.10 – Зв’язок між відповіддю на лікування і ОНП rs11200638 гена *HTRA1*. Рецесивна модель.

Генотипи	р	Відношення шансів (відповідь на лікування (0), резистентність (1))	
		значення	95% довірчий інтервал
GG + GA	0.14	0.62	0.33 – 1.17
AA		1.61	0.85 – 3.03

Для аналізу резистентності щодо антиангіогенної терапії з носійством мінорної алелі проводили також аналіз її зв'язку з ефективністю змін в різних ділянках сітківки, результати якого представлені в таблиці 4.11.

Таблиця 4.11 – Характеристика ризику резистентності анти-VEGF терапії з носійством мінорної алелі поліморфізму rs11200638 гена *HTRA1*

Критерій	Відношення шансів		$\chi^2$	р*
	знач.	95 % CI		
ОКТ 2	0,95	0,59 – 1,54	0,036	>0,05
ОКТ 3	1,29	0,81 – 2,039	1,16	>0,05
ОКТ 4	1,1	0,684 – 1,76	0,153	>0,05
ОКТ 7	1,04	0,653 – 1,659	0,029	>0,05
ОКТ 8	1,14	0,71 – 1,82	0,3	>0,05

Примітка. Ділянки оптичної когерентної томографії: ОКТ 2 – внутрішня верхня ділянка (inner superior); ОКТ 3 – центральна ділянка, макула (fovea); ОКТ 4 – внутрішня нижня ділянка (inner inferior); ОКТ 7 – внутрішня назальна ділянка (inner nasal); ОКТ 8 – внутрішня скронева ділянка (inner temporal).

З отриманих даних можна зробити висновок, що результати логістичної моделі є статистично незначущими ( $p > 0,05$ ), оцінюючи всі зони ОКТ і після

проведення повного курсу анти-VEGF терапії (аналогічні результати були отримані і при аналізі змін після першої ін'єкції).

### **Резюме**

За результатами проведеного дослідження показано сильну асоціацію ОНП rs11200638 гена *HTRA1* з ризиком розвитку «вологоді форми» ВМД, яка залежала від алельного статусу. Зокрема, у гетерозиготних носіїв мінорного алеля показник ВШ = 1,92 (95% ДІ 1.17- 3.17),  $p < 0,0001$ ), а для гомозиготних носіїв мінорного алеля ВШ = 17,21 (95% ДІ 2.29- 129,49). При цьому, не було виявлено статистичної значущості щодо того, що наявність мінорної алелі А підвищує ризик резистентності до anti-VEGF терапії як після першої ін'єкції, так і по проходженню повного курсу лікування ( $p > 0,05$ ).

**РОЗДІЛ 5**

**ВИВЧЕННЯ ВПЛИВУ ПОЛІМОРФІЗМУ RS2010963 ГЕНА VEGFA НА ЕФЕКТИВНІСТЬ ЛІКУВАННЯ «ВОЛОГОЇ» ФОРМИ ВМД ANTI-VEGF ПРЕПАРАТАМИ**

**5.1. Аналіз асоціації поліморфізму rs2010963 гена VEGFA з ризиком розвитку «вологоді» форми ВМД.**

Зважаючи на патогенетичні механізми розвитку «вологоді» форми ВМД, у якості імовірного генетичного чинника високого ризику резистентності до anti-VEGF терапії, у ході дослідження було проаналізовано вплив поліморфізму rs2010963 гена VEGFA на ефективність лікування пацієнтів та оцінено значення цього ОНП як прогностичного фактора резистентності до терапії.

За результатами генетичного тестування було встановлено розподіл генотипів rs2010963 гена VEGFA, у порівнянні з групою контролю (див. табл. 5.1).

Таблиця 5.1 – Характеристика розподілу генотипів за ОНП rs2010963 гена VEGFA

Групи дослідження	Генотипи			Відповідність рівновазі Харді-Вайнберга	
	GG	GC	CC	$\chi^2$	<i>p</i>
Хворі (ВМД), n (%)	74 (45,7%)	70 (43,2%)	18 (11,1%)	0,04	0,84
Контроль (група порівняння), n (%)	64 (61,0%)	35 (33,3%)	6 (5,7%)	0,11	0,74

Частота зустрічальності генотипів групи порівняння становила: GG – 61,0%, GC – 33,30 % CC – 5,7%; частота мінорного алеля (A) – 0,22. Частота зустрічальності генотипів в групі хворих: GG – 45,7%, GC – 43,2%, CC – 11,1%; частота мінорного алеля (C) – 0,33. Розподіл генотипів в обох групах статистично значуще не вірізнявся від популяційної рівноваги (табл.5.1). Частота мінорного алеля в контролі (група порівняння) була співставима з даними, зазначеними в світових базах даних (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/>, <https://www.snpedia.com/>). Шанси виникнення цієї патології у носіїв мінорного алеля були в 1,69 разів більшими, ніж в групі порівняння (див. табл. 5.2.)

Таблиця 5.2 – Асоціація ризику розвитку «вологої» форми ВМД з носійством варіантних алелей ОНП rs2010963 гена *VEGFA*

Алелі	Частота		$\chi^2$	<i>p</i>	ВШ (відношення шансів)	
	хворі	контроль			значення	95 % ДІ
	n = 162	n = 105				
<i>G</i>	0.673	0.776	6.66	0.01	0.59	0.40 – 0.88
<i>C</i>	0.327	0.224			1.69	1.13 – 2.51

Результати аналізу асоціації ОНП rs2010963 гена *VEGFA* з ризиком розвитку «вологої» форми ВМД з використанням адитивної, домінантної та рецесивної моделей успадкування представлені в таблицях 5.3 – 5.5.

Таблиця 5.3 Асоціація ризику розвитку «вологоді» форми ВМД з носійством поліморфних варіантів ОНП rs2010963 гена *VEGFA*. Адитивна модель успадкування.

Генотипи	Частота		$\chi^2$	<i>p</i>	ВШ	
	хворі	Контроль			(відношення шансів)	
	n = 162	n = 105			значення	95 % ДІ
<i>G/G</i>	0.457	0.610	6.41	0.01	0.54	0.33 – 0.89
<i>G/C</i>	0.432	0.333			1.52	0.91 – 2.54
<i>C/C</i>	0.111	0.057			2.06	0.79 – 5.38

Таблиця 5.4 Асоціація ризику розвитку «вологоді» форми ВМД з носійством поліморфних варіантів ОНП rs2010963 гена *VEGFA*. Домінантна модель успадкування

Генотипи	Частота		$\chi^2$	<i>p</i>	ВШ	
	хворі	контроль			(відношення шансів)	
	n = 162	n = 105			значення	95 % ДІ
<i>G/G</i>	0.457	0.610	5.95	0.01	0.54	0.33 – 0.89
<i>G/A + A/A</i>	0.543	0.390			1.86	1.13 – 3.06



Таблиця 5.5 – Асоціація ризику розвитку «вологоді» форми ВМД з носійством поліморфних варіантів ОНП rs2010963 гена *VEGFA*. Рецесивна модель успадкування

Генотипи	Частота		$\chi^2$	<i>p</i>	ВШ	
	хворі	контроль			(відношення шансів)	
	n = 162	n = 105			значення	95 % ДІ
<i>G/G + G/A</i>	0.889	0.943	2.27	0.13	0.48	0.19 – 1.26
<i>A/A</i>	0.111	0.057			2.06	0.79 – 5.38

В адитивній і доміантній моделях виявлено статистично значущу асоціацію поліморфізму ОНП rs2010963 гена *VEGFA* з ризиком розвитку «вологоді» форми ВМД. У гетерозигот за ОНП rs2010963 ризик розвитку «вологоді» форми ВМД був в 1,52 рази більшим,  $p < 0,05$  (див. табл. 5.3). Наявність гомозиготного (CC) за мінорним алелем генотипу збільшує ризик розвитку «вологоді» форми ВМД в 2,06 рази,  $p < 0,05$ . Гомозиготне носійство мажорного алеля (GG) мало протекторний вплив щодо ризику розвитку патології: ВШ = 0,54,  $p < 0,05$ .

## 5.2. Оцінка ефективності анти-VEGF-терапії залежно від варіанту поліморфізму rs2010963 гена *VEGFA* у хворих із «вологоді» формою ВМД.

Результати аналізу середньогрупових значень функціональних і анатомічних параметрів у пацієнтів з «вологоді» формою ВМД з різними поліморфними варіантами rs2010963 гена *VEGFA* до та після проведення анти-VEGF-терапії представлені на рис. 5.1 та в таблиці 5.6.

Статистично значущих відмінностей середньогрупових значень показника гострота зору у хворих на «вологу» форму ВМД з різними генотипами ОНП rs2010963 гена *VEGFA* до лікування не було виявлено (див. рис. 5.1). Після третьої ін'єкції спостерігали статистично значуще збільшення середньогрупового значення гостроти зору у гомозиготних і гетерозиготних носіїв мажорного алеля. Проте у гомозиготних носіїв мінорного алеля не було виявлено статистично значущих змін цього показника.

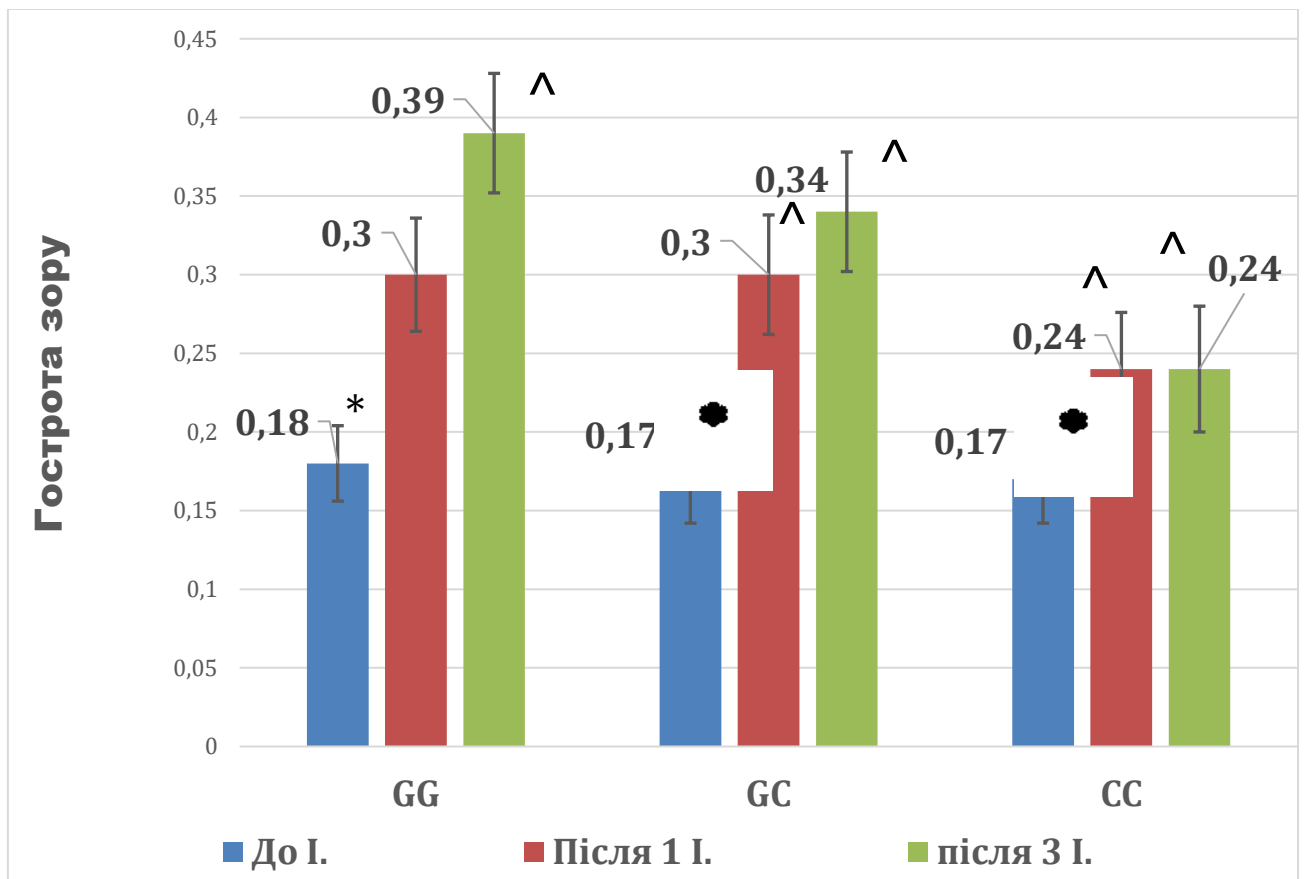


Рис. 5.1 Середньогрупові значення гостроти зору до і після лікування афліберсептом у пацієнтів з «вологою» формою ВМД з різними генотипами ОНП rs11200638 гена *HTRA1* (До І. – до ін'єкції, після 1 І. – після першої ін'єкції, після 3 І. – після останньої ін'єкції)

Примітка. \* $p > 0,05$  (при порівнянні середньогрупових показників у осіб з різними генотипами до лікування), ^ $p < 0,05$  (відмінності середньогрупових показників для кожного генотипу після першої та останньої ін'єкції, порівняно із значенням гостроти зору до лікування)

Аналіз середньогрупових значень за анатомічними критеріями, зокрема товщини (мкм) центральної ділянки макула (fovea), внутрішньої верхньої ділянки (inner superior), внутрішньої нижньої ділянки (inner inferior), внутрішньої назальної ділянки (inner nasal), внутрішньої скроневої ділянки (inner temporal) до лікування, після першої ін'єкції та після останньої ін'єкції представлені в таблиці 5.6.

Таблиця 5.6. – Середньогрупові значення анатомічних параметрів (за даними ОКТ) до і після лікування афліберсептом у пацієнтів з «вологодю» формою ВМД з різними генотипами ОНП rs2010963 гена *VEGFA*

До ін'єкції					
Генотипи	ОКТ 2	ОКТ 3	ОКТ 4	ОКТ 7	ОКТ 8
GG	304,8± 63,3 <sup>^</sup>	279,9± 77,3 <sup>^</sup>	304,8± 61,7 <sup>^</sup>	305,3±74,3 <sup>^</sup>	289,6± 63,6 <sup>^</sup>
GC	331,2±65,1 <sup>^</sup>	311,87±87,5*	325,3± 58,7 <sup>^</sup>	318,4±54,1*	310,7± 52,9*
CC	337,3±67,3*	316,6± 92,8 <sup>^</sup>	340,3± 62,1*	336,4±59,3*	316,8± 63,9*
Після першої ін'єкції					
Генотипи	ОКТ 2	ОКТ 3	ОКТ 4	ОКТ 7	ОКТ 8
GG	291,4± 61,5 <sup>^</sup>	265,7± 71,1 <sup>^</sup>	288,7± 58,1 <sup>^</sup>	291,4± 66,7 <sup>^</sup>	277,1± 69,0 <sup>^</sup>
GC	320,9± 64,8 <sup>^</sup>	292,9± 80,5*	313,8± 63,9 <sup>^</sup>	311,2±55,7*	305,3± 58,5*
CC	341,5± 69,7*	328,1± 93,4 <sup>^</sup>	345,3± 70,3*	338,0±70,1*	323,8± 74,8*
Після останньої ін'єкції					
Генотипи	ОКТ 2	ОКТ 3	ОКТ 4	ОКТ 7	ОКТ 8
GG	285,5± 59,7 <sup>^</sup>	260,7±71,1 <sup>^</sup>	283,2±58,6 <sup>^</sup>	285,6±65,3 <sup>^</sup>	272,0±69,1 <sup>^</sup>
GC	318,3± 65,6 <sup>^</sup>	291,4±81,4 <sup>^</sup>	311,7±64,4 <sup>^</sup>	308,9±56,2 <sup>^</sup>	304,8±60,4*
CC	343,2±71,7*	333,3±94,3 <sup>^</sup>	347,8±72,1*	340,1±72,2*	327,8±77,7 <sup>^</sup>

Примітка. <sup>^</sup>p<0,05, \*p>0,05. Ділянки оптичної когерентної томографії: ОКТ 2 – внутрішня верхня ділянка (inner superior); ОКТ 3 – центральна ділянка, макула (fovea); ОКТ 4 – внутрішня нижня ділянка (inner inferior); ОКТ 7 – внутрішня назальна ділянка (inner nasal); ОКТ 8 – внутрішня скронева ділянка (inner temporal).

При аналізі отриманих даних ОКТ після введення першої ін'єкції anti-VEGF агенту була виявлена гетерогенність результатів. Найбільша статистично значуща різниця у товщині сітківки спостерігалась у носіїв генотипу GG – в усіх досліджуваних зонах ОКТ спостерігали статистично значуще зменшення товщини ретіни ( $p < 0,01$ ). Позитивний клінічний ефект anti-VEGF терапії при цьому алельному варіанті імовірно свідчить на користь сприятливого впливу лікування «вологоді» форми ВМД, що дозволяло використовувати його як прогностичний фактор позитивної відповіді на лікування.

Водночас при аналізі генотипу GC статистична значущість була виявлена лише при оцінці ділянок ОКТ 2 та ОКТ 4 ( $p < 0,05$ ). Наприклад, у зоні ОКТ 2 середня товщина сітківки до лікування складала  $331,24 \pm 65,13$ , коли після застосування першої ін'єкції anti-VEGF терапії показник зменшився до  $320,86 \pm 64,77$ . У зоні ОКТ 4 ці показники склали  $325,3 \pm 58,65$  і  $313,82 \pm 63,95$  відповідно. Зменшення середніх значень товщини сітківки та наявність статистичної різниці результатів у цих зонах може свідчити про відсутність впливу rs2010963 гена VEGFA на ці ділянки сітківки у розрізі застосування лікування у вигляді anti-VEGF терапії, тоді як у зонах ОКТ 3, ОКТ 7 і ОКТ 8 відсутність значущої різниці у параметрах товщини сітківки імовірно вказує на відсутність клінічного ефекту лікування, що може свідчити на користь впливу досліджуваного ОНП на резистентність до anti-VEGF терапії.

При оцінці результатів ОКТ серед носіїв генотипу CC вірогідну різницю результатів спостерігали лише у зоні макули (ОКТ 3), де середній показник товщини сітківки збільшився з  $316,58 \pm 92,79$  до  $328,12 \pm 93,36$  ( $p < 0,001$ ). Подібна тенденція росту набряку у цій зоні незалежно від введення ін'єкцій anti-VEGF препарату імовірно вказує на відсутність впливу терапії на прогресування хвороби, принаймні, на початкових її етапах, а невірогідна різниця результатів серед інших ділянок ОКТ свідчить про відсутність позитивного клінічного ефекту від застосування anti-VEGF терапії у носіїв генотипу CC.

Під час аналізу отриманих результатів гостроти зору та даних ОКТ після введення останньої ін'єкції індивідуального курсу anti-VEGF терапії відсутність вірогідності результатів була виявлена лише при оцінці певних зон ОКТ у носіїв генотипів GC і CC. Наприклад, незначущу різницю товщини сітківки у носіїв гетерозиготи спостерігали при аналізі даних ОКТ 8, що імовірно вказувало на резистентність до anti-VEGF терапії цієї зони ретіни. При цьому серед носіїв гомозиготи за мінорною алеллю незначуща різниця спостерігалась у ділянках ОКТ 2, ОКТ 4 та ОКТ 7 ( $p > 0,05$ ), що може бути пов'язано з особливостями патогенетичної дії rs2010963 гена VEGFA у сітківці.

Також було виявлено, що серед носіїв генотипу CC у зонах ОКТ 3 та ОКТ 8 набряк сітківки мав тенденцію до прогресування незалежно від використання ін'єкцій anti-VEGF терапії ( $p < 0,05$ ). Наприклад, середня товщина макули до лікування складала  $316,58 \pm 92,79$  мкм, тоді як після введення останньої ін'єкції з індивідуального курсу anti-VEGF терапії вона зросла до  $333,29 \pm 94,29$  мкм. Водночас у ділянці ОКТ 8 ці показники складали  $316,75 \pm 63,96$  мкм та  $327,75 \pm 77,73$  мкм відповідно. Подібні результати імовірно свідчать про абсолютну відсутність впливу препаратів anti-VEGF на лікування «вологої» форми ВМД у носіїв генотипу CC, що дозволяє використовувати цей алельний варіант як прогностичний фактор резистентності до anti-VEGF терапії.

Тим часом серед носіїв дикого типу спостерігали значний статистично високозначущий позитивний ефект від anti-VEGF терапії ( $p < 0,001$ ). Наприклад, середня гострота зору у пацієнтів з початку лікування ( $0,18 \pm 0,15$ ) збільшилась до  $0,388 \pm 0,2$ , а набряк сітківки у всіх досліджуваних зонах зменшився майже на 20 мкм, що імовірно свідчить про сприятливий вплив генотипу GG і дозволяє використовувати його як прогностичний фактор позитивної відповіді на anti-VEGF терапію.

Результати аналізу розподілу генотипів в залежності від індивідуальних показників відповіді на антиангіогенну терапію представлені в таблиці 5.7.

Таблиця 5.7 – Розподіл генотипів за ОНП rs2010963 гена *VEGFA* при різних варіантах відповіді на анти-VEGF терапію

Варіант відповіді на терапію	Розподіл генотипів, n (%)		
	GG	GC	CC
Є відповідь на терапію (n = 214 очей)	101	95	18
Резистентність до терапії (n = 110 очей)	45	47	18

Як видно з таблиць 5.8 -5.10, в рецесивній моделі успадкування виявлено статистично значущий зв'язок поліморфізму rs2010963 гена *VEGFA* з резистентністю до лікування у пацієнтів з «вологою» формою ВМД.

Таблиця 5.8 – Зв'язок між відповіддю на лікування і ОНП rs2010963 гена *VEGFA*. Адитивна модель.

Генотипи	p	Відношення шансів (відповідь на лікування (0), резистентність (1))	
		значення	95% довірчий інтервал
GG	0,07	0,77	0.49 – 1.23
GC		0,93	0.59 – 1.49
CC		2,13	1.06 – 4.28

Таблиця 5.9 – Зв'язок між відповіддю на лікування і ОНП rs2010963 гена *VEGFA*. Домінантна модель.

Генотипи	p	Відношення шансів (відповідь на лікування (0), резистентність (1))	
		значення	95% довірчий інтервал
GG	0.28	0.77	0.49 – 1.23
GC + CC		1.29	0.81 – 2.06

Таблиця 5.10 – Зв'язок між відповіддю на лікування і ОНП rs2010963 гена *VEGFA*. Рецесивна модель.

Генотипи	р	Відношення шансів (відповідь на лікування (0), резистентність (1))	
		значення	95% довірчий інтервал
GG + GC	0,03	0.47	0.23 – 0.94
CC		2,13	1.06 – 4.28

Це означає, що лише у гомозиготних носіїв мінорного алеля ризик резистентності до антиангіогенної терапії в 2,13 разів більший, ніж у носіїв інших генотипів.

Для аналізу резистентності щодо антиангіогенної терапії з носійством мінорної алелі проводили також аналіз її зв'язку з ефективністю змін в різних ділянках сітківки, результати якого представлені в таблиці 5.11.

Таблиця 5.11 – Характеристика ризику резистентності анти-VEGF терапії з носійством мінорної алелі поліморфізму rs2010963 гена *VEGFA*

Критерій	Відношення шансів		$\chi^2$	р*
	значення	95% CI		
ОКТ 2	2,07	1,17 – 3,66	6,34	<0,05
ОКТ 3	2,01	1,169 – 3,45	6,46	<0,05
ОКТ 4	3,1	1,686 – 5,7	13,43	<0,001
ОКТ 7	2,49	1,4 – 4,41	9,98	<0,01
ОКТ 8	2,81	1,56 – 5,059	12,02	<0,001

Примітка. Ділянки оптичної когерентної томографії: ОКТ 2 – внутрішня верхня ділянка (inner superior); ОКТ 3 – центральна ділянка, макула (fovea); ОКТ 4 – внутрішня нижня ділянка (inner inferior); ОКТ 7 – внутрішня назальна ділянка (inner nasal); ОКТ 8 – внутрішня скронева ділянка (inner temporal).

З отриманих даних було встановлено прямий статистично значущий зв'язок між наявністю у пацієнтів мінорної алелі та відсутнім ефектом від лікування препаратами анти-VEGF після проходження повного курсу терапії ( $p < 0,05$ ).

Найбільша прогностична значущість була виявлена в ділянках ОКТ 4, ОКТ 8 і в ділянці макули (ОКТ 3). Наприклад, серед пацієнтів з наявною мінорною алеллю, у зоні ОКТ 4 шанс резистентності до лікування після повного проходження курсу терапії був у 3,1 раза вище ( $OR=3,1$ ; 95% CI 1,686 – 5,7), у порівнянні з хворими з алеллю G, а у ділянці ОКТ 8 шанс неефективного лікування був вище у 2,81 раза ( $OR=2,81$ ; 95 % CI 1,56 – 5,059).

У ділянці жовтої плями наприкінці дослідження показник відношення шансів щодо ризику розвитку резистентності до лікування становив 2,01 (95 % CI 1,169 – 3,45), що може свідчити про наростання ефективності лікування з часом у ділянці жовтої плями. Окрім цього, розбіжність показників ВШ і 95% CI у різних ділянках сітківки вказує на нерівнозначний вплив цього поліморфізму, що імовірно пов'язано з особливостями його функціонування і потребує подальших досліджень.

**Резюме.** За результатами проведеного дослідження показана асоціація ОНП rs2010963 гена *VEGFA* з ризиком розвитку «волової форми» ВМД. У гетерозигот за ОНП *rs2010963* ризик розвитку «волової форми» ВМД був в 1,52 рази більшим,  $p < 0,05$ . Наявність гомозиготного за мінорним алелем генотипу збільшує ризик розвитку «волової форми» ВМД в 2,06 рази,  $p < 0,05$ . Було виявлено статистично значущий зв'язок поліморфізму rs2010963 гена *VEGFA* з резистентністю до лікування у пацієнтів з «воловою» формою ВМД у гомозиготних носіїв мінорного алеля, ВШ = 2,13,  $p = 0.03$ .



**РОЗДІЛ 6**

**ВИВЧЕННЯ ВПЛИВУ ПОЛІМОРФІЗМУ RS1800629 ГЕНА *TNF* НА ЕФЕКТИВНІСТЬ анти-VEGF ТЕРАПІЇ ПРИ ЛІКУВАННІ «ВОЛОГОЇ» ФОРМИ ВМД**

**6.1. Аналіз асоціації поліморфізму rs1800629 гена *TNF* з ризиком розвитку «вологоді» форми ВМД.**

При визначенні залежності ефективності лікування «вологоді» форми ВМД анти-VEGF препаратами від поліморфізму rs1800629 гена *TNF*, спочатку оцінювали значущість цього генетичного маркера щодо ризику розвитку патології. З метою дослідження асоціації поліморфізму rs1800629 гена *TNF* з ризиком розвитку «вологоді» форми вікової дегенерації макули було визначено розподіл генотипів та алелей за цим поліморфізмом в групі порівняння (105 осіб) та в групі хворих пацієнтів (162 особи).

Результати генотипування в досліджених групах та відповідність розподілу генотипів рівновазі Харді-Вайнберга представлені в таблиці 6.1.

Таблиця 6.1 – Розподіл генотипів за поліморфізмом rs1800629 гена *TNF* та його відповідність закону Харді-Вайнберга у хворих на «вологоді» форму ВМД та в групі порівняння

Групи дослідження	Генотипи			Відповідність рівновазі Харді-Вайнберга	
	GG	GA	AA	$\chi^2$	<i>p</i>
Хворі (ВМД), n (%)	53 (32,7%)	101 (62,4%)	8 (4,9%)	11.09	0.0009
Контроль (група порівняння), n (%)	68 (64,8%)	34 (32,4%)	3 (2,8%)	0.21	0.65

Розподіл генотипів в групі хворих статистично значуще вірізнявся від популяційної рівноваги. Частота мінорного алеля в контролі (група порівняння) була співставима з даними, зазначеними в світових базах даних (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/>, <https://www.snpedia.com/>). Шанси виникнення цієї патології у носіїв мінорного алеля були в 2,4 разів більшими, ніж в групі порівняння (див. табл. 6.2.)

Таблиця 6.2 – Асоціація ризику розвитку «вологоді» форми ВМД з носійством варіантних алелей rs1800629 гена *TNF*

Алелі	Частота		$\chi^2$	<i>p</i>	ВШ	
	хворі	контроль			(відношення шансів)	
	n = 162	n = 105			значення	95 % ДІ
<i>G</i>	0.639	0.810	17.87	< 0.0001	0.42	0.28 – 0.63
<i>A</i>	0.361	0.190			2.40	1.59 – 3.63

Результати аналізу асоціації rs1800629 гена *TNF* з ризиком розвитку «вологоді» форми ВМД з використанням адитивної, домінантної та рецесивної моделей успадкування представлені в таблицях 6.3 – 6.5.

Таблиця 6.3 – Асоціація ризику розвитку «вологої» форми ВМД з носійством поліморфних варіантів rs1800629 гена *TNF*. Адитивна модель успадкування

Генотипи	Частота		$\chi^2$	<i>p</i>	ВШ	
	хворі	контроль			(відношення шансів)	
	n = 162	n = 105			значення	95 % ДІ
<i>G/G</i>	0.327	0.648	22.85	< 0.0001	0.26	0.16 – 0.44
<i>G/A</i>	0.623	0.324			3.46	2.06 – 5.80
<i>A/A</i>	0.049	0.029			1.77	0.46 – 6.82

Таблиця 6.4 – Асоціація ризику розвитку «вологої» форми ВМД з носійством поліморфних варіантів rs1800629 гена *TNF*. Домінантна модель успадкування

Генотипи	Частота		$\chi^2$	<i>p</i>	ВШ	
	хворі	контроль			(відношення шансів)	
	n = 162	n = 105			значення	95 % ДІ
<i>G/G</i>	0.327	0.648	26.40	< 0.0001	0.26	0.16 – 0.44
<i>G/A + A/A</i>	0.673	0.352			3.78	2.25 – 6.34

Таблиця 6.5 – Асоціація ризику розвитку «вологої» форми ВМД з носійством поліморфних варіантів rs1800629 гена *TNF*. Рецесивна модель успадкування

Генотипи	Частота		$\chi^2$	<i>p</i>	ВШ	
	хворі	контроль			(відношення шансів)	
	n = 162	n = 105			значення	95 % ДІ
<i>G/G + G/A</i>	0.951	0.971	0.70	0.4	0.57	0.15 – 2.18
<i>A/A</i>	0.049	0.029			1.77	0.46 – 6.82

Найбільш адекватною виявилася домінантна модель успадкування, відповідно до якої носійство мінорного алеля в 3,78 разів збільшує ризик розвитку патології (див. табл. 6.4.)

## **6.2. Оцінка ефективності anti-VEGF-терапії залежно від варіанту поліморфізму rs1800629 гена *TNF* у хворих із «волоогою» формою ВМД.**

Відповідно до отриманих в розд. 6.1 результатів в досліджених групах мешканців Подільського регіону України виявлена сильна асоціація ОНП rs1800629 гена *TNF* з підвищеним ризиком розвитку «волоогої» форми ВМД. Враховуючи функціональне значення цього поліморфізму в процесах запалення необхідно було з'ясувати чи існує зв'язок між носійством поліморфних варіантів та реакцією пацієнтів на лікування «волоогої форми» ВМД із застосуванням анти-VEGF-терапії шляхом інтравітреальних ін'єкцій препарату Eylea (афліберсепт).

Результати аналізу середньогрупових значень функціональних і анатомічних параметрів у пацієнтів з «волоогою формою» ВМД з різними поліморфними варіантами цього поліморфізму до та після проведення анти-VEGF-терапії представлені на рис. 6.1 та в таблиці 5.6.

Статистично значущих відмінностей середньогрупових значень показника гострота зору у хворих на «волоогою» форму ВМД з різними генотипами цього ОНП до лікування не було виявлено (див. рис. 6.1).

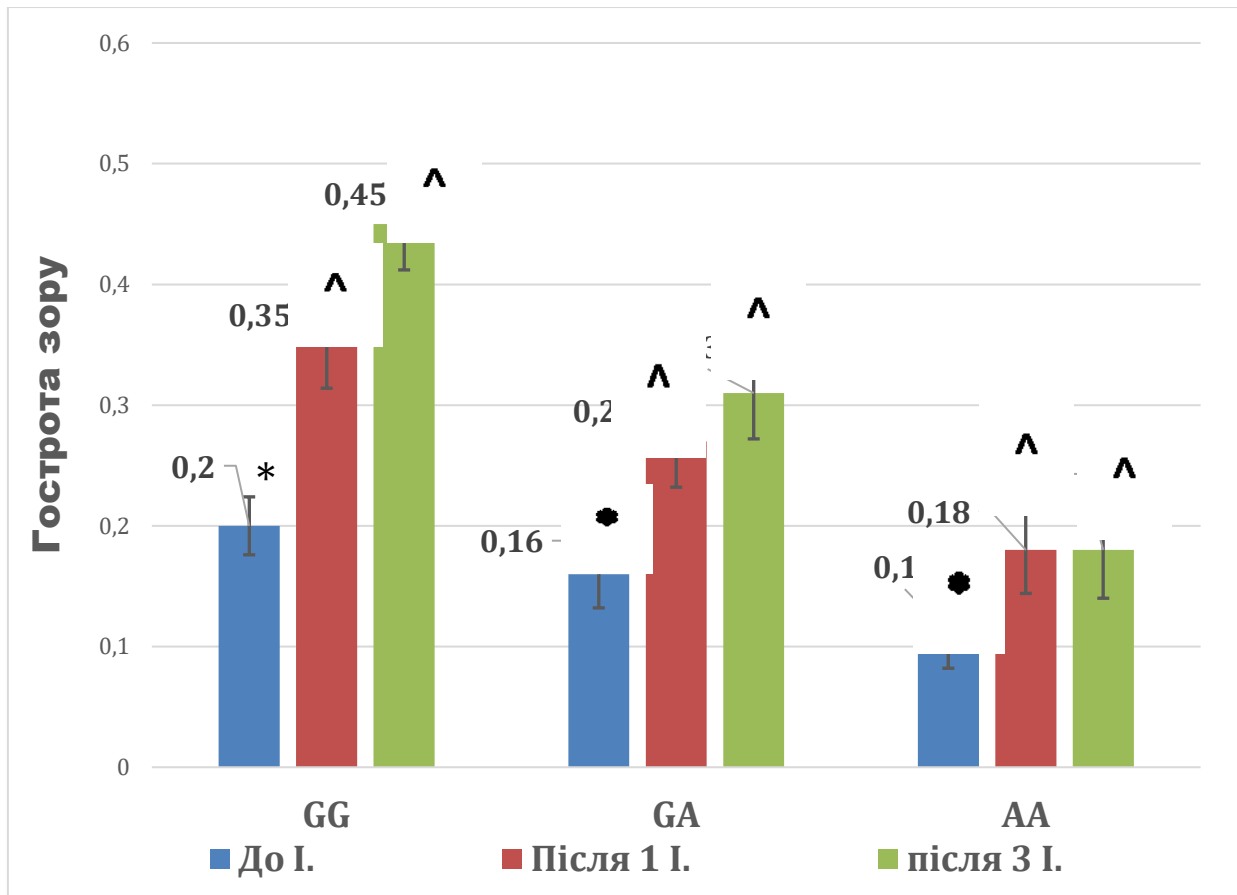


Рис. 6.1 Середньогрупові значення гостроти зору до і після лікування афліберсептом у пацієнтів з «воловою» формою ВМД з різними генотипами ОНП rs1800629 гена *TNF* (До І. – до ін'єкції, після 1 І. – після першої ін'єкції, після 3 І. – після останньої ін'єкції)

Примітка. \* $p > 0,05$  (при порівнянні середньогрупових показників у осіб з різними генотипами до лікування), ^ $p < 0,05$  (відмінності середньогрупових показників для кожного генотипу після першої та останньої ін'єкції, порівняно із значенням гостроти зору до лікування)

Аналіз середньогрупових значень за анатомічними критеріями, зокрема товщини (мкм) центральної ділянки макула (fovea), внутрішньої верхньої ділянки (inner superior), внутрішньої нижньої ділянки (inner inferior), внутрішньої назальної ділянки (inner nasal), внутрішньої скроневої ділянки (inner temporal) до лікування, після першої ін'єкції та після останньої ін'єкції представлені в таблиці 6.6.

Таблиця 6.6. – Середньогрупові значення анатомічних параметрів (за даними ОКТ) до і після лікування афліберсептом у пацієнтів з «волоогою» формою ВМД з різними генотипами ОНП rs1800629 гена *TNF*

До ін'єкції					
Генотипи	ОКТ 2	ОКТ 3	ОКТ 4	ОКТ 7	ОКТ 8
GG	295,9± 41,8 <sup>^</sup>	263,2 ± 61,9*	300,0± 49,9 <sup>^</sup>	299,7± 57,8 <sup>^</sup>	277,4 ± 48,0 <sup>^</sup>
GA	331,38 ± 70 <sup>^</sup>	313,5 ± 84,5 <sup>^</sup>	324,6± 59,8 <sup>^</sup>	321,0±62,6 <sup>^</sup>	310,0±56,7*
AA	325,6± 90,7*	315,8± 136,8*	341,5±107,0*	328,0±111,3*	344,5± 102,8*
Після першої ін'єкції					
Генотипи	ОКТ 2	ОКТ 3	ОКТ 4	ОКТ 7	ОКТ 8
GG	289,9± 46,8 <sup>^</sup>	258,6 ± 55,7*	283,2± 51,0 <sup>^</sup>	294,5± 53,3 <sup>^</sup>	268,5± 56,9 <sup>^</sup>
GA	318,8± 69,3 <sup>^</sup>	295,5± 79,7 <sup>^</sup>	314,5± 61,7 <sup>^</sup>	308,6± 62,4 <sup>^</sup>	302,6± 62,5*
AA	324,2± 97,8*	313,7± 149,5*	343,4±115,0*	332,0±117,6*	351,1± 112,4*
Після останньої ін'єкції					
Генотипи	ОКТ 2	ОКТ 3	ОКТ 4	ОКТ 7	ОКТ 8
GG	285,1± 46,9 <sup>^</sup>	254,8± 55,6*	278,4± 50,6 <sup>^</sup>	288,3±52,34 <sup>^</sup>	264,1± 56,5 <sup>^</sup>
GA	315,4± 69,5 <sup>^</sup>	293,6± 81,2 <sup>^</sup>	311,8± 63,1 <sup>^</sup>	306,2± 63,0 <sup>^</sup>	301,4± 64,8*
AA	325,7±100,9*	315,9± 152,1*	345,5±118,3*	334,0±119,1*	354,0± 113,3*

Примітка. <sup>^</sup>p<0,05, \*p>0,05. Ділянки оптичної когерентної томографії: мкм. ОКТ 2 – внутрішня верхня ділянка (inner superior); ОКТ 3 – центральна ділянка, макула (fovea); ОКТ 4 – внутрішня нижня ділянка (inner inferior); ОКТ 7 – внутрішня назальна ділянка (inner nasal); ОКТ 8 – внутрішня скронева ділянка (inner temporal).

Під час аналізу отриманих результатів гостроти зору та даних ОКТ після введення першої ін'єкції anti-VEGF агента статистичну значущість результатів спостерігали лише серед генотипів GG і GA (p<0,05). При цьому, при аналізі результатів пацієнтів із гомозиготним варіантом SNP за мінорною алеллю (AA)

достовірності результатів виявлено не було ( $p > 0,05$ ), що може свідчити про відсутність ефекту anti-VEGF лікування у пацієнтів з наявним генотипом.

Середня гострота зору після застосування першої ін'єкції anti-VEGF препарату у пацієнтів із диким типом поліморфізму rs1800629 збільшилась на 0,15 ( $p < 0,001$ ), тоді як серед хворих з гетерозиготою – на 0,11 ( $p < 0,001$ ). Разом з тим, у пацієнтів з генотипом GG найбільша різниця у показниках товщини сітківки після інтравітреального введення першої ін'єкції була виявлена у ділянках ОКТ 4 і ОКТ 8, набряк якої у них достовірно зменшився на 16,83 мкм і 8,82 мкм відповідно ( $p < 0,001$ ), що може вказувати на ефективність лікування пацієнтів з диким типом поліморфізму за допомогою anti-VEGF терапії у цих зонах сітківки. При цьому, у ділянці жовтої плями (ОКТ 3) статистично вірогідних результатів виявлено не було ( $p > 0,05$ ), що імовірно свідчить про відсутність впливу anti-VEGF препаратів у зоні макули при наявності двох алелей G.

У той же час, при аналізі даних ОКТ серед пацієнтів із гетерозиготою (GA) статистична значущість результатів була виявлена в усіх досліджуваних ділянках ( $p < 0,05$ ), окрім ОКТ 8, що може бути пов'язано з особливостями впливу поліморфізму на різні зони сітківки і потребує подальших широких досліджень ( $p > 0,05$ ). При цьому найбільша різниця спостерігалась при аналізі даних ОКТ у ділянці макули, набряк якої після введення першої ін'єкції anti-VEGF терапії зменшився на 18 мкм ( $p < 0,05$ ).

При аналізі даних ОКТ та гостроти зору пацієнтів із «волоною» формою ВМД після останньої ін'єкції індивідуального курсу лікування виявили достовірну різницю результатів у генотипах GG і GA ( $p < 0,05$ ), натомість серед хворих із генотиповим варіантом AA статистичної значущості результатів досягнуто не було ( $p < 0,05$ ), що може вказувати на відсутність впливу anti-VEGF терапії на неоваскулярні процеси у сітківці після проходження повного індивідуального курсу лікування.

Водночас серед досліджуваних з генотипом GG середня гострота зору по закінченню індивідуального курсу терапії збільшилася на 0,245, а серед пацієнтів із гетерозиготою цей показник складав 0,15, що може вказувати на кращу ефективність лікування у хворих із диким типом поліморфізму rs1800629 гена TNF. За даними ОКТ у пацієнтів із генотипом GG відсутність достовірності результатів була виявлена лише при аналізі ділянки ОКТ 3 ( $p > 0,05$ ), що імовірно свідчить про відсутність ефекту від лікування у зоні жовтої плями у пацієнтів з цим набором алелей. Натомість у ділянках ОКТ 2, ОКТ 4, ОКТ 7 і ОКТ 8 набряк сітківки після завершення повного індивідуального курсу anti-VEGF терапії зменшився на 10,85 мкм ( $p < 0,01$ ), 21,63 мкм ( $p < 0,001$ ), 11,4 мкм ( $p < 0,05$ ) та 13,31 мкм ( $p < 0,001$ ) відповідно, що вказує на позитивний ефект застосування цього методу лікування у пацієнтів із диким типом rs1800629.

Разом з тим, серед хворих з гетерозиготою (GA) найвираженіший ефект лікування було виявлено у зоні макули, в якій товщина сітківки по закінченню anti-VEGF терапії становила  $293,62 \pm 81,178$  мкм, зменшившись на 19,85 мкм ( $p < 0,05$ ), тоді як у ділянках ОКТ 2, ОКТ 4 і ОКТ 7 набряк сітківки знизився на 12,63 мкм ( $p < 0,001$ ), 10,07 мкм ( $p < 0,01$ ) і 12,35 мкм ( $p < 0,01$ ) відповідно. У той самий час у зоні ОКТ 8 достовірності результатів виявлено не було ( $p > 0,05$ ), що імовірно вказує на відсутність впливу anti-VEGF препарату на набряк сітківки у цій ділянці.

Результати аналізу розподілу генотипів в залежності від індивідуальних показників відповіді на антиангіогенну терапію представлені в таблиці 6.7.

Таблиця 6.7 – Розподіл генотипів за ОНП rs1800629 гена *TNF* при різних варіантах відповіді на анти-VEGF терапію

Варіант відповіді на терапію	Розподіл генотипів, n (%)		
	GG	GA	AA
Є відповідь на терапію (n = 214 очей)	77	128	9
Резистентність до терапії (n = 110 очей)	27	76	7



Як видно з таблиць 6.8 -6.10, в адитивній та доміантній моделях успадкування виявлено статистично значущий зв'язок поліморфізму з резистентністю до лікування у пацієнтів з «волоогою» формою ВМД.

Таблиця 6.8 – Зв'язок між відповіддю на лікування і ОНП rs1800629 гена *TNF*. Адитивна модель.

Генотипи	р	Відношення шансів (відповідь на лікування (0), резистентність (1))	
		значення	95% довірчий інтервал
GG	0.03	0.58	0.35 – 0.97
GA		1.50	0.92 – 2.45
AA		1.55	0.56 – 4.27

Таблиця 6.9 – Зв'язок між відповіддю на лікування і ОНП rs1800629 гена *TNF*. Доміантна модель.

Генотипи	р	Відношення шансів (відповідь на лікування (0), резистентність (1))	
		значення	95% довірчий інтервал
GG	0.04	0.58	0.35 – 0.97
GA + AA		1.73	1.03 – 2.90

Таблиця 6.10 – Зв'язок між відповіддю на лікування і ОНП rs1800629 гена *TNF*. Рецесивна модель.

Генотипи	р	Відношення шансів (відповідь на лікування (0), резистентність (1))	
		значення	95% довірчий інтервал
GG + GA	0.4	0.65	0.23 – 1.78
AA		1.55	0.56 – 4.27

Для аналізу резистентності щодо антиангіогенної терапії з носійством мінорної алелі проводили також аналіз її зв'язку з ефективністю змін в різних ділянках сітківки, результати якого представлені в таблиці 6.11.

Таблиця 6.11 – Характеристика ризику резистентності анти-VEGF терапії з носійством мінорної алелі поліморфізму rs1800629 гена *TNF*

Критерій	Відношення шансів		$\chi^2$	p*
	знач.	95% CI		
ОКТ 2	2,07	1,17 – 3,66	6,34	<0,05
ОКТ 3	2,01	1,169 – 3,45	6,46	<0,05
ОКТ 4	3,1	1,686 – 5,7	13,43	<0,001
ОКТ 7	2,49	1,4 – 4,41	9,98	<0,01
ОКТ 8	2,81	1,56 – 5,059	12,02	<0,001

Примітка. В – коефіцієнт регресії;  $\pm Se\beta$  – помилка коефіцієнта регресії; p – значущість відмінностей коефіцієнтів регресії від нульової гіпотези; OR – відношення шансів; 95% CI – 95% вірогідний інтервал;  $\chi^2$  – критерій хі-квадрат; p\* – рівень значущості  $\chi^2$ . Ділянки оптичної когерентної томографії: ОКТ 2 – внутрішня верхня ділянка (inner superior); ОКТ 3 – центральна ділянка, макула (fovea); ОКТ 4 – внутрішня нижня ділянка (inner inferior); ОКТ 7 – внутрішня назальна ділянка (inner nasal); ОКТ 8 – внутрішня скронева ділянка (inner temporal).

З отриманих даних було встановлено прямий статистично значущий зв'язок між наявністю у пацієнтів мутантної алелі А та відсутнім ефектом від лікування препаратами anti-VEGF як після першої ін'єкції, так і після проходження повного курсу терапії (p<0,05).

Найбільша прогностична значущість була виявлена в ділянках ОКТ 4, ОКТ 8 і в ділянці макули (ОКТ 3). Наприклад, серед пацієнтів з наявною мутантною алеллю А, у зоні ОКТ 4 шанс резистентності до лікування після повного проходження курсу терапії був у 3,1 раза вище (ВШ=3,1; 95% CI 1,686 – 5,7), у

порівнянні з хворими з алеллю G, а у ділянці ОКТ 8 шанс неефективного лікування був вище у 2,81 раза (ВШ=2,81; 95 % СІ 1,56 – 5,059).

При цьому, у ділянці жовтої плями спостерігали зниження шансу неефективності лікування протягом всього курсу терапії. Так, після першої ін'єкції у носіїв алелі А ризик виникнення резистентності до лікування становив 2,86 раза (ВШ=2,86; 95 % СІ 1,62 – 5,06), а наприкінці дослідження він знизився до 2 разів (ВШ=2,01; 95 % СІ 1,169 – 3,45), що може свідчити про наростання ефективності лікування з часом у ділянці жовтої плями. Окрім цього, розбіжність показників ВШ і 95% СІ у різних ділянках сітківки вказує на нерівнозначний вплив поліморфізму гена *TNF rs1800629* на орган зору, що імовірно пов'язано з особливостями його функціонування і потребує подальших досліджень.

**Резюме.** За результатами проведеного дослідження показана асоціація ОНП *rs1800629* гена *TNF* з ризиком розвитку «вологої форми» ВМД. У носіїв мінорного алеля збільшується ризик розвитку «вологої» форми ВМД в 3,78 рази  $p < 0,05$ . Було виявлено статистично значущий зв'язок поліморфізму ОНП *rs1800629* гена *TNF* з резистентністю до лікування у пацієнтів з «вологою» формою ВМД у гомозиготних і гетерозиготних носіїв мінорного алеля, ВШ = 1,55 та 1.50, відповідно,  $p = 0.03$ .

## РОЗДІЛ 7

### АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ

Вікова макулярна дегенерація є однією з найпоширеніших необоротних причин втрати зору у людей похилого віку. На додаток до сильної вікової залежності захворювання встановлено, що на розвиток дегенеративних змін у структурах макулярної області (хоріокапілярів, мембрани Бруха, ПЕС) також впливають ряд метаболічних, функціональних, генетичних та екологічних факторів, які, взаємодіючи між собою, різним ступенем сприяють появі та розвитку клінічної картини ВМД [160].

Європейський Консорціум Епідеміології Очних Хвороб відмічає щодалі значне поширення патології у європейській популяції. Шляхом математичного моделювання вдалося з'ясувати приблизні темпи поширення захворювання і допустити, що до 2040 року кількість людей у Європі з ранньою ВМД налічуватиме від 14,9 до 21,5 мільйонів осіб, а з пізньою ВМД – від 3,9 до 4,8 мільйона [38]. За даними аналізу World Report on Vision від ВООЗ, датованого 2019 роком, проблема поширення патології стає все більш актуальною – серед 2,2 мільярда людей, що мають погіршення зору різного генезу, ВМД займає 3-тє місце в структурі захворюваності та налічує близько 196 мільйонів осіб, що страждають на різні її форми [234].

Клінічна класифікація ВМД включає консенсусну номенклатуру, де за основу градації взято наявність друзів та їх розмір. Таким чином слід вважати, що особи без видимих друзів або пігментних аномалій не мають ознак ВМД. Особи з невеликими друзами (<63 мкм), мають нормальні вікові зміни без клінічно значущого підвищеного ризику розвитку пізньої ВМД. Людей із друзами середніх розмірів ( $\geq 63$ -<125 мкм), але без пігментних аномалій, відносять до таких, що мають ранню ВМД

Осіб, які мають друзи великих розмірів або пігментні аномалії, пов'язані з принаймні друзами середніх розмірів, ідентифікують як хворих на проміжну ВМД. Особи з ураженнями, пов'язаними з неоваскулярною ВМД або

географічною атрофією, слід вважати такими, що мають пізню ВМД [63]. Враховуючи патологоанатомічні особливості захворювання, класично виділяють дві підгрупи ВМД: атрофічну («суха» форма) і ексудативну («волога» форма, що поділяється на два типи, в залежності від особливостей неоваскуляризації).

«Суха» форма (також відома як географічна атрофія, як центральна, так і/або нецентральна) зазвичай характеризується прогресивним перебігом, що призводить до дегенерації ПЕС та фоторецепторів. Порушення їх нормальної роботи є одним з початкових механізмів клінічної маніфестації атрофічної форми захворювання. Унаслідок ураження цих структур сітківки втрачається адекватне сприйняття зорових подразників та фототрансдукція, що з часом веде до прогресивної втрати зору [19, 148, 186].

Окрім того, ураження шару пігментного епітелію веде до ураження гемато-ретинального бар'єру та дисфункції клітин макрофагальної системи при захопленні та деградації вільних радикалів кисню, що погіршує перебіг захворювання та сприяє його трансформації [43, 175]. Так, понад 80% усіх людей із проміжною та розвиненою ВМД мають «суху» форму, але ця форма може прогресувати у «вологу», що призводить до значно більшої втрати зору [198].

Основними судинними структурами сітківки ока є судинна оболонка та хоріокапіляр. Мікросудинні ураження у цих ділянках ретіни при фізіологічних умовах швидко підлягають повному відновленню. Однак, внаслідок впливу системних захворювань та вікових змін організму баланс у роботі про-/антиангіогенної систем зміщується, що може вести до неоваскуляризації [21]. Це пов'язано з тим, що першочерговому руйнуванню при наявності системних хвороб (гіпертонічної хвороби, цукрового діабету тощо) піддається мембрана Бруха, яка опосередковує взаємодію між шаром пігментного епітелію та хоріокапіляром [173, 220]. При цьому дегенеративні зміни у мембрані провокують судинні пошкодження в хоріокапілярі та активацію факторів росту, які викликають неоваскулярні порушення в сітківці.

Тому на сьогодні вважається, що основна роль у виникненні та прогресуванні ексудативної ВМД відіграє хоріоїдальна неоваскуляризація, викликана дисрегуляцією факторів росту. У здорових осіб ендотеліальні клітини, які вистилають кровоносні судини, стійкі до неоваскулярних подразників, а в судинах сітківки відбувається повільна проліферація ендотеліальних клітин. Такі клітини є відносно «тихими» через баланс між проангіогенними (наприклад, фактор росту ендотелію судин (VEGF)) та антиангіогенними (наприклад, фактор, що походить від пігментного епітелію (PEDF)) чинниками – PEDF запобігав раннім мітогенним сигналам VEGF-A в ендотеліальних клітинах і тим самим знижував мітотичну активність у них, блокуючи проліферацію, міграцію та утворення трубок шляхом інгібування фосфорилування та активації п'яти основних сигнальних паттернів VEGF-A.

Однак, при функціональній гіперактивності проангіогенної сигналізації (наприклад, VEGF > PEDF) починається ріст нових судин, які характеризуються своєю слабкістю та ламкістю, таким чином часто являючись каталізаторами кровотеч у внутрішніх шарах сітківки або субретинальному просторі. У кінцевому результаті часті крововиливи ведуть до фіброзу уражених ділянок ретини та незворотнього погіршення центрального зору до повної сліпоти [123, 249]. Через це, з огляду на провідну роль VEGF у розвитку «вологоді» форми ВМД, найбільш актуальні на сьогодні терапевтичні стратегії лікування захворювання, зокрема anti-VEGF терапія, спрямовані на зниження активності цього фактору. Проте, при виникненні мутацій у гені VEGFA, який кодує синтез VEGF, клінічний ефект лікування може бути недосяжний.

Якщо мутації в гені є відомими факторами ризику розвитку ексудативної форми ВМД, то вплив його окремих поліморфізмів, зокрема rs2010963, на відповідь пацієнта до анти-VEGF терапії залишається недостатньо вивченою. Вищезазначене й обумовило вибір rs2010963 гена VEGFA як одного з кандидатів для дослідження, вплив якого на клінічну ефективність анти-VEGF терапії у пацієнтів з «вологоді» формою ВМД оцінювали під час виконання роботи [14,

210].

Результати розподілу частот генотипів та алелей rs2010963 гена *VEGFA*, в групі порівняння були співставимі з даними, зазначеними в світових базах даних (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/>, <https://www.snpedia.com/>). Розподіл генотипів при цьому відповідав рівновазі Харді-Вайнберга (див. табл. 5.1-5.2). Зокрема, частота мінорного алеля в цій групі становила 22,4%. Розподіл генотипів: GG – 61,0%, GC – 33,30 % CC – 5,7%. Отримані результати свідчать про те, що проведене генотипування контрольної групи є адекватними і його результати можуть бути використані для аналізу асоціації з ризиком розвитку патології чи резистентності до лікування при порівнянні з результатами генотипування пацієнтів з «вологою» формою ВМД. Було встановлено, що в групі хворих на «вологу» форму ВМД частота мінорного алеля була статистично значуще ( $p = 0,01$ ) більшою – 32,7%, а розподіл генотипів був наступним: GG – 45,7%, GC – 43,2%, CC – 11,1%. Проведений аналіз асоціації ОНП rs2010963 гена *VEGFA* з ризиком розвитку патології в різних моделях успадкування (див. табл. 5.3-5.5) виявив зв'язок цього поліморфізму в адитивній і домінантній моделі успадкування. Це свідчить про те, що і гетерезиготне і гомозиготне носійство мінорного алеля підвищує ризик розвитку «вологої» форми ВМД. При цьому у гомозигот за мінорним алелем, ризик більший, ніж у гетерозигот: ВШ = 2.06 ( 95 % ДІ 0.79 – 5.38) та ВШ = 1.52 ( 95 % ДІ 0.91 – 2.54), відповідно ( $p = 0.01$ ). Статистично значуще переважання носіїв мінорного алеля С серед пацієнтів із «вологою» формою ВМД, порівняно з контрольною групою, вказує на роль цього ОНП у розвитку неоваскуляризації сітківки та може бути пов'язаним із функціональними особливостями *VEGFA*.

Ген *VEGFA* представляє собою тирозинкіназний глікопротеїн, що являється пусковим фактором як для фізіологічного, так і для патологічного ангиогенезу та розвитку неоваскулярної ВМД [126, 183]. Як було сказано вище, цей ген входить до генної мережі PDGF/VEGF з великою кількістю про- та антиангіогенних факторів. Його кодуюча ділянка розташовується у локусі бр21.1

[73]. VEGFA кодує гепарин-зв'язуючий білок – VEGF, який існує у вигляді гомодимеру з дисульфідним зв'язком. Цей фактор росту викликає проліферацію і міграцію ендотеліальних клітин судин [130, 202].

Наприклад, у проведеному Blasiak J. Et al. Експерименті на тваринах, порушення функції цього гена у мишей призвело до аномального утворення ембріональних кровоносних судин. Його поліморфізм rs2010963 (+405G/C), розташований в 5'-нетрансльованій ділянці гена, підвищує синтез VEGF, результатом чого є неоваскуляризація у сітківці.

При цьому, утворена стінка судин є високопроникною, а їх вміст просочується у шари сітківки, зумовлюючи розвиток фіброзного гліозу, який призводить до утворення дископодібного рубця і різкого погіршення зору [22]. Про вплив rs2010963 на виникнення «вологоді» форми ВМД у європейській популяції вперше вказали Janik-Papis K. Et al., які виявили асоціацію ОНП із розвитком захворювання (OR 2.90, 95 % CI 1.89–4.48) [99].

Водночас Huang C. Et al. Не встановили статистично значущий зв'язок між даним поліморфізмом гена VEGFA та розвитком неоваскуляризації в сітківці, а Shengchun L. Et al. Виявили слабкий зв'язок між гетерозиготним варіантом гена (GC) та розвитком «вологоді» форми захворювання. Зважаючи на різну расову приналежність пацієнтів у дослідженнях Janik-Papis K. Et al., Shengchun L. Et al. Та Huang C. Et al., подібна розбіжність у визначенні ролі поліморфізму може пояснюватись етнічними особливостями його функціонування, що може бути темою для подальших робіт у цій сфері [92, 131].

Завдяки патогенетичним особливостям функціонування rs2010963 також можна обґрунтувати вперше виявлений серед української популяції вплив цього ОНП на клінічний ефект анти-VEGF терапії в пацієнтів із «вологоді» формою ВМД. Раніше у проспективному когортному дослідженні Boltz A. Et al. Серед 141 пацієнта американського етносу повідомлялось, що наявність ОНП може використовуватись лише як один із незначних факторів резистентності до терапії [24].



До подібних результатів також прийшли Habibi I. Et al. Серед пацієнтів африканської популяції, у яких ефективність проведеного лікування визначалась на основі зміни гостроти зору на початку лікування та через рік від старту терапії. При цьому, слабка кореляція між наявністю поліморфізму та гіршою відповіддю на лікування була виявлена лише при аналізі гетерозиготного варіанту ОНП, що могло бути пов'язано як з особливостями функціонування гена серед хворих африканського етносу, так і з вибором показника гостроти зору як маркера ефективності лікувального процесу [81].

Однак, у результаті нашого дослідження було встановлено, що наявність гомозиготного носійства мінорної алелі С підвищує ризик резистентності до анти-VEGF терапії як при аналізі індивідуальних показників відповіді (див. табл. 5.10) на лікування, так і при аналізі значень середньогрупових показників функціонального і анатомічних параметрів після першої ін'єкції та по проходженню повного курсу лікування ( $p < 0,05$ ). Можливою причиною цього явища може бути розвиток фармакодинамічної толерантності до анти-VEGF терапії, описаної в дослідженні Binder S., яка виявила, що резистентність до лікування виникає внаслідок підвищеної експресії VEGF та/або її рецепторів [20]. При цьому привертає увагу, що гетерозигот за ОНП rs2010963 гена *VEGFA* в нашому дослідженні не виявлено статистично значущого збільшення ризику резистентності до лікування. Це, на нашу думку може бути обумовлено специфікою прояву функціонального значення цього поліморфізму і таргетним характером антиангіогенної терапії. Так у гомозигот за мажорним алелем ризик розвитку резистентності може бути значно зменшений, порівняно з носіями інших генотипів (див. табл. 5.8, 5.9), внаслідок того, що не відбувається надмірної експресії продукту гена *VEGFA*. У гетерозигот за цим поліморфізмом один з алелей змінює свою функціональну активність і призводить до підвищеної експресії *VEGFA*. Це, в свою чергу, обумовлює більшу активність процесів неоваскуляризації, що є фактором ризику розвитку або ускладнення «волової» форми ВМД. Останнє підтверджується результатами нашого аналізу асоціації

ОНП rs2010963 гена *VEGFA* з ризиком розвитку патології серед мешканців Подільського регіону України (див. табл. 5.3,5.4), де було показано що і гетерозиготні і гомозиготні носії мінорного алеля обумовлюють підвищений ризик розвитку патології: ВШ = 1,52 (95 % ДІ 0.91 – 2.54) та 2,06 (95 % ДІ 0.79 – 5.38), відповідно,  $p = 0,01$ . Але оскільки проведена терапія спрямована на пригнічення проангіогенних процесів, то вона ефективна для гомозиготних носіїв мажорного алеля. Ефективність цієї терапії показана в нашому дослідженні і для пацієнтів, у яких лише один алель (мінорний варіант поліморфізму) з двох призводить до підвищеної експресії VEGFA, оскільки вона спрямована на антиангіогенні ефекти лікування. Проте, при наявності двох функціонально змінених алелей, які обумовлюють ще більший ефект щодо надмірної експресії VEGFA, проведена таргетна антиангіогенна терапія вже стає менш ефективною. Що з однієї сторони підтверджується збільшенням ризику розвитку патології у гомозиготних носіїв СС за показником відношення шансів – з 1,52 до 2,06. З іншої – до резистентності щодо антиангіогенної терапії саме у гомозиготних носіїв мінорного алеля і відсутності її у гетерозигот.

Крім вищесказаного, ми звернули увагу на різний ефект від лікування в окремих ділянках сітківки. Особливо сильний вплив алелі С після проведеної терапії спостерігали у ділянках ОКТ 2 (ВШ =5,89; 95 % СІ 3,31 – 10,49) та ОКТ 3 (ВШ=4,76; 95 % СІ 2,79 – 8,13), що ймовірно вказує на гетерогенний вплив rs2010963 на сітківку ( $p<0,001$ ). Таким чином, наявність мінорної алелі С rs2010963 гена VEGFA може призводити до порушення рівноваги між про- та антиангіогенними факторами, що могло обумовлювати виражений ступінь асоціації обраного для аналізу ОНП із виникненням резистентності до дії анти-VEGF препаратів у нашій когорті досліджуваних. Механізм виявленої нами гетерогенності дії ОНП на сьогодні не вивчений, через що потребує подальших досліджень.

Окрім того, гомозиготне носійство мажорної алелі G обумовлює нормальне функціонування продукту гена, що може запобігти дисрегуляції про-

/антиангіогенного гомеостазу, розвитку «вологої» форми ВМД та/або резистентності до anti-VEGF терапії.

Було б помилкою розглядати процес неоваскуляризації ізольовано від інших патогенних впливів, що доповнюють один одного – це складна взаємодія між численними стимуляторами та інгібіторами ангіогенезу, які зазвичай знаходяться регуляторними впливами [13]. Сучасні дані свідчать, що на розвиток дисбалансу між цими системами впливають гіпоксія сітківки та місцеве запалення, що створюють клітинне та молекулярне середовище, сприятливе для поширення проангіогенних чинників [192].

Виявлено, що нейтрофіли, макрофаги, опасисті клітини, активована мікроглія – усі вони здатні продукувати та вивільняти низку проангіогенних факторів, включаючи VEGF [113]. Для детального вивчення цих обабічних впливів було проведено рандомізоване багатоцентрове дослідження САТТ, що пролило світло на раніше невідомі асоціації генетичних тригерів з початком та перебігом патології, а також ефективності лікування.

Наприклад, у поодиноких публікаціях описується асоціативний зв'язок між резистентністю до anti-VEGF терапії та поліморфізмом rs11200638 гена HTRA1 внаслідок його прямого впливу на розвиток і перебіг імунних реакцій в організмі – 755 учасників САТТ мали алелі ризику HTRA1, що при ОКТ були пов'язані з високим ризиком прогресування псевдодроз [127]. Знову ж таки, серед української популяції подібні дослідження не проводились, що обумовило вибір цих ОНП, роль яких у відповіді пацієнтів із ВМД на anti-VEGF терапію досліджували в роботі.

Отримані результати можуть бути обґрунтуванням не тільки впровадження проведення молекулярно-генетичного аналізу з метою проведення генотипування пацієнтів з «вологою» формою ВМД за ОНП rs2010963 гена *VEGFA* для визначення ризику резистентності до антиангіогенної терапії, але й підставою для персоналізації лікування, зокрема, у носіїв гомозиготних за мінорним алелем даного однонуклеотидного поліморфізму

доцільним було б збільшення дози препарату, наприклад за рахнок збільшення кількості інекцій за курс.

Незважаючи на високий ризик розвитку патології для носіїв варіантних алелей ОНП rs11200638 гена *HTRA1* зв'язок їх з ефективністю антиангіогенної терапії виявився іншим, ніж для ОНП rs2010963 гена *VEGFA*.

Частота зустрічальності генотипів групі порівняння становила: GG – 59,05%, GA – 40,0 % AA – 0,95%; частота мінорного алеля (A) – 0,21. Частота зустрічальності генотипів в групі хворх: GG – 29,60%, GA – 56,20%, AA – 14,2%; частота мінорного алеля (A) – 0,42. Розподіл генотипів в обох групах статистично значуще не вірізнявся від популяційної рівноваги. Частота мінорного алеля в контролі (група порівняння) була співставима з даними, зазначеними в світових базах даних (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/>, <https://www.snpedia.com/>). Разом з тим, в групі хворих з «волоогою» формою ВМД частота мінорного алеля ОНП *rs11200638* була статистично значуще більшою, ніж в групі порівняння. Шанси виникнення цієї патології у носіїв мінорного алеля були в 2,4 разів більшими, ніж в групі порівняння (див. табл. 4.2.). У гетерозигот за ОНП *rs11200638* ризик розвитку «волоогої» форми ВМД був в 1,92 рази більшим,  $p < 0,05$  (див. табл. 4.3). Наявність гомозиготного (AA) за мінорним алелем генотипу збільшує ризик розвитку «волоогої» форми ВМД в 17,21 рази,  $p < 0,05$  (див. з табл. 4.5). Гомозиготне носійство мажорного алеля (GG) мало протекторний вплив щодо ризику розвитку патології: ВШ = 0,29,  $p < 0,05$  (див. табл.4.3-4.4).

Аналізуючи можливі патогенетичні механізми впливу ОНП rs11200638 гена *HTRA1* на розвиток неоваскуляризації варто розглянути його функціональне значення. Ген *HTRA1* (серинова пептидаза 1) знаходиться у локусі 10q26.13 і кодує білок сімейства серинових протеаз трипсину з молекулярною масою 51287 Да, який є ферментом, що регулює доступність інсуліноподібних факторів росту шляхом розщеплення IGF-зв'язуючих білків. Синтезовані серинові протеази володіють безліччю мішеней, включаючи білки

позаклітинного матриксу, такі як фібронектин.

Його фрагменти додатково спонукають синовіальні клітини підвищувати вироблення металопротеїназ MMP1 і MMP3, що пов'язують з ризиком прогресування ВМД до хоріоїдної неоваскуляризації. Водночас відомо, що HTRA1 пригнічує передачу сигналів трансформуючого фактора росту- $\beta$ , впливає на сигнальні шляхи, що регулюють взаємні впливи мікроглії, активність резидентних імунних клітин мозку і судин сітківки. Таким чином, через вплив на опосередковані мікроглією імунні відповіді ген HTRA1 також може бути залучений до патогенезу ВМД [4].

Так, за останні роки дослідження геномних асоціацій, вчені успішно виявили множинні однонуклеотидні поліморфізми, пов'язані зі сприйнятливістю до ВМД, зокрема поліморфізм HTRA1, розташований у промоторній ділянці (rs11200638). Цей ОНП пов'язують із підвищеними рівнями білку HTRA1 у друзях, пігментному епітелії сітківки та хоріоїдальних неоваскулярних мембранах ока у хворих із ВМД, що підтверджується даними протеомного аналізу [100]. Крім того, Zhang et al. Повідомляють, що ген HTRA1 відіграє ключову роль у надмірному ангиогенезі через трансформацію фактора диференціації росту  $\beta$ , що входить до складу членів сімейства факторів росту- $\beta$  [248].

Перші переконливі докази про підвищену схильність до розвитку «вологоді» форми ВМД у своєму дослідженні наводять Dewan A. Et al., які встановили, що наявність ОНП rs11200638 гена HTRA1 у пацієнтів європейської популяції майже у 10 разів підвищує ризик розвитку неоваскуляризації сітківки, а Yang Z. Et al. Отримали такі ж результати при аналізі ролі поліморфізму в японській популяції [49, 240].

Сучасні дослідження також підтверджують вплив ОНП на процеси неоваскуляризації сітківки. Наприклад, у мета-аналізі Liu Y. Et al. Продемонстровано достовірну асоціацію між rs11200638 та «вологоді» формою ВМД як у європейській, так і у азійських популяціях, особливо у носіїв генотипу

AA [132]. До таких же результатів у індійській популяції прийшли Sharma K. Et al., що додатково вказує на роль досліджуваного нами ОНП у розвитку та перебігу захворювання [190]. Тож з огляду на вказану інформацію нас зацікавив зв'язок між варіантом генотипу rs11200638 і реакцією на лікування.

Проте, результати аналізу розподілу генотипів в залежності від індивідуальних показників відповіді на антиангіогенну терапію не виявили статистично значущого зв'язку носійства різних генотипів за цим поліморфізмом з резистентністю до лікування (див. табл. 4.8-4.10).

Статистична значущість в окремих випадках була виявлена при аналізі деяких середньогрупових функціональних і анатомічних параметрів. Найгірший ефект спостерігався щодо показників для гомозиготного мінорного генотипу AA, коли середня гострота зору збільшилась лише на 0,1 після повного курсу анти-VEGF терапії, що не дає змоги стверджувати про безперечний ефект лікування. Водночас статистичної значущості щодо того, що наявність мінорної алелі А або генотипів GA чи AA підвищує ризик резистентності до анти-VEGF терапії як після першої ін'єкції, так і по проходженню повного курсу лікування встановлено не було ( $p > 0,05$ ), що потребує подальших досліджень.

У той самий час результати вивчення впливу rs11200638 на розвиток резистентності до анти-VEGF терапії серед іноземних джерел також неоднозначні. Наприклад, Park U. Et al. У проспективному дослідженні продемонстрували покращення відповіді на лікування серед осіб-носіїв мутантного типу поліморфізму rs11200638, у порівнянні з хворими носіями дикої алелі G [165], тоді як у роботах Abedi F. Et al. Та Nur M. Et al. Вказується про погіршення ефективності anti-VEGF терапії у носіїв мутантної алелі А даного поліморфізму [2, 150].

Особливу увагу привертає факт, з'ясований у ході системного мета-аналізу Zhou et al. – як виявилось, ОНП промоторного регіону *HTRA1* був пов'язаний із гіршим візуальним та клінічним результатом при лікуванні ранібізумабом або бевацизумабом при неоваскулярній ВМД, що вказувало на сильні

фармакогенетичні зв'язки цього варіабельного локусу з VEGF, проте, у ході дослідження вчені не виявили статистично значущого зв'язку між наявністю мутантної алелі А та гіршим клінічним ефектом після анти-VEGF терапії [255].

Неоднозначність результатів можна пояснити етнічними відмінностями взаємодії ОНП та багатогранністю функцій гена *HTRA1*. З усім тим, відсутність однозначних даних щодо впливу rs11200638 на резистентність до анти-VEGF терапії серед українців вказує на потребу в подальших дослідженнях у цій сфері.

Аналіз впливу *HTRA1* дозволяє розглянути етіологічні фактори ВМД як розгалужену мережу впливів прозапальних медіаторів та їх інгібіторів, адже відомо, що системні рівні прозапальних цитокінів та активованих компонентів комплементу впливають на ризик та/або прогресування неоваскулярної вікової макулярної дегенерації. Найпершим джерелом поліморфізмів, що привертає увагу в цьому кластері, став поліфункціональний ген *TNF* [115].

Розподіл частот у нашому дослідженні мутантних алелей та генотипів rs1800629 гена *TNF* також порівняли між пацієнтами з ВМД та контрольною групою. Мінорна алель А значно частіше виявлялась серед хворих (0,3611), ніж серед групи порівняння (0,1095). При цьому мажорна алель G переважала серед останніх (0,8095), що може вказувати на її протективний вплив. За аналізом генотипів було встановлено значне переважання мутантних генотипів GA (0,462) та AA (0,131) серед хворих, ніж у групі порівняння, де частоти цих варіантів поліморфізму склали 0,309 та 0,036 відповідно, що може свідчити про вплив rs1800629 гена *TNF* на розвиток неоваскуляризації сітківки. Додатково на протективну роль мажорної алелі вказує те, що дикий тип ОНП (GG) частіше виявлявся поміж осіб без ВМД (0,654), ніж серед пацієнтів із «воловою» формою (0,407).

При подальшому аналізі ми встановили, що наявність мутантної алелі А підвищує ризик резистентності до anti-VEGF терапії як після першої ін'єкції, так і по проходженню повного курсу лікування ( $p < 0,05$ ). Особливо сильний вплив ОНП після проведеної терапії спостерігали у ділянках ОКТ 4 (OR=3,1; 95 % CI

1,686 – 5,7), ОКТ 8 (OR=2,81; 95 % CI 1,56 – 5,059) та ОКТ 3 (OR=2,01; 95 % CI 1,169 – 3,45), що ймовірно вказує на гетерогенний вплив rs1800629 на сітківку. При цьому, у ділянці макули шанс резистентності до anti-VEGF терапії протягом лікування знижувався, що може свідчити про наростання ефективності з часом у ділянці жовтої плями.

За результатами дослідження вперше серед представників української популяції був виявлений вплив поліморфізму rs1800629 гена TNF на клінічний ефект anti-VEGF терапії у пацієнтів із ВМД. При оцінці впливу мутантних генотипів на ефективність anti-VEGF терапії було виявлено, що носійство як гетерозиготного варіанту ОНП, так і гомозиготного варіанту за мінорною алеллю значно сприяло виникненню резистентності до лікування ( $p < 0,05$ ). Найбільша прогностична значущість при генотипі GA була встановлена у ділянках ОКТ 4 (RR=1,77; 95 % CI 1,218 – 2,56) і ОКТ 8 (RR=1,9; 95 % CI 1,17 – 3,175) ( $p < 0,05$ ), а при генотипі AA у зонах ОКТ 4 (RR=3,77; 95 % CI 2,17 – 6,58), ОКТ 8 (RR=3,1; 95 % CI 1,7 – 5,59) та при оцінці зміни показників гостроти зору в пацієнтів із ВМД (RR=4,2; 95 % CI 2 – 8,98).

Для обговорення ймовірних патогенетичних механізмів впливу rs1800629 гена TNF на клінічний ефект anti-VEGF терапії варто розглянути функціональне значення досліджуваного нами ОНП. Ген TNF локалізований у хромосомній ділянці бр21.33 і кодує мультифункціональний прозапальний цитокін, який належить до суперсімейства факторів некрозу пухлин. Біологічний фактор секретується переважно макрофагами та бере участь у регуляції широкого спектра біологічних процесів, включаючи проліферацію, диференціювання, апоптоз клітин, метаболізм ліпідів і механізми коагуляції [71].

Фактор здатний активуватися у відповідь на надпороговий подразник – у випадку ВМД ним найчастіше за все виступає інтенсивне освітлення, що призводить до викиду кисневих радикалів [43]. У дослідженні Kim et. Al. На тваринній моделі вивчалися пускові механізми ранньої форми ВМД методом RT-qPCR (Quantitative reverse transcription PCR). У результаті вчені



продемонстрували підвищену експресію продуктів прозапальних генів (TNF- $\alpha$ , а як наслідок IL-1 $\beta$  і IL-6) у ПЕС та хоріоїдній тканині вже на 2-й день після індукції ВМД, а сам ефект зберігався до 12-го дня захворювання [116, 159].

Існує думка, що при «вологій» формі захворювання пошкоджений ПЕС продукує VEGF, інтерлейкін-8 (IL-8) і моноцитарний хемоатрактантний білок-1 (MCP), які залучають моноцити з хоріокапілярів уздовж зовнішньої поверхні мембрани Бруха і призводять до руйнування гемато-ретинального бар'єру з наступним розвитком нових судин. Потім макрофаги експресують TNF- $\alpha$  і інтерлейкін-1 (IL-1), що, своєю чергою, активує прозапальний цитокін інтерлейкін 6 (IL-6) – один з найважливіших у розвитку хоріоїдної неоваскуляризації. Це підтверджується підвищенням рівня IL-6 у сироватці і водянистій волозі ока у пацієнтів з неоваскулярною «вологою» формою ВМД [129]. Таким чином, підвищення експресії TNF- $\alpha$  напряду має вплив на розвиток та перебіг захворювання.

Поліморфізм rs1800629 гена TNF розташований у його промоторній ділянці, зокрема, у 308 нуклеотиді перед ініціацією транскрипції. Попри те, що точний механізм впливу ОНП на роботу гена недостатньо вивчений, вважається, що заміна в 308 положенні аденінового мононуклеотиду (A) на гуанозинмонофосфат (G) сприяє підвищенню активності прозапального маркера TNF- $\alpha$  [253], наслідком чого є асоціація досліджуваного нами поліморфізму з цілим спектром запальних та аутоімунних захворювань [18, 114, 167, 226].

Про зв'язок досліджуваного нами ОНП з «вологою» формою ВМД насамперед вказує робота Chernykh V. Et al., в якій була продемонстрована стійка асоціація rs1800629 TNF із виникненням патології в російській популяції [34]. Разом з тим, Wan L. Et al. Не виявили зв'язку між поліморфізмом та розвитком ексудативної форми ВМД серед китайської популяції [223], а Vonyadi M. Et al. Не встановили асоціації з ВМД серед іранців [25], що може бути пов'язано з етнічними відмінностями у функціонуванні ОНП серед різних популяцій.

Також увагу привертає механізм резистентності до anti-VEGF терапії, викликаний наявністю поліморфізму rs1800629. Попри те, що основні патогенетичні ланки на сьогодні ще не виявлені, можна припустити, що потенційний механізм розвитку резистентності до anti-VEGF терапії при наявності rs1800629 полягає у впливі TNF- $\alpha$  на «цитокіновий каскад», залучений до розвитку запального процесу, завдяки чому, ймовірно, дія VEGF-препаратів виявляється недостатньою [157, 233].

Інший потенційний механізм виникнення резистентності до anti-VEGF терапії при наявності rs1800629 був виявлений Busbee B. Et al [30]. Він полягає у розвитку структурних пошкоджень судинних стінок при хоріоїдній неоваскуляризації внаслідок дії хронічного запалення, що призводить до постійної аномальної судинної проникності та стійкої ексудації, яка не піддається anti-VEGF терапії [239], однак, ця теорія потребує практичного підтвердження.

Отримані нами результати дослідження свідчать про статистично значущий вплив rs1800629 гена TNF на розвиток резистентності пацієнта до анти-VEGF терапії, проте, вивчення точних механізмів цього явища потребує подальших досліджень і може стати темою для наступних наукових робіт.

Таким чином, підсумовуючи, отримані результати слід зазначити наступне. Аналіз проведений після проходження курсу антиангіогенної терапії показав, що середньогрупове значення гостроти зору у пацієнтів статистично значуще збільшилось з  $0,17 \pm 0,12$  до  $0,35 \pm 0,16$  ( $p < 0,05$ ). Хоча в усіх досліджених ділянках за даними ОКТ спостерігали тенденцію до зменшення товщини сітківки, зміни середньогрупових значень мали недостатній рівень статистичної значущості, що значною мірою обумовлено індивідуальними розбіжностями результатів лікування.

Встановлено, що при проведенні анти-VEGF терапії з використанням препарату афліберсепт у пацієнтів з «вологою» формою ВМД, які є мешканцями Подільського регіону України, у 33,4% випадків спостерігається резистентність до

лікування. В групі пацієнтів з відсутністю відповіді на лікування динаміка в резорбції набряку була відсутня, в деяких випадках спостерігали збільшення товщини центральної ділянки макули, що супроводжувалось відсутністю динаміки максимально корегованої гостроти зору. Результати аналізу індивідуальної відповіді на антиангіогенну терапію за анатомічними критеріями в різних ділянках сітківки виявили тенденцію до більш вираженої резистентності в ділянці ОКТ8 (внутрішня скронева ділянка, inner temporal) – 40,74% ( $p = 0,07$ ).

Показана асоціація ОНП з rs2010963 гена *VEGFA*, rs11200638 гена *HTRA1* та rs1800629 гена *TNF* з ризиком розвитку «вологоді» форми ВМД у мешканців Подільського регіону України. Зокрема, у гетерозиготних і гомозиготних носіїв мінорного алеля ОНП rs11200638 гена *HTRA1* шанси розвитку данної патології збільшені в 1,92 (95% ДІ 1,17 – 3,17) і 17,21 (95% ДІ 2,29 – 129,49) рази, відповідно ( $p < 0,0001$ ). Для гетерозиготних і гомозиготних носіїв мінорного алеля ОНП rs2010963 гена *VEGFA* показник відношення шансів становить 1,52 (95% ДІ 0,91 – 2,54) та 2,06 (95% ДІ 0,79 – 5,38), відповідно ( $p = 0,01$ ). Для гетерозигот і гомозигот за мінорним алелем ОНП rs1800629 гена *TNF*,  $VШ = 3,46$  (95% ДІ ) та  $VШ = 1,77$  (95% ДІ ), відповідно,  $p < 0,0001$ .

Не виявлено статистичної значущості асоціації ОНП rs11200638 гена *HTRA1* з відповіддю на лікування препаратом афліберсепт у пацієнтів з «вологоді» формою ВМД. Зв'язок між відповіддю на повний курс анти-*VEGF* терапії і ОНП rs2010963 гена *VEGFA* було виявлено в рецесивній моделі успадкування. Збільшений ризик резистентності до лікування показано для гомозиготних носіїв мінорного алеля (CC) за цим ОНП,  $VШ = 2,13$  (95% ДІ 1,06 – 4,28),  $p = 0,03$ . Виявлена асоціація ОНП rs1800629 гена *TNF* з відповіддю на проведення анти-*VEGF* терапії з використанням препарату афліберсепт. При цьому показано, що підвищений ризик резистентності до лікування цим препаратом існує як для гетерозигот (GA) –  $VШ = 1,50$  (95% ДІ 0,92 – 2,45,  $p = 0,03$ ), так і гомозигот за мінорним алелем (AA) –  $VШ = 1,55$  (95% ДІ 0,56 – 4,27,  $p = 0,03$ ), за цим ОНП.

Таким чином, запровадження молекулярно-генетичного аналізу однонуклеотидних поліморфізмів генів VEGFA (rs2010963) та TNF (rs1800629) як складової діагностики вікової макулярної дегенерації достовірно дозволить визначити схильність до резистентності щодо anti-VEGF терапії.

Отримані в роботі дані про розподіл генотипів та алелей серед досліджуваних осіб, мешканців Подільського регіону України можуть бути використані як референтні при подальших дослідженнях молекулярних основ генетичної схильності до розвитку, перебігу та лікування вікової макулярної дегенерації серед населення України.

Зважаючи на розраховане прогностичне значення досліджених алельних варіантів щодо ризику резистентності до anti-VEGF терапії, обрані для роботи поліморфізми генів VEGFA (rs2010963) та TNF (rs1800629) можуть бути використані як фактори ризику при побудові оптимальної стратегії лікування вікової макулярної дегенерації серед жителів України, що буде сприяти більш ефективній терапії захворювання та зниженню рівня інвалідизації хворих внаслідок хвороби.

## ВИСНОВКИ

Дисертаційне дослідження було присвячене вирішенню актуального завдання сучасної медицини – підвищення ефективності діагностики прогнозування розвитку «вологої» форми вікової макулярної дегенерації, шляхом визначення ролі молекулярно-генетичних факторів (однонуклеотидних поліморфізмів rs11200638 гена *HTRA1*, rs2010963 гена *VEGFA*, rs1800629 гена *TNF*) в формуванні резистентності до антиангіогенної терапії у мешканців Подільського регіону України.

1. Вставлено, що резистентність до антиангіогенної терапії з використанням препарату афліберсепт серед досліджених пацієнтів з вологою формою вікової макулярної дегенерації, які є мешканцями Подільського регіону України становить 33,95%.
2. Асоціація поліморфізму rs11200638 гена *HTRA1* з ризиком розвитку вологої форми вікової макулярної дегенерації в дослідженій групі пацієнтів мала адитивний характер. Для гетерозиготних за ОНП rs11200638 носіїв ВШ=1,92 (95% ДІ 1.17 – 3.17), для гомозигот за мінорним алелем ВШ = 17.21 (95% ДІ 2.29 – 129.49),  $p = 0.001$ .
3. Не виявлено статистично значущої асоціації поліморфізму rs11200638 гена *HTRA1* з ризиком резистентності до анти-VEGF терапії.
4. Виявлена асоціація поліморфізму rs2010963 гена *VEGFA* з ризиком розвитку вологої форми вікової макулярної дегенерації. Для гетерозиготних за ОНП rs2010963 носіїв ВШ=1,52 (95% ДІ 0.91 – 2.54), для гомозигот за мінорним алелем ВШ = 2.06 (95% ДІ 0.91 – 2.54),  $p = 0.01$ .
5. Встановлено, що пацієнти з генотипом С/С поліморфного локусу rs2010963 гена *VEGFA* статистично значуще гірше відповідають на анти-VEGF терапію. ВШ = 2.13 (95% ДІ 1.06 – 4.28),  $p = 0.03$ .

6. Виявлена асоціація поліморфізму rs1800629 гена *TNF* з ризиком розвитку вологої форми вікової макулярної дегенерації. Для гетерозиготних за ОНП rs1800629 носіїв ВШ=3,46 (95% ДІ 2.06 – 5.08), для гомозигот за мінорним алелем ВШ = 1.77 (95% ДІ 0.46 – 6.82),  $p < 0.01$ .

7. Виявлена незалежна від алельного статусу асоціація поліморфізму rs1800629 гена *TNF* з ризиком резистентності до анти-VEGF терапії. Пацієнти з генотипами G/C та C/C поліморфного локусу rs1800629 гена *TNF* статистично значуще гірше відповідають на анти-VEGF терапію: ВШ = 1.50 (95% ДІ 0.92 – 2.45), ВШ = 1.55 (95% ДІ 0.56 – 4.27),  $p = 0.03$ , відповідно.

## ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. Пацієнтам із «вологою» формою ВМД рекомендовано проводити молекулярно-генетичне дослідження однонуклеотидних поліморфізмів rs2010963 VEGFA та rs1800629 TNF з метою прогнозування відповіді на лікування за допомогою anti-VEGF препаратів.
2. У разі носійства пацієнтами алелей С ОНП rs2010963 VEGFA та А ОНП rs1800629 TNF існує підвищений ризик резистентності до anti-VEGF терапії як після першої ін'єкції, так і по проходженню повного курсу лікування. Тому таким пацієнтам не рекомендовано застосовувати anti-VEGF препарати через ймовірний знижений ефект цього методу терапії.
3. При наявності гетерозиготного варіанту ТС ОНП rs2010963 VEGFA та GA ОНП rs1800629 TNF слід брати до уваги, що можливий ефект від лікування буде знижений і проявляться не повною мірою через те, що у таких пацієнтів присутня мутантна алель, яка збільшує ризик виникнення резистентності до anti-VEGF терапії.
4. У пацієнтів-носіїв мутантного генотипу СС ОНП rs2010963 гена VEGFA, АА ОНП rs1800629 гена TNF існує високий ризик резистентності до anti-VEGF терапії ( $p < 0,001$ ), що вказує на неефективне застосування даного виду лікування та недоцільність призначення anti-VEGF терапії таким хворим.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Abdalhabib, E. K., Algarni, A., Saboor, M., Alanazi, F., Ibrahim, I. K., Alfeel, A. H., Alanazi, A. M., Alanazi, A. M., Alruwaili, A. M., Alanazi, M. H., & Alshaikh, N. H. (2022). Association of TNF- $\alpha$  rs1800629 with Adult Acute B-Cell Lymphoblastic Leukemia. *Genes (Basel)*, *13*(7), 1237. doi: 10.3390/genes13071237.
2. Abedi, F., Wickremasinghe, S., Richardson, A. J., Islam, A. F. M., Guymer, R. H., & Baird, P. N. (2013). Genetic influences on the outcome of anti-vascular endothelial growth factor treatment in neovascular age-related macular degeneration. *Ophthalmology*, *120*(8), 1641-1648. doi: 10.1016/j.optha.2013.01.014.
3. Ahmed, R., Sharif, D., Jaf, M., & Amin, D. M. (2020). Effect of TNF- $\alpha$  -308G/A (rs1800629) Promoter Polymorphism on the Serum Level of TNF- $\alpha$  Among Iraqi Patients with Generalized Vitiligo. *Clin Cosmet Investig Dermatol*, *13*, 825-835. doi: 10.2147/CCID.S272970.
4. Akhtar-Schaefer, I., Reuten, R., Koch, M., Pietsch, M., & Langmann, T. (2019). AMD-associated HTRA1 variants do not influence TGF- $\beta$  signaling in microglia. *Adv Exp Med Bio.*, *1185*, 3-7. doi: 10.1007/978-3-030-27378-1\_1.
5. Al-Zamil, W. M., & Yassin, S. A. (2017). Recent developments in age-related macular degeneration: a review. *Clin Interv Aging*, *12*, 1313-1330. doi: 10.2147/CIA.S143508.
6. Ambati, J., Ambati, B. K., Yoo, S. H., Ianchulev, S., & Adamis, A. P. (2003). Age-related macular degeneration: etiology, pathogenesis, and therapeutic strategies. *Surv Ophthalmo.*, *48*(3), 257-93. doi: 10.1016/s0039-6257(03)00030-4.
7. American Association for the Advancement of Science. (2006). The Runners-Up. *Science*, *314*, 1850-1855.



8. Ang, M., Baskaran, M., Werkmeister, R. M., Chua, J., Schmidl, D., Dos Santos, V. A., Garhöfer, G., Mehta, J. S., & Schmetterer, L. (2018). Anterior segment optical coherence tomography. *Prog Retin Eye Res*, *66*, 132-156. doi: 10.1016/j.preteyeres.2018.04.002.
9. Armento, A., Ueffing, M., & Clark, S. J. (2021). The complement system in age-related macular degeneration. *Cellular and molecular life sciences: CMLS*, *78*(10), 4487-4505. doi: 10.1007/s00018-021-03796-9.
10. Ashraf, M., & Souka, A. A. R. (2017). Aflibercept in age-related macular degeneration: evaluating its role as a primary therapeutic option. *Eye (Lond)*, *31*(11), 1523-1536. doi: 10.1038/eye.2017.81.
11. Askou, A. L. (2014). Development of gene therapy for treatment of age-related macular degeneration. *Acta Ophthalmol*, *92*(Thesis 3), 1-38. doi: 10.1111/aos.12452.
12. Avery, R. L., Castellarin, A. A., Steinle, N. C., Dhoot, D. S., Pieramici, D. J., See, R., Couvillion, S., Nasir, M. A., Rabena, M. D., Maia, M., Van Everen, S., Le, K., & Hanley, W. D. (2017). SYSTEMIC PHARMACOKINETICS AND PHARMACODYNAMICS OF INTRAVITREAL AFLIBERCEPT, BEVACIZUMAB, AND RANIBIZUMAB. *Retina*, *37*(10), 1847-1858. doi: 10.1097/IAE.0000000000001493.
13. Barben, M., Bordonhos, A., Samardzija, M., & Grimm, C. (2019). Hypoxia-Regulated MicroRNAs in the Retina. *Adv Exp Med Biol*, *1185*, 413-417. doi: 10.1007/978-3-030-27378-1\_68.
14. Barchitta, M., & Maugeri, A. (2016). Association between Vascular Endothelial Growth Factor Polymorphisms and Age-Related Macular Degeneration: An Updated Meta-Analysis. *Dis Markers*, *2016*(8486406), 1-10. doi: 10.1155/2016/8486406.
15. Baupal, C. R. (2020). Wet Age-Related Macular Degeneration: Treatment Advances to Reduce the Injection Burden. *Am J Manag Care*, *26*(5 Suppl), S103-S111. doi: 10.37765/ajmc.2020.43435.

16. Beguier, F., Housset, M., Roubeix, C., Augustin, S., Zagar, Y., Nous, C., Mathis, T., Eandi, C., Benchaboune, M., Drame-Maigne, A., Carpentier, W., Chardonnet, S., Touhami, S., Blot, G., Conart, J. B., Charles-Messance, H., Potey, A., Girmens, J., Paques, M., . . . Sennlaub, F. (2020). The 10q26 Risk Haplotype of Age-Related Macular Degeneration Aggravates Subretinal Inflammation by Impairing Monocyte Elimination. *Immunity*, *53*(2), 429-441. doi: 10.1016/j.immuni.2020.07.021.
17. Behar-Cohen, F., Gelizé, E., Jonet, L., & Lassiaz, P. (2020). Anatomy of the retina. *Med Sci (Paris)*, *36*(6-7), 594-599. doi: 10.1051/medsci/2020094.
18. Ben-Eli, H., Gomel, N., Aframian, D. J., Abu-Seir, R., Perlman, R., Ben-Chetrit, E., Mevorach, d., Kleinstern, G., Paltiel, O., & Solomon, A. (2019). SNP variations in IL10, TNF $\alpha$  and TNFAIP3 genes in patients with dry eye syndrome and Sjogren's syndrome. *J Inflamm (Lond)*, *16*(6), 1-6. doi: 10.1186/s12950-019-0209-z.
19. Bhatwadekar, A. D., Shughoury, A., Belamkar, A., & Ciulla, T. A. (2021). Genetics of Diabetic Retinopathy, a Leading Cause of Irreversible Blindness in the Industrialized World. *Genes*, *12*(8), 1200. doi: 10.3390/genes12081200.
20. Binder, S. (2012). Loss of reactivity in intravitreal anti-VEGF therapy: tachyphylaxis or tolerance? *Br J Ophthalmol*, *96*(1), 1-2. doi: 10.1136/bjophthalmol-2011-301236.
21. Blasiak, J. (2020). Senescence in the pathogenesis of age-related macular degeneration. *Cell Mol Life Sci*, *77*(5), 789-805. doi: 10.1007/s00018-019-03420-x.
22. Blasiak, J., Watala, C., Tuuminen, R., Kivinen, N., Koskela, A., Uusitalo-Järvinen, H., Tuulonen, A., Winiarczyk, M., Mackiewicz, J., Zmorzyński, S., Filip, A., & Kaarniranta, K. (2019). Expression of VEGFA-regulating miRNAs and mortality in wet AMD. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, *23*(12), 8464-8471. doi: 10.1111/jcmm.14731.
23. Boekhoorn, S. S., Isaacs, A., Uitterlinden, A. G., van Duijn, C. M., Hofman, A.,

- de Jong, P. T., & Vingerling, J. R. (2008). Polymorphisms in the vascular endothelial growth factor gene and risk of age-related macular degeneration: the Rotterdam Study. *Ophthalmology*, *115*(11), 1899-903. doi: 10.1016/j.ophtha.2008.06.026.
24. Boltz, A., Rieß, M., Jonas, J. B., Tao, Y., Rensch, F., Weger, M., Garhöfer, G., Frantal, S., El-Shabrawi, Y., & Schmetterer, L. (2012). Role of vascular endothelial growth factor polymorphisms in the treatment success in patients with wet age-related macular degeneration. *Ophthalmology*, *119*(8), 1615-1620. doi: 10.1016/j.ophtha.2012.02.001.
25. Bonyadi, M. H. J., Bonyadi, M., Ahmadi, H., Fotuhi, N., Shoeibi, N., Saadat, S., & Yagubi, Z. (2015). Tumor Necrosis Factor Gene Polymorphisms in Advanced Non-exudative Age-related Macular Degeneration. *J Ophthalmic Vis Res.*, *10*(2), 155-159. doi: 10.4103/2008-322X.163781.
26. Boyer, D. S., Schmidt-Erfurth, U., van Lookeren Campagne, M., Henry, E. C., & Brittain, C. (2017). The Pathophysiology of Geographic Atrophy Secondary To Age-related Macular Degeneration and The Complement Pathway as a Therapeutic Target. *Retina (Philadelphia, Pa.)*, *37*(5), 819-835. doi: 10.1097/IAE.0000000000001392.
27. Braile, M., Marcella, S., Cristinziano, L., Galdiero, M. R., Modestino, L., Ferrara, A. L., Varricchi, G., Marone, G., & Loffredo, S. (2020). VEGF-A in Cardiomyocytes and Heart Diseases. *Int J Mol Sci*, *21*(5294), 1-18. doi: 10.3390/ijms21155294.
28. Browning, D. J., Kaiser, P. K., Rosenfeld, P. J., & Stewart, M. W. (2012). Aflibercept for age-related macular degeneration: a game-changer or quiet addition? *Am J Ophthalmol*, *154*(2), 222-226. doi: 10.1016/j.ajo.2012.04.020.
29. Bulgu, Y., Cetin, G. O., Caner, V., Cetin, E. N., Yaylali, V., & Yildirim, C. (2014). Vascular endothelial growth factor gene polymorphisms in age-related macular degeneration in a Turkish population. *Int J Ophthalmol.*, *7*(5), 773-777. doi: 10.3980/j.issn.2222-3959.2014.06.

30. Busbee, B. G., Ho, A. C., Brown, D. M., Heier, J. S., Suñer, I. J., Li, Z., Rubio, R. G., Lai, P., & HARBOR Study Group. (2013). Twelve-month efficacy and safety of 0.5 mg or 2.0 mg ranibizumab in patients with subfoveal neovascular age-related macular degeneration. *Ophthalmology*, *120*(5), 1046-1056. doi: 10.1016/j.ophttha.2012.10.014.
31. Castro, M. R., Lutz, D., & Edelman, J. L. (2004). Effect of COX inhibitors on VEGF-induced retinal vascular leakage and experimental corneal and choroidal neovascularization. *Exp Eye Res.*, *79*(2), 275-285. doi: 10.1016/j.exer.2004.04.008
32. Chen, H., Mo, M., Liu, G., Gong, Y., Yu, K., & Xu, G. (2020). Interaction of two functional genetic variants LOXL1 rs1048661 and VEGFA rs3025039 on the risk of age-related macular degeneration in Chinese women. *Ann Transl Med.*, *8*(13), 818. doi: 10.21037/atm-20-2447.
33. Chen, T., Zhang, X., Zhu, G., Liu, H., Chen, J., Wang, Y., & He, X. (2020). Quercetin inhibits TNF- $\alpha$  induced HUVECs apoptosis and inflammation via downregulating NF-kB and AP-1 signaling pathway in vitro. *Medicine (Baltimore)*, *99*(38), e22241. doi: 10.1097/MD.00000000000022241.
34. Chernykh, V., Shevchenko, A., Konenkov, V., Prokofiev, V., Eremina, A., & Trunov, A. (2019). TNF- $\alpha$  gene polymorphisms: association with age-related macular degeneration in Russian population. *Int J Ophthalmol.*, *12*(1), 25-29. doi: 10.18240/ijo.2019.01.04.
35. Cho, Y., Park, D., & Jeon, I. (2021). Medication Trends for Age-Related Macular Degeneration. *Int J Mol Sci*, *22*(11837), 1-17. doi: 10.3390/ijms222111837.
36. Chung, M., Lee, S., Lee, B. J., Son, K., Jeon, N. L., & Kim, J. H. (2018). Wet-AMD on a Chip: Modeling Outer Blood-Retinal Barrier In Vitro. *Advanced healthcare materials*, *7*(2), 1-7. doi: 10.1002/adhm.201700028.
37. Coleman, D. J., Silverman, R. H., Rondeau, M. J., Lloyd, H. O., Khanifar, A. A., & Chan, R. V. P. (2013). Age-related macular degeneration: choroidal

- ischaemia? *Br J Ophthalmol.*, 97(8), 1020-1023. doi: 10.1136/bjophthalmol-2013-303143.
38. Colijn, J. M., Buitendijk, G. H. S., Prokofyeva, E., Alves, D., Cachulo, M. L., Khawaja, A. P., Cougnard-Gregoire, A., Merle, B. M. J., Korb, C., Erke, M. G., Bron, A., Anastasopoulos, E., Meester-Smoor, M. A., Segato, T., Piermarocchi, S., de Jong, P. T. V. M., Vingerling, J. R., Topouzis, F., Creuzot-Garcher, C., . . . Klaver, C. C. W. (2017). Prevalence of age-related macular degeneration in Europe. *Ophthalmology*, 124(12), 1753-1763. doi: 10.1016/j.ophtha.2017.05.035.
39. Comparison of Age-related Macular Degeneration Treatments Trials (CATT) Research Group, Maguire, M. G., Martin, D. F., Ying, G. S., Jaffe, G. J., Daniel, E., Grunwald, J. E., Toth, C. A., Ferris, F. L., & Fine, S. L. (2016). Five-Year Outcomes with Anti-Vascular Endothelial Growth Factor Treatment of Neovascular Age-Related Macular Degeneration: The Comparison of Age-Related Macular Degeneration Treatments Trials. *Ophthalmology.*, 123(8), 1751-1761. doi: 10.1016/j.ophtha.2016.03.045.
40. Cook, H. L., Patel, P. J., & Tufail, A. (2008). Age-related macular degeneration: diagnosis and management. *Br Med Bull*, 85, 127-149. doi: 10.1093/bmb/ldn012.
41. Creuzot-Garcher, C., Martin-Phipps, T., Beynat, J., Astruc, K., Brassac, K., & Bron, A. M. (2014). Effectiveness of a mobile diabetic retinopathy screening campaign to encourage diabetics to undergo regular ophthalmic follow-up. *Ophthalmic Res*, 52(4), 206-211. doi: 10.1159/000363326.
42. Cruz-Gonzalez, F., Cabrillo-Estevez, L., Rivero-Gutierrez, V., Sanchez-Jara, A., De Juan-Marcos, L., & Gonzalez-Sarmiento, R. (2016). Influence of CFH, HTRA1 and ARMS2 polymorphisms in the response to intravitreal ranibizumab treatment for wet age-related macular degeneration in a Spanish population. *Int J Ophthalmol.*, 9(9), 1304-1309. doi: 10.18240/ijo.2016.09.12.
43. Datta, S., Cano, M., Ebrahimi, K., Wang, L., & Handa, J. T. (2017). The impact

- of oxidative stress and inflammation on RPE degeneration in non-neovascular AMD. *Prog Retin Eye Res.*, 60, 201-218. doi: 10.1016/j.preteyeres.2017.03.002.
44. De Jong, P. T. (2006). Age-related macular degeneration. *N Engl J Med*, 355(14), 1474-85. doi: 10.1056/NEJMra062326.
45. De Jong, P. T. V. M. (2018). Elusive drusen and changing terminology of AMD. *Eye (Lond)*, 32(5), 904-914. doi: 10.1038/eye.2017.298.
46. Dedania, V. S., Grob, S., Zhang, K., & Bakri, S. J. (2015). Pharmacogenomics of response to anti-VEGF therapy in exudative age-related macular degeneration. *Retina.*, 35(3), 381-391. doi: 10.1097/IAE.0000000000000466.
47. Demirs, J. T., Yang, J., Crowley, M. A., Twarog, M., Delgado, O., Qiu, Y., Poor, S., Rice, D. S., Dryja, T. P., Anderson, K., & Liao, S. M. (2021). Differential and Altered Spatial Distribution of Complement Expression in Age-Related Macular Degeneration. *Investigative ophthalmology & visual science*, 62(26), 1-12. doi: 10.1167/iovs.62.7.26.
48. Deng, Y., Qiao, L., Du, M., Qu, C., Wan, L., Li, J., & Huang, L. (2022). Age-related macular degeneration: Epidemiology, genetics, pathophysiology, diagnosis, and targeted therapy. *Genes Dis.*, 9(1), 62-79. doi: 10.1016/j.gendis.2021.02.009.
49. Dewan, A., Liu, M., Hartman, S., Zhang, S. S., Liu, D. T. L., Zhao, C., Tam, P. O. S., Chan, W. M., Lam, D. S. C., Snyder, M., Barnstable, C., Pang, C. P., & Hoh, J. (2006). HTRA1 promoter polymorphism in wet age-related macular degeneration. *Science*, 314(5801), 989-992. doi: 10.1126/science.1133807.
50. Díaz-Villamarín, X., Blázquez-Martínez, D., Pozo-Agundo, A., Pérez-Gutiérrez, A. M., Muñoz-Ávila, J. I., Antúnez-Rodríguez, A., Fernández-Gómez, A. E., García-Navas, P., Martínez-González, L. J., & Dávila-Fajardo, C. L. (2020). Genetic Variants Affecting Anti-VEGF Drug Response in Polypoidal Choroidal Vasculopathy Patients: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Genes (Basel)*, 11(1335), 1-13. doi: 10.3390/genes11111335.
51. Ding, X., Patel, M., & Chan, C. (2009). Molecular pathology of age-related

- macular degeneration. *Prog Retin Eye Res.*, 28(1), 1-18. doi: 10.1016/j.preteyeres.2008.10.001.
52. Edwards, M., & Luty, G. A. (2021). Bruch's Membrane and the Choroid in Age-Related Macular Degeneration. *Adv Exp Med Biol.*, 1256, 89-119. doi: 10.1007/978-3-030-66014-7\_4.
53. Efstathiou, N. E., Moustafa, G. A., Maidana, D. E., Konstantinou, E. K., Notomi, S., Barbisan, P. R. T., Georgakopoulos, C. D., Miller, J. W., & Vavvas, D. G. (2020). Acadesine suppresses TNF- $\alpha$  induced complement component 3 (C3), in retinal pigment epithelial (RPE) cells. *PLoS One.*, 15(12), e0244307. doi: 10.1371/journal.pone.0244307.
54. El-Tahan, R. R., Ghoneim, A. M., & El-Mashad, N. (2016). TNF- $\alpha$  gene polymorphisms and expression. *SpringerPlus*, 5(1508), 1-7. doi: 10.1186/s40064-016-3197-y.
55. Ensembl. Gene: HTRA1. Available from: [https://www.ensembl.org/Homo\\_sapiens/Gene/Summary?g=ENSG00000166033;r=10:122458551-122514907](https://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Gene/Summary?g=ENSG00000166033;r=10:122458551-122514907). Accessed: January 20, 2000.
56. Ensembl. Gene: VEGFA. Available from: [https://www.ensembl.org/Homo\\_sapiens/Gene/Summary?g=ENSG00000112715;r=6:43770184-43786487](https://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Gene/Summary?g=ENSG00000112715;r=6:43770184-43786487). Accessed: January 20, 2000.
57. Fabre, M., Mateo, L., Lamaa, D., Baillif, S., Pagès, G., Demange, L., Ronco, C., & Benhida, R. (2022). Recent Advances in Age-Related Macular Degeneration Therapies. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 27(16), 5089. doi: 10.3390/molecules27165089.
58. Falvo, J. V., Tsytsykova, A. V., & Goldfeld, A. E. (2010). Transcriptional Control of the TNF Gene. *Curr Dir Autoimmun*, 11, 27-60. doi: 10.1159/000289196.
59. Farnoodian, M., Sorenson, C. M., & Sheibani, N. (2018). PEDF expression affects the oxidative and inflammatory state of choroidal endothelial cells. *American journal of physiology. Cell physiology*, 314(4), C456–C472. doi:

- 10.1152/ajpcell.00259.2017.
60. Farnoodian, M., Wang, S., Dietz, J., Nickells, R. W., Sorenson, C. M., & Sheibani, N. (2017). Negative regulators of angiogenesis: Important targets for treatment of exudative AMD. *Clin Sci (Lond)*, *131*(15), 1763-1780. doi: 10.1042/CS20170066.
  61. Fernandes, A. R., Zielińska, A., Sanchez-Lopez, E., Dos Santos, T., Garcia, M. L., Silva, A. M., Karczewski, J., & Souto, E. B. (2022). Exudative versus Nonexudative Age-Related Macular Degeneration: Physiopathology and Treatment Options. *International journal of molecular sciences*, *23*(2592), 1-23. doi: 10.3390/ijms23052592.
  62. Ferris, F. L., Wilkinson, C. P., Bird, A, Chakravarthy, U, Chew, E, Csaky, K, Sadda, S. R., & Beckman Initiative for Macular Research Classification Committee. (2013). Clinical classification of age-related macular degeneration. *Ophthalmology*, *120*(4), 844-851. doi: 10.1016/j.ophtha.2012.10.036.
  63. Finger, R. P., Wickremasinghe, S. S., Baird, P. N., & Guymer, R. H. (2014). Predictors of anti-VEGF treatment response in neovascular age-related macular degeneration. *Surv Ophthalmol*, *59*(1), 1-18. doi: 10.1016/j.survophthal.2013.03.009.
  64. Fischer, R., & Maier, O. (2015). Interrelation of Oxidative Stress and Inflammation in Neurodegenerative Disease: Role of TNF. *Oxid Med Cell Longev*, *2015*(610813), 1-18. doi: 10.1155/2015/610813.
  65. Fletcher, E. L. (2020). Contribution of microglia and monocytes to the development and progression of age related macular degeneration. *Ophthalmic Physiol Opt*, *40*(2), 128-139. doi: 10.1111/opo.12671.
  66. Fogli, S., Del Re, M., Rofi, E., Posarelli, C., Figus, M., & Danesi, R. (2018). Clinical pharmacology of intravitreal anti-VEGF drugs. *Eye (Lond)*, *32*(6), 1010-1020. doi:10.1038/s41433-018-0021-7.
  67. Froger, N., Matonti, F., Roubex, C., Forster, V., Ivkovic, I., Brunel, N., Baudouin, C., Sahel, J. A., & Picaud, S. (2020). VEGF is an autocrine/paracrine



- neuroprotective factor for injured retinal ganglion neurons. *Scientific reports*, 10(12409), 1-11. doi: 10.1038/s41598-020-68488-z.
68. García-Onrubia, L., Valentín-Bravo, F. J., Coco-Martin, R. M., González-Sarmiento, R., Pastor, J. C., Usategui-Martín, R., & Pastor-Idoate, S. (2020). Matrix Metalloproteinases in Age-Related Macular Degeneration (AMD). *Int J Mol Sci*, 21(5934), 1-32. doi: 10.3390/ijms21165934.
69. Gass, J. D. (1972). Drusen and disciform macular detachment and degeneration. *Trans Am Ophthalmol So.*, 70, 409-436.
70. Geevarghese, A., Wollstein, G., Ishikawa, H., & Schuman, J. S. (2021). Optical Coherence Tomography and Glaucoma. *Annu Rev Vis Sci*, 7, 693-726. doi: 10.1146/annurev-vision-100419-111350.
71. GeneCards – the human gene database. HTRA1 Gene – GeneCards. Available from: <https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=HTRA1>. Accessed: June 28, 2005.
72. GeneCards – the human gene database. TNF Gene – GeneCards. Available from: <https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=TNF>. Accessed: June 28, 2005.
73. GeneCards – the human gene database. VEGFA Gene – GeneCards. Available from: <https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=VEGFA>. Accessed: June 28, 2005.
74. George, S. M., Lu, F., Rao, M., Leach, L. L., & Gross, J. M. (2021). The retinal pigment epithelium: Development, injury responses, and regenerative potential in mammalian and non-mammalian systems. *Progress in retinal and eye research*, 85(100969), 1-25. doi: 10.1016/j.preteyeres.2021.100969.
75. Ghareeb, D., Abdelazem, A. S., Hussein, E. M., & Al-Karamany, A. S. (2021). Association of TNF- $\alpha$ -308 G>A (rs1800629) polymorphism with susceptibility of metabolic syndrome. *J Diabetes Metab Disord*, 20(1), 209-215. doi: 10.1007/s40200-021-00732-3.
76. Golovin–Sivtsev table Retrieved from

[https://dbpedia.org/page/Golovin%E2%80%93Sivtsev\\_table](https://dbpedia.org/page/Golovin%E2%80%93Sivtsev_table)

77. Gonçalves, F. M., Martins-Oliveira, A., Speciali, J. G., Izidoro-Toledo, T. C., Luizon, M. R., Dach, F., & Tanus-Santos, J. E. (2010). Vascular endothelial growth factor genetic polymorphisms and haplotypes in women with migraine. *DNA Cell Biol*, 29(7), 357-362. doi: 10.1089/dna.2010.1025.
78. Gong, Y., Zhan, Y., Yuan, T., Liao, Y., Zhang, L., Liu, X., Zheng, Y., & Bao, Y. (2021). Association of HTRA1 and CFH gene polymorphisms with age-related macular degeneration in Ningbo, China. *International Ophthalmology*, 41(3), 995-1002. doi: 10.1007/s10792-020-01655-3.
79. Gorin, M. B. (2012). Genetic insights into age-related macular degeneration: controversies addressing risk, causality, and therapeutics. *Mol Aspects Med*, 33(4), 467-486. doi: 10.1016/j.mam.2012.04.004.
80. Gow, I., Smith, N. C., Stark, D., & Ellis, J. (2022). Laboratory diagnostics for human Leishmania infections: a polymerase chain reaction-focussed review of detection and identification methods. *Parasit Vectors*, 15(412), 1-24. doi: 10.1186/s13071-022-05524-z.
81. Habibi, I., Kort, F., Sfar, I., Chebil, A., Bouraoui, R., Abdallah, T. B., Gorgi, Y., & Matri, L. E. (2016). Effect of Risk Alleles in CFH, C3, and VEGFA on the Response to Intravitreal Bevacizumab in Tunisian Patients with Neovascular Age-related Macular Degeneration. *Klin Monbl Augenheilkd.*, 233(4), 465-470. doi: 10.1055/s-0041-111801.
82. Hachana, S., Fontaine, O., Sapieha, P., Lesk, M., Couture, R., & Vaucher, E. (2020). The effects of anti-VEGF and kinin B1 receptor blockade on retinal inflammation in laser-induced choroidal neovascularization. *Br J Pharmacol*, 177(9), 1949-1966. doi: 10.1111/bph.14962.
83. Hagstrom, S. A., Ying, G. S., Pauer, G. J., Sturgill-Short, G. M., Huang, J., Maguire, M. G., Martin, D. F., & Comparison of Age-Related Macular Degeneration Treatments Trials (CATT) Research Group (2014). VEGFA and VEGFR2 gene polymorphisms and response to anti-vascular endothelial growth

- factor therapy: comparison of age-related macular degeneration treatments trials (CATT). *JAMA ophthalmology*, 132(5), 521-527. doi: 10.1001/jamaophthalmol.2014.109.
84. Hagstrom, S. A., Ying, G., Pauer, G. J. T., Sturgill-Short, G. M., Huang, J., Callanan, D. G., Kim, I. K., Klein, M. L., Maguire, M. G., Martin, D. F., & Comparison of AMD Treatments Trials Research Group. (2013). Pharmacogenetics for genes associated with age-related macular degeneration in the Comparison of AMD Treatments Trials (CATT). *Ophthalmology*, 120(3), 593-599. doi: 10.1016/j.ophtha.2012.11.037.
85. Hajeer, A. H., & Hutchinson, I. V. (2000). TNF-alpha gene polymorphism: clinical and biological implications. *Microsc Res Tech*, 50(3), 216-228. doi: 10.1002/1097-0029(20000801)50:3<216::AID-JEMT5>3.0.CO;2-Q
86. Hamid, M. A., Moustafa, M. T., Nashine, S., Costa, R. D., Schneider, K., Atilano, S. R., Kuppermann, B. D., & Kenney, M. C. (2021). Anti-VEGF Drugs Influence Epigenetic Regulation and AMD-Specific Molecular Markers in ARPE-19 Cells. *Cells*, 10(4), 878. doi: 10.3390/cells10040878.
87. Handa, J. T., Bowes Rickman, C., Dick, A. D., Gorin, M. B., Miller, J. W., Toth, C. A., Ueffing, M., Zarbin, M., & Farrer, L. A. (2019). A systems biology approach towards understanding and treating non-neovascular age-related macular degeneration. *Nature communications*, 10(1), 3347. doi: 10.1038/s41467-019-11262-1.
88. Hangai, M., He, S., Hoffmann, S., Lim, J. I., Ryan, S. J., & Hinton, D. R. (2006). Sequential induction of angiogenic growth factors by TNF-alpha in choroidal endothelial cells. *J Neuroimmunol*, 171(1-2), 45-56. doi: 10.1016/j.jneuroim.2005.09.018.
89. Heesterbeek, T. J., Lorés-Motta, L., Hoyng, C. B., Lechanteur, Y. T. E., & den Hollander, A. I. (2020). Risk factors for progression of age-related macular degeneration. *Ophthalmic & physiological optic : the journal of the British College of Ophthalmic Opticians (Optometrists)*, 40(2), 140-170. doi:

10.1111/opo.12675.

90. Hernández-Zimbrón, L. F., Zamora-Alvarado, R., Ochoa-De la Paz, L., Velez-Montoya, R., Zenteno, E., Gullias-Cañizo, R., Quiroz-Mercado, H., & Gonzalez-Salinas, R. (2018). Age-Related Macular Degeneration: New Paradigms for Treatment and Management of AMD. *Oxid Med Cell Longev.*, 2018(8374647), 1-14. doi: 10.1155/2018/8374647.
91. Hobbs, S. D., & Pierce, K. (2022). Wet Age-related Macular Degeneration (Wet AMD). StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing.
92. Huang, C., Xu, Y., Li, X., & Wang, W. (2013). Vascular endothelial growth factor A polymorphisms and age-related macular degeneration: a systematic review and meta-analysis. *Molecular Vision.*, 19, 1211-1221.
93. Huang, L., Meng, Q., Zhang, C., Sun, Y., Bai, Y., Li, S., Deng, X., Wang, B., Yu, W., Zhao, M., & Li, X. (2015). Gene-gene interaction of CFH, ARMS2, and ARMS2/HTRA1 on the risk of neovascular age-related macular degeneration and polypoidal choroidal vasculopathy in Chinese population. *Eye (London, England)*, 29(5), 691-698 doi.org/10.1038/eye.2015.32
94. HUGO Gene Nomenclature Committee. Symbol report for HTRA1. Available from: [https://www.genenames.org/data/gene-symbol-report/#!/hgnc\\_id/9476](https://www.genenames.org/data/gene-symbol-report/#!/hgnc_id/9476). Accessed: January 17, 2007.
95. Hurley, J. B. (2021). Retina Metabolism and Metabolism in the Pigmented Epithelium: A Busy Intersection. *Annu Rev Vis Sci.*, 7, 665-692. doi: 10.1146/annurev-vision-100419-115156.
96. Hussain, A. A., Lee, Y., Zhang, J. J., & Marshall, J. (2011). Disturbed matrix metalloproteinase activity of Bruch's membrane in age-related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci.*, 52(7), 4459-4466. doi: 10.1167/iovs.10-6678.
97. Invernizzi, A., Cozzi, M., & Staurenghi, G. (2019). Optical coherence tomography and optical coherence tomography angiography in uveitis: A review. *Clin Exp Ophthalmol*, 47(3), 357-371. doi: 10.1111/ceo.13470.

98. Ioanna, Z., Christian, S., Christian, G., & Daniel, B. (2018). Plasma levels of hypoxia-regulated factors in patients with age-related macular degeneration. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.*, *256*(2), 325-332. doi: 10.1007/s00417-017-3846-z.
99. Janik-Papis, K., Zaras, M., Krzyzanowska, A., Wozniak, K., Blasiak, J., Szaflik, J., & Szaflik, J. P. (2009). Association between vascular endothelial growth factor gene polymorphisms and age-related macular degeneration in a Polish population. *Exp Mol Pathol.*, *87*(3), 234-238. doi: 10.1016/j.yexmp.2009.09.005.
100. Jaouni, T., Averbukh, E., Burstyn-Cohen, T., Grunin, M., Banin, E., Sharon, D., & Chowers, I. (2012). Association of pattern dystrophy with an HTRA1 single-nucleotide polymorphism. *JAMA Ophthalmology*, *130*(8), 987-991. doi: 10.1001/archophthalmol.2012.1483.
101. Jensen, E. G., Jakobsen, T. S., Thiel, S., Askou, A. L., & Corydon, T. J. (2020). Associations between the Complement System and Choroidal Neovascularization in Wet Age-Related Macular Degeneration. *International journal of molecular sciences*, *21*(24), 9752. doi: 10.3390/ijms21249752.
102. Jiang, Q., Li, Z., Tao, T., Duan, R., Wang, X., & Su, W. (2021). TNF- $\alpha$  in Uveitis: From Bench to Clinic. *Front Pharmacol*, *12*(740057), 1-13. doi: 10.3389/fphar.2021.740057.
103. Jun, S., Datta, S., Wang, L., Pegany, R., Cano, M., Handa, J. T. (2019). The impact of lipids, lipid oxidation, and inflammation on AMD, and the potential role of miRNAs on lipid metabolism in the RPE. *Exp Eye Res.*, *181*, 346-355. doi: 10.1016/j.exer.2018.09.023.
104. Kaarniranta, K., & Salminen, A. (2009). NF-kappaB signaling as a putative target for omega-3 metabolites in the prevention of age-related macular degeneration (AMD). *Exp Gerontol.*, *44*(11), 685-688. doi: 10.1016/j.exger.2009.09.002.
105. Kaarniranta, K., Ryhänen, T., Karjalainen, H. M., Lammi, M. J., Suuronen, T.,

- Huhtala, A., Kontkanen, M., Teräsvirta, M., Uusitalo, H., & Salminen, A. (2005). Geldanamycin increases 4-hydroxynonenal (HNE)-induced cell death in human retinal pigment epithelial cells. *Neuroscience letters*, *382*(1-2), 185-190. doi: 10.1016/j.neulet.2005.03.009.
106. Kalliolias, G. D., & Ivashkiv, L. B. (2016). TNF biology, pathogenic mechanisms and emerging therapeutic strategies. *Nat Rev Rheumatol.*, *12*(1), 49-62. doi: 10.1038/nrrheum.2015.169.
107. Kamenskih, T. G. (2019). Differentirovannyĭ podkhod k analizu retinal'noĭ zhidkosti i otsenke ee vliianiia na anti-VEGF-terapiiu neovaskuliarnoi vozrastnoi makuliarnoi degeneratsii [A differentiated approach to analysis of retinal fluid and assessment of its effect on anti-VEGF therapy of neovascular age-related macular degeneration]. *Vestn Oftalmol.*, *135*(6), 134-140. doi: 10.17116/oftalma2019135061134.
108. Kang, H. K., Yoon, M. H., Lee, D. H., & Chin, H. S. (2012). Pharmacogenetic Influence of LOC387715/HTRA1 on the Efficacy of Bevacizumab Treatment for Age-Related Macular Degeneration in a Korean Population. *Korean J Ophthalmol.*, *26*(6), 414-422. doi: 10.3341/kjo.2012.26.6.414.
109. Kanoff, J., & Miller, J. (2013). Pharmacogenetics of the treatment response of age-related macular degeneration with ranibizumab and bevacizumab. *Semin Ophthalmol*, *28*(5-6), 355-360. doi: 10.3109/08820538.2013.825292.
110. Kany, S., Vollrath, J. T., & Relja, B. (2019). Cytokines in Inflammatory Disease. *Int J Mol Sci*, *20*(23), 6008. doi: 10.3390/ijms20236008.
111. Kauppinen, A., Paterno, J. J., Blasiak, J., Salminen, A., & Kaarniranta, K. (2016). Inflammation and its role in age-related macular degeneration. *Cell Mol Life Sci.*, *73*(9), 1765-1786. doi: 10.1007/s00018-016-2147-8.
112. Kawasaki, R., Wang, J. J., Ji, G. J., Taylor, B., Oizumi, T., Daimon, M., Kato, T., Kawata, S., Kayama, T., Tano, Y., Mitchell, P., Yamashita, H., & Wong, T. Y. (2008). Prevalence and risk factors for age-related macular degeneration in an adult Japanese population: the Funagata study. *Ophthalmology*, *115*(8), 1376-

1381. doi: 10.1016/j.opthta.2007.11.015.
113. Kenney, M. C., & Nashine, S. (2020). Further understanding of epigenetic dysfunction of the retinal pigment epithelium in AMD. *Expert Rev Ophthalmol.*, *15*(4), 221-231. doi: 10.1080/17469899.2020.1767597.
114. Khaloo, P., Qahremani, R., Rabizadeh, S., Omidi, M., Rajab, A., Heidari, F., Farahmand, G., Bitaraf, M., Mirmiranpour, H., Esteghamati, A., & Nakhjavani, M. (2020). Nitric oxide and TNF- $\alpha$  are correlates of diabetic retinopathy independent of hs-CRP and HbA1c. *Endocrine*, *69*, 536-541. doi: 10.1007/s12020-020-02353-x.
115. Khan, A. H., Pierce, C. O., De Salvo, G., Griffiths, H., Nelson, M., Cree, A. J., Menon, G., & Lotery, A. J. (2021). The effect of systemic levels of TNF-alpha and complement pathway activity on outcomes of VEGF inhibition in neovascular AMD. *Eye (Lond)*., *2021*, 1-8. doi: 10.1038/s41433-021-01824-3.
116. Kim, S., Kambhampati, S. P., Bhutto, I. A., McLeod, D. S., Lutty, G. A., & Kannan, R. M. (2021). Evolution of oxidative stress, inflammation and neovascularization in the choroid and retina in a subretinal lipid induced age-related macular degeneration model. *Experimental Eye Research*, *203*(108391), 1-51. doi: 10.1016/j.exer.2020.108391.
117. Kitchens, J. W., Kassem, N., Wood, W., Stone, T. W., Isernhagen, R., Wood, E., Hancock, B. A., Radovich, M., Waymire, J., Li, L., & Schneider, B. P. (2013). A pharmacogenetics study to predict outcome in patients receiving anti-VEGF therapy in age related macular degeneration. *Clinical ophthalmology (Auckland, N.Z.)*, *7*, 1987-1993. doi: 10.2147/OPHTH.S39635.
118. Komarova, T. M., Vitovska, O. P., Komisarenko, J. I., & Kohan, V. M. (2021). Age-related Macular Degeneration – Current State of The Problem and Prophylaxis Methods. *Wiadomości Lekarskie*, *74*(3), 767-772. doi: 10.36740/WLek202103238.
119. Kumar-Singh, R. (2019). The role of complement membrane attack complex in dry and wet AMD - From hypothesis to clinical trials. *Exp Eye Res.*, *184*, 266-

277. doi: 10.1016/j.exer.2019.05.006.
120. Lambert, N. G., ElShelmani, H., Singh, M. K., Mansergh, F. C., Wride, M. A., Padilla, M., Keegan, D., Hogg, R. E., & Ambati, B. K. (2016). Risk factors and biomarkers of age-related macular degeneration. *Progress in retinal and eye research*, 54, 64-102. doi: 10.1016/j.preteyeres.2016.04.003.
121. Landowski, M., & Bowes Rickman, C. (2022). Targeting Lipid Metabolism for the Treatment of Age-Related Macular Degeneration: Insights from Preclinical Mouse Models. *Journal of ocular pharmacology and therapeutics: the official journal of the Association for Ocular Pharmacology and Therapeutics*, 38(1), 3-32. doi: 10.1089/jop.2021.0067.
122. Lem, D. W., Davey, P. G., Gierhart, D. L., & Rosen, R. B. (2021). A Systematic Review of Carotenoids in the Management of Age-Related Macular Degeneration. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 10(8), 1255. doi: 10.3390/antiox10081255.
123. Li, R., Du, J., Yao, G., Yao, Y., & Zhang, J. (2019). Autophagy: a new mechanism for regulating VEGF and PEDF expression in retinal pigment epithelium cells. *Int J Ophthalmol.*, 12(4), 557-562. doi: 10.18240/ijo.2019.04.05.
124. Li, S., van Dijk, C. G. M., Meeldijk, J., Kok, H. M., Blommestein, I., Verbakel, A. L. F., Kotte, M., Broekhuizen, R., Laclé, M. M., Goldschmeding, R., Cheng, C., & Bovenschen, N. (2021). Extracellular Granzyme K Modulates Angiogenesis by Regulating Soluble VEGFR1 Release From Endothelial Cells. *Front Oncol*, 11(681967), 1-11. doi: 10.3389/fonc.2021.681967.
125. Liao, S. M., Zheng, W., Zhu, J., Lewis, C. A., Delgado, O., Crowley, M. A., Buchanan, N. M., Jaffee, B. D., & Dryja, T. P. (2017). Specific correlation between the major chromosome 10q26 haplotype conferring risk for age-related macular degeneration and the expression of *HTRA1*. *Molecular vision*, 23, 318-333.
126. Lin, F., Wang, P., Chuang, Y., Wang, J., Wong, V. H. Y., Bui, B. V., & Liu,



- G. (2020). Gene Therapy Intervention in Neovascular Eye Disease: A Recent Update. *Mol Ther.*, 28(10), 2120-2138. doi: 10.1016/j.ymthe.2020.06.029.
127. Lin, L. Y., Zhou, Q., Hagstrom, S., Maguire, M. G., Daniel, E., Grunwald, J. E., Martin, D. F., Ying, G., & CATT Research Group. (2018). Association of Single-Nucleotide Polymorphisms in Age-Related Macular Degeneration With Pseudodrusen: Secondary Analysis of Data From the Comparison of AMD Treatments Trials. *JAMA Ophthalmol.*, 136(6), 682-688. doi: 10.1001/jamaophthalmol.2018.1231.
128. Liniger, M., Gerber, M., Renzullo, S., García-Nicolás, O., & Ruggli, N. (2021). TNF-Mediated Inhibition of Classical Swine Fever Virus Replication Is IRF1-, NF- $\kappa$ B- and JAK/STAT Signaling-Dependent. *Viruses*, 13(10), 2017. doi: 10.3390/v13102017.
129. Litwińska, Z., Sobuś, A., Łuczowska, K., Grabowicz, A., Mozolewska-Piotrowska, K., Safranow, K., Kawa, M. P., Machaliński, B., & Machalińska, A. (2019). The interplay between systemic inflammatory factors and microRNAs in age-related macular degeneration. *Front. Aging Neurosci.*, 11(286), 1-13. doi: 10.3389/fnagi.2019.00286.
130. Liu, B., Wei, J., Li, M., Jiang, J., Zhang, H., Yang, L., Wu, H., & Zhou, Q. (2017). Association of common genetic variants in VEGFA with biliary atresia susceptibility in Northwestern Han Chinese. *Gene*, 628, 87-92. doi: 10.1016/j.gene.2017.07.027.
131. Liu, S., Wu, M., Zhang, B., Xiong, X., Wang, H., & Zhou, X. (2019). Analysis of genetic polymorphisms for age-related macular degeneration (AMD) in Chinese Tujia ethnic minority group. *BMC Med Genet*, 20(25), 1-7. doi: 10.1186/s12881-019-0756-4.
132. Liu, Y., Jin, H., Wei, D., & Li, W. (2020). HTRA1 rs11200638 variant and AMD risk from a comprehensive analysis about 15,316 subjects. *BMC Med Genet.*, 21(1), 107. doi: 10.1186/s12881-020-01047-5.
133. Liu, Y., Long, L., Zhang, F., Hu, X., Zhang, J., Hu, C., Wang, Y., & Xu, J.

- (2021). Microneedle-mediated vascular endothelial growth factor delivery promotes angiogenesis and functional recovery after stroke. *Journal of controlled release: official journal of the Controlled Release Society*, 338, 610-622. doi: 10.1016/j.jconrel.2021.08.057.
134. Liutkeviciene, R., Vilkeviciute, A., Gedvilaite, G., Kaikaryte, K., & Kriauciuniene, L. (2019). Haplotypes of HTRA1 rs1120638, TIMP3 rs9621532, VEGFA rs833068, CFI rs10033900, ERCC6 rs3793784, and KCTD10 rs56209061 Gene Polymorphisms in Age-Related Macular Degeneration. *Dis Markers*, 2019(9602949), 1-12. doi: 10.1155/2019/9602949.
135. Lorés-Motta, L., de Jong, E. K., & den Hollander, A. I. (2018). Exploring the Use of Molecular Biomarkers for Precision Medicine in Age-Related Macular Degeneration. *Molecular diagnosis & therapy*, 22(3), 315-343. doi: 10.1007/s40291-018-0332-1.
136. Lotery, A. J., Gibson, J., Cree, A. J., Downes, S. M., Harding, S. P., Rogers, C. A., Reeves, B. C., Ennis, S., & Chakravarthy, U. (2013). Pharmacogenetic associations with vascular endothelial growth factor inhibition in participants with neovascular age-related macular degeneration in the IVAN Study. *Ophthalmology*, 120(12), 2637-2643. doi: 10.1016/j.ophtha.2013.07.046.
137. Lotery, A., & Trump, D. (2007). Progress in defining the molecular biology of age related macular degeneration. *Hum Genet.*, 122(3-4), 219-236. doi: 10.1007/s00439-007-0406-3.
138. Lu, Y., Ge, Y., Shi, Y., Yin, J., & Huang, Z. (2013). Two polymorphisms (rs699947, rs2010963) in the VEGFA gene and diabetic retinopathy: an updated meta-analysis. *BMC Ophthalmol.*, 13(56), 1-9. doi: 10.1186/1471-2415-13-56.
139. Lu, Z., Lin, V., May, A., Che, B., Xiao, X., Shaw, D. H., Su, F., Wang, Z., Du, H., & Shaw, P. X. (2019). HTRA1 synergizes with oxidized phospholipids in promoting inflammation and macrophage infiltration essential for ocular VEGF expression. *PloS One*, 14(5), e0216808. doi: 10.1371/journal.pone.0216808.
140. Lu, Z., May, A., Dinh, B., Lin, V., Su, F., Tran, C., Adivikolanu, H., Ehlen,

- R., Che, B., Wang, Z., Shaw, D. H., Borooah, S., & Shaw, P. X. (2021). The interplay of oxidative stress and ARMS2-HTRA1 genetic risk in neovascular AMD. *Vessel Plus*, 5(4), 1-17. doi: 10.20517/2574-1209.2020.48.
141. Marie, M., Gondouin, P., Pagan, D., Barrau, C., Villette, T., Sahel, J., & Picaud, S. (2019). Blue-violet light decreases VEGFa production in an in vitro model of AMD. *PLoS One*, 14(10), e0223839. doi: 10.1371/journal.pone.0223839.
142. Marneros, A. G. (2016). Increased VEGF-A promotes multiple distinct aging diseases of the eye through shared pathomechanisms. *EMBO molecular medicine*, 8(3), 208-231. doi: 10.15252/emmm.201505613.
143. Marneros, A. G. (2021). Role of inflammasome activation in neovascular age-related macular degeneration. *The FEBS Journal*, 1-9. doi: 10.1111/febs.16278.
144. Matušková, V., Zeman, T., Ewerlingová, L., Hlinomazová, Z., Souček, J., Vlková, E., Goswami, N., Balcar, V. J., & Šerý, O. (2020). An association of neovascular age-related macular degeneration with polymorphisms of CFH, ARMS2, HTRA1 and C3 genes in Czech population. *Acta Ophthalmol*, 98(6), e691-e699. doi: 10.1111/aos.14357.
145. Mehta, A. K., Gracias, D. T., & Croft, M. (2018). TNF activity and T cells. *Cytokine*, 101, 14-18. doi: 10.1016/j.cyto.2016.08.003.
146. Melincovici, C. S., Boşca, A. B., Şuşman, S., Mărginean, M., Mişu, C., Istrate, M., Moldovan, I. M., Roman, A. L., & Mişu, C. M. (2018). Vascular endothelial growth factor (VEGF) - key factor in normal and pathological angiogenesis. *Romanian journal of morphology and embryology = Revue roumaine de morphologie et embryologie*, 59(2), 455-467.
147. Melo, E., Oertle, P., Trepp, C., Meistermann, H., Burgoyne, T., Sborgi, L., Cabrera, A. C., Chen, C., Hoflack, J., Kam-Thong, T., Schmucki, R., Badi, L., Flint, N., Ghiani, Z. E., Delobel, F., Stucki, C., Gromo, G., Einhaus, A., Hornsperger, B., . . . Iacone, R. (2018). Htra1 Mediated Intracellular Effects on Tubulin Using a Polarized RPE Disease Model. *EBioMedicine*, 27, 258-274. doi:

- 10.1016/j.ebiom.2017.12.011.
148. Mitter, S. K., Song, C., Qi, X., Mao, H., Rao, H., Akin, D., Lewin, A., Grant, M., Dunn Jr, W., Ding, J., Bowes Rickman, C., & Boulton, M. (2014). Dysregulated autophagy in the RPE is associated with increased susceptibility to oxidative stress and AMD. *Autophagy*, *10*(11), 1989-2005. doi: 10.4161/auto.36184.
149. Miyake, M., Yamashiro, K., Akagi-Kurashige, Y., Kumagai, K., Nakata, I., Nakanishi, H., Oishi, A., Tsujikawa, A., Yamada, R., Matsuda, F., & Yoshimura, N. (2014). Vascular endothelial growth factor gene and the response to anti-vascular endothelial growth factor treatment for choroidal neovascularization in high myopia. *Ophthalmology*, *121*(1), 225-233. doi: 10.1016/j.opthta.2013.06.043.
150. Mohamad, N. A., Ramachandran, V., Isa, H. M., Chan, Y. M., Ngah, N. F., Ching, S. M., Hoo, F. K., Wan Sulaiman, W. A., Inche Mat, L. N., & Mohamed, M. H. (2019). Association of HTRA1 and ARMS2 gene polymorphisms with response to intravitreal ranibizumab among neovascular age-related macular degenerative subjects. *Hum Genomics*, *13*(13), 1-12. doi: 10.1186/s40246-019-0197-3.
151. Mullins, R. F., Schoo, D. P., Sohn, E. H., Flamme-Wiese, M. J., Workamelahu, G., Johnston, R. M., Wang, K., Tucker, B. A., & Stone, E. M. (2014). The membrane attack complex in aging human choriocapillaris: relationship to macular degeneration and choroidal thinning. *Am J Pathol*, *184*(11), 3142-3153. doi: 10.1016/j.ajpath.2014.07.017.
152. Nakanishi, H., Gotoh, N., Yamada, R., Yamashiro, K., Otani, A., Hayashi, H., Tsujikawa, A., Shimada, N., Ohno-Matsui, K., Mochizuki, M., Saito, M., Saito, K., Iida, T., Matsuda, F., & Yoshimura, N. (2010). ARMS2/HTRA1 and CFH polymorphisms are not associated with choroidal neovascularization in highly myopic eyes of the elderly Japanese population. *Eye*, *24*, 1078-1084.
153. Nashine, S. (2021). Potential Therapeutic Candidates for Age-Related

- Macular Degeneration (AMD). *Cells*, 10(2483), 1-16. doi: 10.3390/cells10092483.
154. Nashine, S., & Kenney, M. C. (2020). Further understanding of epigenetic dysfunction of the retinal pigment epithelium in AMD. *Expert Review of Ophthalmology*, 15(4), 221-231. doi: 10.1080/17469899.2020.1767597.
155. National Library of Medicine. National Center for Biotechnology Information. HTRA1 HtrA serine peptidase 1 [ Homo sapiens (human)]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/5654>. Accessed: December 18, 2022.
156. National Library of Medicine. National Center for Biotechnology Information. TNF tumor necrosis factor [ Homo sapiens (human)]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/7124>. Accessed: December 18, 2022.
157. Newton, K., & Dixit, V. M. (2012). Signaling in Innate Immunity and Inflammation. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 4(3), a006049. doi: 10.1101/cshperspect.a006049.
158. Ng, T. K., Liang, X. Y., Lai, T. Y. Y., Ma, L., Tam, P. O. S., Wang, J. X., Chen, L. J., Chen, H., & Pang, C. P. (2016). HTRA1 promoter variant differentiates polypoidal choroidal vasculopathy from exudative age-related macular degeneration. *Sci Rep.*, 6(28639), 1-9. doi: 10.1038/srep28639.
159. Nowak, J. Z. (2006). Age-related macular degeneration (AMD): pathogenesis and therapy. *Pharmacological Reports*, 58(3), 353-363.
160. Nowak, J. Z. (2014). AMD-the retinal disease with an unprecised etiopathogenesis: in search of effective therapeutics. *Acta Pol Pharm.*, 71(6), 900-916.
161. Ohr, M., & Kaiser, P. K. (2012). Aflibercept in wet age-related macular degeneration: a perspective review. *Ther Adv Chronic Di.*, 3(4), 153-61. doi: 10.1177/2040622312446007.
162. Oka, C., Saleh, R., Bessho, Y., & Reza, H. M. (2022). Interplay between HTRA1 and classical signalling pathways in organogenesis and diseases. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29(4), 1919-1927. doi:

- 10.1016/j.sjbs.2021.11.056.
163. Oltra, M., Vidal-Gil, L., Maisto, R., Sancho-Pelluz, J., & Barcia, J. M. (2020). Oxidative stress-induced angiogenesis is mediated by miR-205-5p. *Journal of cellular and molecular medicine*, 24(2), 1428-1436. doi: 10.1111/jcmm.14822.
164. Orlin, A., Hadley, D., Chang, W., Ho, A. C., Brown, G., Kaiser, R. S., Regillo, C. D., Godshalk, A. N., Lier, A., Kaderli, B., & Stambolian, D. (2012). Association between high-risk disease loci and response to anti-vascular endothelial growth factor treatment for wet age-related macular degeneration. *Retina*, 32(1), 4-9. doi: 10.1097/IAE.0b013e31822a2c7c.
165. Park, U. C., Shin, J. Y., McCarthy, L. C., Kim, S. J., Park, J. H., Chung, H., & Yu, H. G. (2014). Pharmacogenetic associations with long-term response to anti-vascular endothelial growth factor treatment in neovascular AMD patients. *Mol Vis*, 20, 1680-1694.
166. Pascolini, D., & Mariotti, S. P. (2012). Global estimates of visual impairment: 2010. *Br J Ophthalmol*, 96(5), 614-618. doi: 10.1136/bjophthalmol-2011-300539.
167. Passan, S., Goyal, S., Bhat, M. A., Singh, D., & Vanita, V. (2019). Association of TNF- $\alpha$  gene alterations (c.-238G>A, c.-308G>A, c.-857C>T, c.-863C>A) with primary glaucoma in north Indian cohort. *Gene*, 709, 25-35. doi: 10.1016/j.gene.2019.05.035.
168. Patel, P. N., Patel, P. A., Land, M. R., Bakerkhatib-Taha, I., Ahmed, H., & Sheth, V. (2022). Targeting the Complement Cascade for Treatment of Dry Age-Related Macular Degeneration. *Biomedicines*, 10(8), 1884. doi: 10.3390/biomedicines10081884.
169. Pauleikhoff, D., & Spital, G. (2004). [Photodynamic therapy in AMD. Strategy for indication]. *Ophthalmologe*, 101(12), 1224-1230. doi: 10.1007/s00347-004-1119-9.
170. Peach, C. J., Mignone, V. W., Arruda, M. A., Alcobia, D. C., Hill, S. J., Kilpatrick, L. E., & Woolard, J. (2018). Molecular Pharmacology of VEGF-A

- Isoforms: Binding and Signalling at VEGFR2. *International journal of molecular sciences*, 19(4), 1264. doi: 10.3390/ijms19041264.
171. Pennington, K. L., & DeAngelis, M. M. (2016). Epidemiology of age-related macular degeneration (AMD): associations with cardiovascular disease phenotypes and lipid factors. *Eye Vis (Lond)*, 3(34), 1-20. doi: 10.1186/s40662-016-0063-5.
172. Pinci, F., Gaidt, M. M., Jung, C., Kuut, G., Jackson, M. A., Bauernfried, S., & Hornung, V. (2020). C-tag TNF: a reporter system to study TNF shedding. *J Biol Chem*, 295(52), 18065-18075. doi: 10.1074/jbc.RA120.015248.
173. Pouw, A. E., Greiner, M. A., Coussa, R. G., Jiao, C., Han, I. C., Skeie, J. M., Fingert, J. H., Mullins, R. F., & Sohn, E. H. (2021). Cell-Matrix Interactions in the Eye: From Cornea to Choroid. *Cells*, 10(687), 1-27. doi: 10.3390/cells10030687.
174. Qidwai, T., & Khan, F. (2011). Tumour necrosis factor gene polymorphism and disease prevalence. *Scand J Immunol*, 74(6), 522-547. doi: 10.1111/j.1365-3083.2011.02602.x.
175. Rakoczy, P. E., Zhang D., Robertson, T., Barnett, N. L., Papadimitriou, J., Constable, I. J., & Lai, C. M. (2002). Progressive age-related changes similar to age-related macular degeneration in a transgenic mouse model. *Am J Pathol*, 161(4), 1515-1524. doi: 10.1016/S0002-9440(10)64427-6.
176. Ramrattan, R. S., van der Schaft, T. L., Mooy, C. M., de Bruijn, W. C., Mulder, P. G., & de Jong, P. T. (1994). Morphometric analysis of Bruch's membrane, the choriocapillaris, and the choroid in aging. *Investigative ophthalmology & visual science*, 35(6), 2857-2864.
177. Regula, J. T., von Leithner, P. L., Foxton, R., Barathi, V. A., Cheung, C. M. G., Tun, S. B. B., Wey, Y. S., Iwata, D., Dostalek, M., Moelleken, J., Stubenrauch, K. G., Nogoceke, E., Widmer, G., Strassburger, P., Koss, M. J., Klein, C., Shima, D. T., & Hartmann, G. (2016). Targeting key angiogenic pathways with a bispecific CrossMAb optimized for neovascular eye diseases.

- EMBO Mol Med*, 8(11), 1265-1288. doi: 10.15252/emmm.201505889.
178. Ricci, F., Bandello, F., Navarra, P., Staurenghi, G., Stumpp, M., & Zarbin, M. (2020). Neovascular Age-Related Macular Degeneration: Therapeutic Management and New-Upcoming Approaches. *Int J Mol Sci.*, 21(8242), 1-40. doi: 10.3390/ijms21218242.
179. Robert, F., Desroches-Castan, A., Bailly, S., Dupuis-Girod, S., & Feige, J. J. (2020). Future treatments for hereditary hemorrhagic telangiectasia. *Orphanet J Rare Dis*, 15(4), 1-10. doi: 10.1186/s13023-019-1281-4.
180. Rosenfeld, P. J., & Feuer, W. J. (2019). Warning: Do Not Treat Intermediate AMD with Laser Therapy. *Ophthalmology*, 126(6), 839-840. doi: 10.1016/j.ophtha.2018.12.016.
181. Ross, R. J., Verma, V., Rosenberg, K. I., Chan, C. C., & Tuo, J. (2007). Genetic markers and biomarkers for age-related macular degeneration. *Expert review of ophthalmology*, 2(3), 443-457. doi: 10.1586/17469899.2.3.443.
182. Ruan, Y., Jiang, S., Musayeva, A., & Gericke, A. (2020). Oxidative Stress and Vascular Dysfunction in the Retina: Therapeutic Strategies. *Antioxidants (Basel)*, 9(8), 761. doi: 10.3390/antiox9080761.
183. Saetan, N., Honsawek, S., Tanavalee, A., Ngarmukos, S., Yuktanandana, P., & Poovorawan, Y. (2022). Association between Common Variants in VEGFA Gene and the Susceptibility of Primary Knee Osteoarthritis. *CARTILAGE*, 13(4), 66-76. doi: 10.1177/19476035221132260.
184. Sant, D. W., Camarena, V., Mustafi, S., Li, Y., Wilkes, Z., Van Booven, D., Wen, R., & Wang, G. (2018). Ascorbate Suppresses VEGF Expression in Retinal Pigment Epithelial Cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 59(8), 3608-3618. doi: 10.1167/iovs.18-24101.
185. Schmitz-Valckenberg, S., Fleckenstein, M., Zouache, M. A., Pfau, M., Pappas, C., Hageman, J. L., Agrón, E., Malley, C., Keenan, T. D. L., Chew, E. Y., & Hageman, G. S. (2022). Progression of Age-Related Macular Degeneration Among Individuals Homozygous for Risk Alleles on Chromosome 1 (CFH-



- CFHR5) or Chromosome 10 (ARMS2/HTRA1) or Both. *JAMA ophthalmology*, *140*(3), 252–260. doi: 10.1001/jamaophthalmol.2021.6072.
186. Schwartz, S. G., & Brantley, M. A., Jr (2011). Pharmacogenetics and age-related macular degeneration. *Journal of ophthalmology*, *2011*(252549), 1-9. doi: 10.1155/2011/252549.
187. Shahidatul-Adha, M., Zunaina, E., & Aini-Amalina, M. N. (2022). Evaluation of vascular endothelial growth factor (VEGF) level in the tears and serum of age-related macular degeneration patients. *Scientific reports*, *12*(4423), 1-9. doi: 10.1038/s41598-022-08492-7.
188. Shan, B., Pan, H., Najafov, A., & Yuan, J. (2018). Necroptosis in development and diseases. *Genes Dev*, *32*(5-6), 327-340. doi: 10.1101/gad.312561.118.
189. Sharma, K., Battu, P., Singh, R., Sharma, S. K., & Anand, A. (2022). Modulated anti-VEGF therapy under the influence of lipid metabolizing proteins in Age related macular degeneration: a pilot study. *Scientific reports*, *12*(714), 1-11. doi: 10.1038/s41598-021-04269-6.
190. Sharma, K., Sharma, N. K., Singh, R., Sharma, S. K., & Anand, A. (2021). Gene networks determine predisposition to AMD. *Genomics*, *113*(1 Pt 2), 514-522. doi: 10.1016/j.ygeno.2020.09.044.
191. Shi, X., Semkova, I., Müther, P. S., Dell, S., Kociok, N., & Jousen, A. M. (2006). Inhibition of TNF-alpha reduces laser-induced choroidal neovascularization. *Exp Eye Res*, *83*(6), 1325-1334. doi: 10.1016/j.exer.2006.07.007.
192. Shinojima, A., Lee, D., Tsubota, K., Negishi, K., & Kurihara, T. (2021). Retinal Diseases Regulated by Hypoxia—Basic and Clinical Perspectives: A Comprehensive Review. *J Clin Med*, *10*(23), 5496. doi: 10.3390/jcm10235496.
193. Shirmohammadi, A., Babaloo, A., Maleki Dizaj, S., Lotfipour, F., Sharifi, S., Ghavimi, M. A., & Khezri, K. (2021). A View on Polymerase Chain Reaction as an Outstanding Molecular Diagnostic Technique in Periodontology. *Biomed Res In*, *2021*(9979948), 1-8. doi: 10.1155/2021/9979948.
194. Silveira, A. A. A., Dominical, V. M., Almeida, C. B., Chweih, H., Ferreira Jr,

- W. A., Vicente, C. P., Costa, F. T. M., Werneck, C. C., Costa, F. F., & Conran, N. (2018). TNF induces neutrophil adhesion via formin-dependent cytoskeletal reorganization and activation of  $\beta$ -integrin function. *J Leukoc Biol*, *103*(1), 87-98. doi: 10.1189/jlb.3A0916-388RR.
195. Sohn, E. H., Flamme-Wiese, M. J., Whitmore, S. S., Workalemahu, G., Marneros, A. G., Boese, E. A., Kwon, Y. H., Wang, K., Abramoff, M. D., Tucker, B. A., Stone, E. M., & Mullins, R. F. (2019). Choriocapillaris Degeneration in Geographic Atrophy. *Am J Pathol.*, *189*(7), 1473-1480. doi: 10.1016/j.ajpath.2019.04.005.
196. Song, Y., Ke, Y., Kang, M., & Bao, R. (2022). Function, molecular mechanisms, and therapeutic potential of bacterial HtrA proteins: An evolving view. *Comput Struct Biotechnol.*, *20*, 40-49. doi: 10.1016/j.csbj.2021.12.004.
197. Spaide, R. F., Fujimoto, J. G., Waheed, N. K., Sadda, S. R., & Staurenghi, G. (2018). Optical coherence tomography angiography. *Prog Retin Eye Res*, *64*, 1-55. doi: 10.1016/j.preteyeres.2017.11.003.
198. Spaide, R. F., Jaffe, G. J., Sarraf, D., Freund, K. B., Sadda, S. R., Staurenghi, G., Waheed, N. K., Chakravarthy, U., Rosenfeld, P. J., Holz, F. G., Souied, E. H., Cohen, S. Y., Querques, G., Ohno-Matsui, K., Boyer, D., Gaudric, A., Blodi, B., Bauman, C. R., Li, X., . . . Fujimoto, J. (2020). Consensus Nomenclature for Reporting Neovascular Age-Related Macular Degeneration Data. *Ophthalmology*, *127*(5), 616-636. doi: 10.1016/j.ophtha.2019.11.004.
199. Spraul, C. W., Lang, G. E., & Grossniklaus, H. E. (1996). Morphometric analysis of the choroid, Bruch's membrane, and retinal pigment epithelium in eyes with age-related macular degeneration. *Investigative ophthalmology & visual science*, *37*(13), 2724-2735.
200. Spraul, C. W., Lang, G. E., Grossniklaus, H. E., & Lang, G. K. (1999). Histologic and morphometric analysis of the choroid, Bruch's membrane, and retinal pigment epithelium in postmortem eyes with age-related macular degeneration and histologic examination of surgically excised choroidal

- neovascular membranes. *Survey of ophthalmology*, 44(1), S10–S32. doi: 10.1016/s0039-6257(99)00086-7.
201. Stahl, A. (2020). The Diagnosis and Treatment of Age-Related Macular Degeneration. *Dtsch Arztebl Int*, 117(29-30), 513-520. doi: 10.3238/arztebl.2020.0513.
202. Stefano, J. E., Bird, J., Kyazike, J., Cheng, A. W., Boudanova, E., Dwyer, M., Hou, L., Qiu, H., Matthews, G., O'Callaghan, M., & Pan, C. Q. (2012). High-affinity VEGF antagonists by oligomerization of a minimal sequence VEGF-binding domain. *Bioconjug Chem*, 23(12), 2354-2364. doi: 10.1021/bc300301m.
203. Suehiro, J., Hamakubo, T., Kodama, T., Aird, W. C., & Minami, T. (2010). Vascular endothelial growth factor activation of endothelial cells is mediated by early growth response-3. *Blood*, 115(12), 2520-2532. doi: 10.1182/blood-2009-07-233478.
204. Supanji, S., Perdamaian, A. B. I., Romdhoniyyah, D. F., Sasongko, M. B., Agni, A. N., Wardhana, F. S., Widayanti, T. W., Prayogo, M. E., Oka, C., & Kawaichi, M. (2022). Association of the HtrA1 rs11200638 Polymorphism with Neovascular Age-Related Macular Degeneration in Indonesia. *Ophthalmol Ther.*, 11(1), 125-133. doi: 10.1007/s40123-021-00402-w.
205. Supe, S., Upadhyay, A., & Singh, K. (2021). Role of small interfering RNA (siRNA) in targeting ocular neovascularization: A review. *Exp Eye Res*, 202(108329), 1-33. doi: 10.1016/j.exer.2020.108329.
206. Tan, W., Zou, J., Yoshida, S., Jiang, B., & Zhou, Y. (2020). The Role of Inflammation in Age-Related Macular Degeneration. *International journal of biological sciences*, 16(15), 2989-3001. doi: 10.7150/ijbs.49890.
207. Tanaka, K., Watanabe, M., Tanigaki, S., Iwashita, M., & Kobayashi, Y. (2018). Tumor necrosis factor- $\alpha$  regulates angiogenesis of BeWo cells via synergy of PlGF/VEGFR1 and VEGF-A/VEGFR2 axes. *Placenta*, 74, 20-27. doi: 10.1016/j.placenta.2018.12.009.
208. Tatar, O., Kaiserling, E., Adam, A., Gelisken, F., Shinoda, K., Völker, M.,

- Lafaut, B. A., Bartz-Schmidt, K. U., & Grisanti, S. (2016). Consequences of verteporfin photodynamic therapy on choroidal neovascular membranes. *Arch Ophthalmol*, *124*(6), 815-823. doi: 10.1001/archopht.124.6.815.
209. Terasaki, H., Kase, S., Shirasawa, M., Otsuka, H., Hisatomi, T., Sonoda, S., Ishida, S., Ishibashi, T., & Sakamoto, T. (2013). TNF- $\alpha$  decreases VEGF secretion in highly polarized RPE cells but increases it in non-polarized RPE cells related to crosstalk between JNK and NF- $\kappa$ B pathways. *PLoS One*, *8*(7), e69994. doi: 10.1371/journal.pone.0069994.
210. Tetikoğlu, M., Yüksel, Z., Aktas, S., Sağdik, H. M., & Özcura, F. (2018). VEGF-A gene polymorphisms and responses to intravitreal ranibizumab treatment in patients with diabetic macular edema. *Int Ophthalmol*, *38*(6), 2381-2388. doi: 10.1007/s10792-017-0738-5.
211. Thalgott, V., Feucht, N., Lohmann, C. P., & Maier, M. (2016). Langzeitergebnisse bei neovaskulärer altersabhängiger Makuladegeneration : Entwicklung des Visus und der geografischen Atrophie unter langjähriger VEGF-Inhibitionstherapie [Long-term results in neovascular age-related macular degeneration : Changes in visual acuity and geographic atrophy during long-standing anti-VEGF therapy]. *Ophthalmologe*, *113*(8), 668-674. doi: 10.1007/s00347-016-0228-6.
212. The Age-Related Eye Disease Study Research Group. The Age-Related Eye Disease Study (AREDS): design implications. AREDS report no. 1. *Control Clin Trials*, *20*(6), 573-600. doi: 10.1016/s0197-2456(99)00031-8.
213. The Human Gene Mutation Database at the Institute of Medical Genetics in Cardiff. HGMD Public site users – VEGFA. Available from: <https://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/gene.php?gene=VEGFA>. Accessed: 2020.
214. The Human Gene Mutation Database at the Institute of Medical Genetics in Cardiff. HGMD Public site users – TNF. Available from: <https://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/gene.php?gene=TNF>. Accessed: 2020.
215. Thee, E. F., Colijn, J. M., Cougnard-Grégoire, A., Meester-Smoor, M. A.,

- Verzijden, T., Hoyng, C. B., Fauser, S., Hense, H. W., Silva, R., Creuzot-Garcher, C., Ueffing, M., Delcourt, C., den Hollander, A. I., Klaver, C. C. W., European Eye Epidemiology Consortium and EYE-RISK Project. (2022). The Phenotypic Course of Age-Related Macular Degeneration for ARMS2/HTRA1: The EYE-RISK Consortium. *Ophthalmology*, *129*(7), 752-764. doi: 10.1016/j.ophtha.2022.02.026.
216. Thomas, C. J., Mirza, R. G., & Gill, M. K. (2021). Age-Related Macular Degeneration. *Medical Clinics of North America*, *105*(3), 473-491. doi: 10.1016/j.mcna.2021.01.003.
217. Toomey, C. B., Johnson, L. V., & Bowes Rickman, C. (2018). Complement factor H in AMD: Bridging genetic associations and pathobiology. *Progress in retinal and eye research*, *62*, 38-57. doi: 10.1016/j.preteyeres.2017.09.001.
218. Uemura, A., Fruttiger, M., D'Amore, P. A., De Falco, S., Jousseaume, A. M., Sennlaub, F., Brunck, L. R., Johnson, K. T., Lambrou, G. N., Rittenhouse, K. D., & Langmann, T. (2021). VEGFR1 signaling in retinal angiogenesis and microinflammation. *Progress in retinal and eye research*, *84*(100954), 1-24. doi: 10.1016/j.preteyeres.2021.100954.
219. Varfolomeev, E., & Vucic, D. (2018). Intracellular regulation of TNF activity in health and disease. *Cytokine*, *101*, 26-32. doi: 10.1016/j.cyto.2016.08.035.
220. Velez-Montoya, R., Oliver, S. C., Olson, J. L., Fine, S. L., Quiroz-Mercado, H., & Mandava, N. (2014). Current knowledge and trends in age-related macular degeneration: genetics, epidemiology, and prevention. *Retina*, *34*(3), 423-441. doi: 10.1097/IAE.0000000000000036.
221. Vilkeviciute, A., Cebatoriene, D., Kriauciuniene, L., Liutkeviciene, R. (2022). VEGFA Haplotype and VEGF-A and VEGF-R2 Protein Associations with Exudative Age-Related Macular Degeneration. *Cells*, *11*(6), 996. doi: 10.3390/cells11060996.
222. Vofsi, B. N., Beykin, G., Levy, J., & Chowers, I. (2022). Long-term outcome of neovascular age-related macular degeneration: association between treatment

- outcome and major risk alleles. *Br J Ophthalmol*, 106(11), 1555-1560. doi: 10.1136/bjophthalmol-2021-319054.
223. Wan, L., Lin, H., Tsai, Y., Lee, C., Tsai, C., Tsai, F., Tsai, Y., & Lin, J. (2010). Tumor necrosis factor- $\alpha$  gene polymorphisms in age-related macular degeneration. *Retina*, 30(10), 1595-1600. doi: 10.1097/IAE.0b013e3181dc58a6.
224. Wang, Y., Meng, X., & Yan, H. (2017). Niaspan inhibits diabetic retinopathy-induced vascular inflammation by downregulating the tumor necrosis factor- $\alpha$  pathway. *Mol Med Rep*, 15(3), 1263-1271. doi: 10.3892/mmr.2017.6146.
225. Wang, Z., Zou, M., Chen, A., Liu, Z., Young, C. A., Wang, S. B., Zheng, D., & Jin, G. (2022). Genetic associations of anti-vascular endothelial growth factor therapy response in age-related macular degeneration: a systematic review and meta-analysis. *Acta Ophthalmol*, 100(3), e669-e680. doi: 10.1111/aos.14970.
226. Wei, C., Kung, Y., Chen, C. S., Chang, C., Lin, C., Tien, P., Chang, H., Chen, H., Huang, Y., Lin, H., & Wan, L. (2018). Allergic Conjunctivitis-induced Retinal Inflammation Promotes Myopia Progression. *EBioMedicine*, 28, 274-286. doi: 10.1016/j.ebiom.2018.01.024.
227. Wei, X., Chen, Y., Wu, L., Cui, L., Hu, D., & Zeng, X. (2016). Tumor necrosis factor- $\alpha$  G-308A (rs1800629) polymorphism and aggressive periodontitis susceptibility: a meta-analysis of 16 case-control studies. *Sci Rep*, 6(19099), 1-8. doi: 10.1038/srep19099.
228. Weigelt, C. M., Fuchs, H., Schönberger, T., Stierstorfer, B., Strobel, B., Lamla, T., Ciossek, T., Bakker, R. A., & Redemann, N. H. (2021). AAV-Mediated Expression of Human VEGF, TNF- $\alpha$ , and IL-6 Induces Retinal Pathology in Mice. *Transl Vis Sci Technol*, 10(15), 1-19. doi: 10.1167/tvst.10.11.15.
229. Whitmore, H. A. B., Amarnani, D., O'Hare, M., Delgado-Tirado, S., Gonzalez-Buendia, L., An, M., Pedron, J., Bushweller, J. H., Arboleda-Velasquez, J. F., & Kim, L. A. (2021). TNF- $\alpha$  signaling regulates RUNX1 function in endothelial cells. *FASEB J*, 35(2), e21155. doi: 10.1096/fj.202001668R.
230. Wittenborn, J. S., Zhang, X., Feagan, C. W., Crouse, W. L., Shrestha, S.,

- Kemper, A. R., Hoerger, T. J., Saaddine, J. B., & Vision Cost-Effectiveness Study Group. (2013). The economic burden of vision loss and eye disorders among the United States population younger than 40 years. *Ophthalmology*, *120*(9), 1728-1735. doi: 10.1016/j.ophtha.2013.01.068.
231. Wong, J. H. C., Ma, J. Y. W., Jobling, A. I., Brandli, A., Greferath, U. Fletcher, E. L., & Vessey, K. A. (2022). Exploring the pathogenesis of age-related macular degeneration: A review of the interplay between retinal pigment epithelium dysfunction and the innate immune system. *Front Neurosci*, *16*, 1-21. doi: 10.3389/fnins.2022.1009599.
232. Wong, W. L., Su, X., Li, X., Cheung, C. M. G., Klein, R., Cheng, C., & Wong, T. Y. (2014). Global prevalence of age-related macular degeneration and disease burden projection for 2020 and 2040: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet*, *2*(2), E106-E116. doi: 10.1016/S2214-109X(13)70145-1.
233. Woo, H. J., Yu, C., Kumar, K., Gold, B., & Reifman, J. (2016). Genotype distribution-based inference of collective effects in genome-wide association studies: insights to age-related macular degeneration disease mechanism. *BMC Genomics*, *17*(695), 1-20. doi: 10.1186/s12864-016-2871-3.
234. World Health Organization. (2019). *World report on vision*. <https://www.who.int/publications/i/item/9789241516570>
235. Xi, L. (2020). Pigment Epithelium-Derived Factor as a Possible Treatment Agent for Choroidal Neovascularization. *Oxid Med Cell Longev*, *2020*(8941057), 1-11. doi: 10.1155/2020/8941057.
236. Xue, R., Liu, C., Xiao, Q., Sun, S., Zou, Q., & Li, H. (2021). HtrA family proteases of bacterial pathogens: pros and cons for their therapeutic use. *Clinical Microbiology and Infection*, *27*(4), 559-564. doi: 10.1016/j.cmi.2020.12.017.
237. Yamashiro, K., Mori, K., Honda, S., Kano, M., Yanagi, Y., Obana, A., Sakurada, Y., Sato, T., Nagai, Y., Hikichi, T., Kataoka, Y., Hara, C., Koyama, Y., Koizumi, H., Yoshikawa, M., Miyake, M., Nakata, I., Tsuchihashi, T., Horie-

- Inoue, K., & Yoshimura, N. (2017). A prospective multicenter study on genome wide associations to ranibizumab treatment outcome for age-related macular degeneration. *Sci Rep*, 7(9196), 1-8. doi: 10.1038/s41598-017-09632-0.
238. Yang, M., So, K., Lam, W. C., & Lo, A. C. Y. (2020). Novel Programmed Cell Death as Therapeutic Targets in Age-Related Macular Degeneration? *Int J Mol Sci*, 21(19), 7279. doi: 10.3390/ijms21197279.
239. Yang, S., Zhao, J., & Sun, X. (2016). Resistance to anti-VEGF therapy in neovascular age-related macular degeneration: a comprehensive review. *Drug Des Devel Ther*, 10, 1857-1867. doi: 10.2147/DDDT.S97653.
240. Yang, Z., Camp, N. J., Sun, H., Tong, Z., Gibbs, D., Cameron, D. J., Chen, H., Zhao, Y., Pearson, E., Li, X., Chien, J., Dewan, A., Harmon, J., Bernstein, P. S., Shridhar, V., Zabriskie, N. A., Hoh, J., Howes, K., & Zhang, K. (2006). A variant of the HTRA1 gene increases susceptibility to age-related macular degeneration. *Science*, 314(5801), 992-993. doi: 10.1126/science.1133811.
241. Yang, Z., Shen, B., Yue, L., Miao, Y., Hu, Y., & Ouyang, R. (2022). Application of Nanomaterials to Enhance Polymerase Chain Reaction. *Molecules*, 27(8854), 1-26. doi: 10.3390/molecules27248854.
242. Yasuma, T. R., Nakamura, M., Nishiguchi, K. M., Kikuchi, M., Kaneko, H., Niwa, T., Hamajima, N., & Terasaki, H. (2010). Elevated C-reactive protein levels and ARMS2/HTRA1 gene variants in subjects without age-related macular degeneration. *Molecular vision*, 16, 2923-2930.
243. Ying, G. S., Maguire, M. G., Pan, W., Grunwald, J. E., Daniel, E., Jaffe, G. J., Toth, C. A., Hagstrom, S. A., Martin, D. F., & CATT Research Group (2018). Baseline Predictors for Five-Year Visual Acuity Outcomes in the Comparison of AMD Treatment Trials. *Ophthalmology. Retina*, 2(6), 525-530. doi: 10.1016/j.oret.2017.10.003.
244. Yiu, G., & Mahmoud, T. H. (2014). Subretinal hemorrhage. *Dev Ophthalmol*, 54, 213-222. doi: 10.1159/000360469.
245. Yoshida, S., Ono, M., Shono, T., Izumi, H., Ishibashi, T., Suzuki, H., &



- Kuwano, M. (1997). Involvement of interleukin-8, vascular endothelial growth factor, and basic fibroblast growth factor in tumor necrosis factor alpha-dependent angiogenesis. *Mol Cell Biol*, *17*(7), 4015-4023. doi: 10.1128/mcb.17.7.4015.
246. Zacks, D. N., Kocab, A. J., Choi, J. J., Gregory-Ksander, M. S., Cano, M., & Hand, J. T. (2022). Cell Death in AMD: The Rationale for Targeting Fas. *J Clin Med*, *11*(592), 1-14. doi: 10.3390/jcm11030592.
247. Zazeckyte, G., Gedvilaite, G., Vilkeviciute, A., Kriauciuniene, L., Balciuniene, V. J., Mockute, R., & Liutkeviciene, R. (2022). Associations of Tumor Necrosis Factor-Alpha Gene Polymorphisms (TNF)- $\alpha$  TNF-863A/C (rs1800630), TNF-308A/G (rs1800629), TNF-238A/G (rs361525), and TNF-Alpha Serum Concentration with Age-Related Macular Degeneration. *Life (Basel)*, *12*(928), 1-12. doi: 10.3390/life12070928.
248. Zhang, L., Lim, S. L., Du, H., Zhang, M., Kozak, I., Hannum, G., Wang, X., Ouyang, H., Hughes, G., Zhao, L., Zhu, X., Lee, C., Su, Z., Zhou, X., Shaw, R., Geum, D., Wei, X., Zhu, J., Ideker, T., . . . Zhang, K. (2012). High temperature requirement factor A1 (HTRA1) gene regulates angiogenesis through transforming growth factor- $\beta$  family member growth differentiation factor 6. *Journal of Biological Chemistry*, *287*(2), 1520-1526. doi: 10.1074/jbc.M111.275990.
249. Zhang, M., Tombran-Tink, J., Yang, S., Zhang, X., Li, X., & Barnstable, C. J. (2021). PEDF is an endogenous inhibitor of VEGF-R2 angiogenesis signaling in endothelial cells. *Experimental Eye Research*, *213*, 108828. doi: 10.1016/j.exer.2021.108828.
250. Zhang, X., & Sivaprasad, S. (2021). Drusen and pachydrusen: the definition, pathogenesis, and clinical significance. *Eye (Lond)*, *35*(1), 121-133. doi: 10.1038/s41433-020-01265-4.
251. Zhang, X., Bohner, A., Bhuvanagiri, S., Uehara, H., Upadhyay, A. K., Emerson, L. L., Bondalapati, S., Muddana, S. K., Fang, D., Li, M., Sandhu, Z.,

- Hussain, A., Carroll, L. S., Tiem, M., Archer, B., Kompella, U., Patil, R., & Ambati, B. K. (2017). Targeted Intraceptor Nanoparticle for Neovascular Macular Degeneration: Preclinical Dose Optimization and Toxicology Assessment. *Mol Ther*, *25*(7), 1606-1615. doi: 10.1016/j.ymthe.2017.01.014.
252. Zhang, Y., & Wong, W. T. (2021). Innate Immunity in Age-Related Macular Degeneration. *Adv Exp Med Biol*, *1256*, 121-141. doi: 10.1007/978-3-030-66014-7\_5.
253. Zhang, Y., Cao, Y., Xin, L., Gao, N., Liu, B., & Li., Y. (2018). Association between rs1800629 polymorphism in tumor necrosis factor- $\alpha$  gene and dilated cardiomyopathy susceptibility. *Medicine*, *97*(50), e13386. doi: 10.1097/MD.00000000000013386.
254. Zhao, L., Grob, S., Avery, R., Kimura, A., Pieramici, D., Lee, J., Rabena, M., Ortiz, S., Quach, J., Cao, G., Luo, H., Zhang, M., Pei, M., Song, Y., Tornambe, P., Goldbaum, M., Ferreyra, H., Kozak, I., & Zhang, K. (2013). Common variant in VEGFA and response to anti-VEGF therapy for neovascular age-related macular degeneration. *Curr Mol Med*, *13*(6), 929-934. doi: 10.2174/15665240113139990048.
255. Zhou, Y., Chen, C., Wang, Y., Tong, Y., Fang, X., Li, L., & Wang, Z. (2017). Association between polymorphism rs11200638 in the HTRA1 gene and the response to anti-VEGF treatment of exudative AMD: a meta-analysis. *BMC Ophthalmol*, *17*(97), 1-9. doi: 10.1186/s12886-017-0487-2/

**ДОДАТОК А****Список публікацій здобувача**

**Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:**

1. Малачкова Н. В., Осама Мохаммад Мітеб Аль-Джаррах. (2022). Вивчення впливу поліморфізму rs1800629 TNF на перебіг вікової макулярної дегенерації крізь призму anti-VEGF терапії. Вісник Вінницького національного медичного університету, 26(2). 267–273.

2. Малачкова Н. В., Осама Мохаммад Мітеб Аль-Джаррах. (2022) Вплив поліморфізму rs2010963 гена VEGFA на відповідь лікування «вологої» форми вікової макулярної дегенерації. Вісник Вінницького національного медичного університету. 26(3). 411–417.

3. Малачкова, Н. В., Осама Мохаммад Мітеб Аль-Джаррах (2022). Роль поліморфізмів генів HTRA серинової пептидази 1, фактора росту ендотелію судин, фактора некрозу пухлин у лікуванні «вологої» форми вікової макулярної дегенерації. Львівський клінічний вісник. 3(39) – 4(40), 45–53.

**Наукові праці, які додатково відображають наукові результати дисертації:**

4. Малачкова Н. В., Маса'дех, М. М. М., Аль-Джаррах О. М. М., Людкевич Г. П., Сухань Д. С. (2021). Сучасний погляд на етіопатогенез вікової макулярної дегенерації та роль молекулярно-генетичних детермінант у ньому. Архів офтальмології України, 9(3), 21-27.

**Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:**

5. Malachkova N. V., Osama Mohammad Miteb Al-Jarrah. (2022) Study of Susceptibility To The Occurrence of Age-related Macular Degeneration on The Basis of The VEGF Gene Polymorphism. Proceedings of X International Scientific and Practical Conference «Eurasian Scientific Discussions» (23-25 жовтня 2022 р., м. Барселона, Іспанія). С. 38–43.

6. Malachkova N. V., Osama Mohammad Miteb Al-Jarrah. (2022) Study of Susceptibility To The Occurrence of Age-related Macular Degeneration on The Basis of The HTRA1 Gene Polymorphism. Proceedings of VIII International Scientific and Practical Conference «Modern Research in World Science» (29-31 жовтня 2022 р., м. Львів, Україна). С. 126–131.

7. Malachkova N. V., Osama Mohammad Miteb Al-Jarrah. (2022). Study of Susceptibility To The Occurrence of Age-related Macular Degeneration on The Basis of The TNF Gene Polymorphism. Proceedings of II International Scientific and Practical Conference «Scientific Progress: Innovations, Achievements and Prospects» (6-8 листопада 2022 р., м. Мюнхен, Німеччина). С. 43–49.

## ДОДАТОК Б-1

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з наукової роботи  
Вінницького національного медичного  
університету ім. М.І. Пирогова  
доц. Олесь ВЛАСЕНКО  
2022 р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** Використання молекулярно-генетичного методу для встановлення ризику резистентності до anti-VEGF терапії при «вологій» формі вікової макулярної дегенерації.

2. **Установа-розробник:** Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, кафедра очних хвороб, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56, 21000, Україна.

Розроблювач: Осама Мохаммад Мітеб Аль-Джаррах.

Джерела інформації: Малачкова, Н. В., Осама Мохаммад Мітеб Аль-Джаррах (2022). Роль поліморфізмів генів HTRA серинової пептидази 1, фактора росту ендотелію судин, фактора некрозу пухлини у лікуванні «вологої» форми вікової макулярної дегенерації. Львівський клінічний вісник. 3(39) – 4(40), 45–53.

**Базова установа, яка проводить впровадження:** Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, кафедра очних хвороб

3. **Результати застосування пропозиції** за період з жовтня по грудень 2022 р. Матеріали використовуються в навчальному процесі кафедри очних хвороб на практичних заняттях.

• **Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації (п. 3):** Використання результатів наукових досліджень у навчальному процесі дозволяє розширити знання студентів та лікарів офтальмологів щодо оптимізації сучасних підходів лікування вологої форми вікової макулярної дегенерації з урахуванням клінічних та біомолекулярних маркерів.

4. **Зауваження, пропозиції:** не вносилися.

5. **Затверджено** на засіданні кафедри 29.08. 2022 р. (протокол № / )  
Відповідальний за впровадження: доц. Жмудь Т.М.

Завідувач кафедри очних хвороб  
Вінницького національного  
медичного університету ім. М.І. Пирогова,  
кандидат медичних наук, професор Малачкова Н. В.

## ДОДАТОК Б-2

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з наукової роботи  
Вінницького національного медичного  
університету ім. М.І. Пирогова  
проф. Олег ВЛАСЕНКО

« 14 березня » 2023 р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** Використання молекулярно-генетичного методу для встановлення ризику резистентності до анти-VEGF терапії при «вологій» формі вікової макулярної дегенерації.

2. **Установа-розробник:** Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, кафедра очних хвороб, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56, 21000, Україна.

Розроблювач: Осама Мохаммад Мітеб Аль-Джаррах.

Джерела інформації: Малачкова, Н. В., Осама Мохаммад Мітеб Аль-Джаррах. (2022) Вплив поліморфізму rs2010963 гена VEGFA на відповідь лікування «вологої» форми вікової макулярної дегенерації. Вісник Вінницького національного медичного університету. 26(3). 411–417.

**Базова установа, яка проводить впровадження:** Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, кафедра медичної біології.

3. **Результати застосування пропозиції** за період з жовтня 2022 по січень 2023р. Матеріали використовуються в навчальному процесі кафедри медичної біології на практичних заняттях.

• **Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації (п. 3):** Використання результатів наукових досліджень у навчальному процесі дозволяє розширити знання студентів щодо оптимізації сучасних підходів лікування вікової макулярної дегенерації з урахуванням біомолекулярних маркерів.

4. **Зауваження, пропозицій:** не вносилися.

5. **Затверджено** на засіданні кафедри 02-03- 2023 р. (протокол № 5 )

Завідувач кафедри медичної біології  
Вінницького національного  
медичного університету ім. М.І. Пирогова,  
доктор біологічних наук,  
старший науковий співробітник Шкарупа В. М.





## ДОДАТОК Б-3

ЗАТВЕРДЖУЮ»  
 Заступник директора ТОВ «ОПТИМАЛ-М»  
 м. Вінниця  
 Наумчук А. Л.  
 2022 р.



## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** Використання молекулярно-генетичного методу для встановлення ризику резистентності до anti-VEGF терапії при «вологій» формі вікової макулярної дегенерації.

2. **Установа-розробник:** Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, кафедра очних хвороб, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56, 21000, Україна.

Розроблювач: Осама Мохаммад Мітеб Аль-Джаррах..

Джерела інформації: Малачкова Н. В., Осама Мохаммад Мітеб Аль-Джаррах. 2022 Вивчення впливу поліморфізму rs1800629 TNF на перебіг вікової макулярної дегенерації крізь призму anti-VEGF терапії. Вісник Вінницького національного медичного університету, 26(2). 267–273.

**Базова установа, яка проводить впровадження:** Медичний центр ТОВ «ОПТИМАЛ-М»

3. **Результати застосування пропозиції** за період з липня по жовтень 2022 р. Матеріали використовуються у лікувальному процесі .

- **Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації (п. 3):** Використання результатів наукових досліджень у лікувальному процесі дозволяє покращити лікуванні вологої форми вікової макулярної дегенерації.

4. **Зауваження, пропозиції:** не вносилися.

Відповідальний за впровадження: Наумчук А. Л.