

Сердюк А.В.<sup>1</sup> , Могілевський С.Ю.<sup>2</sup> , Сердюк В.Н.<sup>1</sup> , Гуліда А.О.<sup>2</sup> , Зяблицев С.В.<sup>3</sup> <sup>1</sup> Дніпровський державний медичний університет, м. Дніпро, Україна<sup>2</sup> Національний університет охорони здоров'я України імені П.Л. Шупика, м. Київ, Україна<sup>3</sup> Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, м. Київ, Україна

## Прогнозування діабетичної ретинопатії на підставі визначення факторів ендотеліальної дисфункції

For citation: Archive of Ophthalmology of Ukraine. 2025;13(3):189-195. doi: 10.22141/2309-8147.13.3.2025.424

**Резюме. Актуальність.** Одним з основних патогенетичних механізмів виникнення та прогресування діабетичної ретинопатії (ДР) є ендотеліальна дисфункція, яка погіршує очну гемодинаміку. Показники ендотеліальної дисфункції добре корелюють з тяжкістю ДР та можуть бути біомаркерами її прогресування. **Мета:** визначити вміст маркерів ендотеліальної дисфункції: високочутливого С-реактивного протеїну (вч-СРП), ендотеліального моноцит-активуючого поліпептиду ІІ (ЕМАР-ІІ), ендотеліну-1 (ЕТ-1), метаболітів оксиду азоту (NOx), ендотеліальної NO-синтази (eNOS), інтерлейкіну-1β (ІЛ-1β) і ІЛ-6 при різних стадіях ДР та можливість їх використання як діагностичних та прогностичних маркерів. **Матеріали та методи.** Обстежено 136 пацієнтів з цукровим діабетом 2-го типу, яких розподілили на групи: 1-ша — з непроліферативною ДР (НПДР; 60 очей), 2-га — з препроліферативною ДР (ППДР; 42 ока) та 3-тя — з проліферативною ДР (ПДР; 34 ока). Уміст у крові NOx визначали із застосуванням реактиву Гріса. Визначення у сироватці крові інших маркерів проводили імуноферментним методом. Аналіз результатів проводився в пакеті EZR v.1.54 (Австрія). **Результати.** Уміст у крові вивчених маркерів суттєво зростає, що відповідає стадіям ДР. Уміст eNOS відповідно до стадій ДР значно зменшувався. Між рівнями всіх маркерів та стадіями ДР існувала сильна кореляція ( $r = -0,75$  для eNOS і  $r =$  від  $+0,52$  до  $+0,93$  для інших;  $p < 0,0001$ ). Шляхом побудови багатофакторних GLM-моделей було виділено 5 показників (вч-СРП, ЕТ-1, NOx, ІЛ-1β і ІЛ-6), які мали дуже сильний зв'язок результуючої змінної Y, що характеризує стадію ДР (корегований коефіцієнт детермінації  $R^2_{adj} = 0,94$ ). Для величини Y отримані межові значення, що дозволяють прогнозувати стадію ДР (точність прогнозу 96,3 %). Найбільший зв'язок з результуючою змінною Y мали вміст у крові ЕТ-1 та ІЛ-6 (корегований коефіцієнт детермінації  $R^2_{adj} = 0,91$ ). Застосування цієї моделі дозволяло прогнозувати стадію ДР за розрахованим показником Y із точністю 92,5 %. **Висновки.** Отримані результати відповідали сучасним уявленням про роль ендотеліальної дисфункції у розвитку та прогресуванні ДР; встановлено можливість використання показників, що вивчалися, як її біомаркерів. Наведена 2-факторна математична модель дозволяє впровадити визначення порогів вмісту ЕТ-1 та ІЛ-6 для діагностики стадій ДР.

**Ключові слова:** цукровий діабет 2-го типу; діабетична ретинопатія; прогноз; біомаркери; високочутливий С-реактивний протеїн; ендотелін-1; ЕМАР-ІІ; NO; eNOS; ІЛ-1β; ІЛ-6

### Вступ

Точний прогноз, що становить основу сучасної прецизійної медицини, включає в першу чергу обґрунтування застосування біомаркерів, які визначають механізми розвитку діабетичних ускладнень [1, 2]. Встановлено, що ризик виникнення та прогресування діабетичної ретинопатії (ДР) залежить від багатьох системних та очних

факторів, серед яких вік, чоловіча стать, тривалість захворювання, діабетична нейро- та нефропатія, рівень у крові глюкози натще, загального холестерину, тригліцеридів та глікованого гемоглобіну [3, 4].

Одним з основних патогенетичних механізмів виникнення та прогресування ДР є ендотеліальна дисфункція, яка погіршує очну гемодинаміку, знижуючи

 © 2025. The Authors. This is an open access article under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International License, CC BY, which allows others to freely distribute the published article, with the obligatory reference to the authors of original works and original publication in this journal.

Для кореспонденції: Сердюк Антон Валерійович, доктор філософії з медицини, асистент, кафедра сімейної медицини ФПО, Дніпровський державний медичний університет, вул. Володимира Вернадського, 9, м. Дніпро, 49044, Україна; e-mail: anton777serdyk@gmail.com, anton777serdyk@icloud.com

For correspondence: Anton Serdyuk, PhD in Medicine, Assistant, Department of Family Medicine, Postgraduate Education Faculty, Dnipro State Medical University, Volodymyr Vernadsky st., 9, Dnipro, 49044, Ukraine; e-mail: anton777serdyk@gmail.com, anton777serdyk@icloud.com

Full list of authors information is available at the end of the article.

бідоступність оксиду азоту (NO) та збільшуючи продукцію активних форм кисню (АФК) [5]. Індуцибельна NO-синтаза (NOS) під впливом медіаторів запалення утворює надлишок NO, що викликає нейродегенерацію та апоптоз клітин сітківки. Також під впливом АФК і підвищеного споживання L-аргініну аргіназою виникає дисфункція ендотеліальної NO-синтази (eNOS), що спричиняє порушення ендотеліопосередкованих вазодилатаційних реакцій [6]. Саме нітрооксидативний стрес та гіперглікемія є ключовими патогенетичними факторами структурних змін мікросудин у сітківці [7].

Значно підвищені рівні запальних біомаркерів сироватки крові при ДР свідчать про значну роль запалення в її патогенезі [8]. Так, для високочутливого С-реактивного протеїну (вч-СРП) та прозапальних цитокінів виявлена позитивна кореляція з тяжкістю ДР [9]. За умов гіперглікемії прозапальні цитокіни починають секретуватися активованою мікро- і макроглією, пігментним епітелієм, що посилює апоптоз та витік рідини з судин [10]. Показано, що першоджерелом прозапальних інтерлейкінів у сітківці є активовані мікрогліальні клітини [11].

Зниженню бідоступності NO сприяє збільшення продукції ендотеліну-1 (ЕТ-1) у судинній стінці, що посилює оксидативний стрес та хронічне запалення [12]. Збільшення вмісту ЕТ-1 у плазмі крові відповідає порушенням очної гемодинаміки та може відігравати важливу роль у ранній діагностиці ДР.

Також одним з маркерів ендотеліальної дисфункції є ендотеліальний моноцит-активуєчий поліпептид ІІ (ЕМАР-ІІ), багатофункціональний білок з прозапальною та антиангіогенною активністю [13]. Було показано, що вміст ЕМАР-ІІ при цукровому діабеті (ЦД) 2-го типу та ДР був багаторазово збільшеним порівняно з контролем, що залежало від ступеня діабетичних судинних змін сітківки та їх прогресування протягом 1 року спостереження [14].

**Мета:** визначити вміст маркерів ендотеліальної дисфункції (вч-СРП, ЕМАР-ІІ, ЕТ-1, NO, eNOS, ІЛ-1 $\beta$  і ІЛ-6) при різних стадіях ДР та можливість їх використання як діагностичних та прогностичних маркерів.

## Матеріали та методи

Усі дослідження проведені з дотриманням основних положень Конвенції Ради Європи про права людини та біомедицину, Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації про етичні принципи проведення наукових медичних досліджень за участю людини (1964, з подальшими доповненнями, включаючи версію 2000 р.) та відповідали чинному законодавству України. На проведення дослідження було отримано дозвіл комісії з етики та академічної доброчесності Дніпровського державного медичного університету. Усі пацієнти, залучені у дослідження, надали інформовану згоду на участь.

За дизайном дослідження було когортним, проспективним та рандомізованим.

Було обстежено 136 пацієнтів з ЦД 2-го типу та ДР, у яких враховували показники найгіршого за станом ДР ока. Пацієнтів згідно зі стадією ДР було розподілено на групи: 1-ша — з непроліферативною ДР (НПДР;

60 очей), 2-га — з препроліферативною ДР (ППДР; 42 ока) та 3-тя — з проліферативною ДР (ПДР; 34 ока). Вік пацієнтів за стадіями ДР суттєво не відрізнявся і становив у 1-й групі 65 (59–72) років, у 2-й — 64,5 (59–71) року й у 3-й групі — 66 (61,75–71,25) років; різниця за критерієм Крускала — Уолліса незначуща ( $p = 0,245$ ).

Усім пацієнтам були виконані загальноприйнятні офтальмологічні обстеження: візометрія на проекторі тестових знаків Huvitz CCP-3100 та цифровому фороптері HDR 7000 Huvitz, статична периметрія на приладі Humphrey Field Analyzer model 740i фірми Carl Zeiss Meditec; рефрактометрія на авторефрактометрії HRK-7000 Huvitz, тонометрія на автоматичному безконтактному тонометрі Huvitz HNT-7000, кератопахиметрія на приладі OculusPentacam AXL; біомікроскопія із щільною лампою SLM-2ER Kanghua; гоніоскопія з використанням контактної тридзеркальної лінзи Гольдмана Ocular; офтальмоскопія за допомогою лінз Volk Digital wide field та контактної тридзеркальної лінзи Гольдмана Ocular; оптична когерентна томографія (ОКТ) на приладі Optoview RTVue RT-100, 100-2; за необхідності — фотографування очного дна за допомогою фундус-камери TOPCON TRS-NW7SF, за показаннями проводили флуоресцентну ангіографію. Детальний аналіз клінічних, лабораторних та офтальмологічних показників у пацієнтів, що брали участь у даному дослідженні, було опубліковано нами раніше [4, 15].

У сироватці крові імуноферментним методом проводили визначення вч-СРП (Monobind, США), ЕТ-1 (Peninsula Laboratories, Inc, США), ЕМАР-ІІ (BioSource, США), eNOS (BCM Diagnostics, США), ІЛ-1 $\beta$  і ІЛ-6 (Bender Medsystems, Австрія) із застосуванням плашкового фотометра STAT FAX303/Plus (Awareness Technology Inc, США). Уміст у крові оксиду азоту визначали біохімічним методом за кінцевими продуктами його метаболізму (NOx) — нітритами (NO $_2^-$ ) і нітратами (NO $_3^-$ ) із застосуванням реактиву Гріса [16].

Аналіз результатів дослідження проводили в пакеті EZR v.1.54 (графічний інтерфейс до R statistical software v.4.0.3, R Foundation for Statistical Computing, Австрія) [17]. Закон розподілу змінних відрізнявся від нормального, тому для подання даних наведено медіану (Me) та міжквартильний інтервал (QI–QIII). При статистичному аналізі порівняння проведені за критерієм Крускала — Уолліса, постеріорні порівняння — за критерієм Данна, критичний рівень значущості прийнятий рівним 0,05 [18].

Для визначення межових порогів маркерів для стадії ДР використані методи багатокласової класифікації [19]. Кореляційний аналіз проведено з визначенням коефіцієнта рангової кореляції Спірмена. Для аналізу зв'язку з ризиком прогресування ДР використано метод побудови та аналізу моделей логістичної регресії [17]. Адекватність моделей оцінювали за площею під ROC-кривою моделі (AUC — Area under the ROC curve) [20]. Модель вважали адекватною при статистично значущій відмінності величини AUC від 0,5. Для кількісної оцінки ступеня впливу факторних ознак розраховували показники відношення шансів (ВШ) та їх 95% вірогідні інтервали (ВІ).

Таблиця 1. Уміст маркерів у крові пацієнтів за групами (Me; QI–QIII)

| Показник             | Група                                  |  |                                      |                                      | p       |
|----------------------|--|--|--------------------------------------|--------------------------------------|---------|
|                      | Контроль                               | 1-ша (НПДР)                            | 2-га (ППДР)                          | 3-тя (ПДР)                           |         |
| вч-СРП, мкг/л        | 1517<br>(1112–1780,5) <sup>1,2,3</sup> | 2882<br>(2212,5–3396) <sup>0,2,3</sup> | 4818<br>(4292–5874) <sup>0,1,3</sup> | 7461<br>(6335–8555) <sup>0,1,2</sup> | < 0,001 |
| ЕМАР-II, нг/мл       | 1,61<br>(1,38–2,11) <sup>1,2,3</sup>   | 4,01<br>(3,04–4,76) <sup>0,2,3</sup>   | 7,37<br>(6,59–8,69) <sup>0,1</sup>   | 9,745<br>(8,65–11,0) <sup>0,1</sup>  | < 0,001 |
| ЕТ-1, пг/мл          | 0,68<br>(0,51–0,93) <sup>1,2,3</sup>   | 1,49<br>(1,25–1,85) <sup>0,2,3</sup>   | 2,56<br>(2,25–2,86) <sup>0,1</sup>   | 2,8<br>(2,29–3,02) <sup>0,1</sup>    | < 0,001 |
| NOx, мкмоль/л        | 4,34<br>(3,94–4,56) <sup>1,2,3</sup>   | 5,54<br>(5,22–5,71) <sup>0,2</sup>     | 5,935<br>(5,14–6,55) <sup>0,1</sup>  | 5,68<br>(5,17–6,56) <sup>0</sup>     | < 0,001 |
| eNOS, пг/мл          | 354<br>(322,5–374) <sup>1,2,3</sup>    | 231,5<br>(183,5–272,5) <sup>0,3</sup>  | 222<br>(149–263) <sup>0,3</sup>      | 94,5<br>(71–146) <sup>0,1,2</sup>    | < 0,001 |
| IL-1 $\beta$ , пг/мл | 1,98<br>(1,67–2,37) <sup>1,2,3</sup>   | 10,8<br>(9,57–1,2) <sup>0,2,3</sup>    | 21,9<br>(19,8–24,8) <sup>0,1</sup>   | 27,8<br>(23,7–31,2) <sup>0,1</sup>   | < 0,001 |
| IL-6, пг/мл          | 1,47<br>(1,22–1,71) <sup>1,2,3</sup>   | 5,14<br>(4,2–6,0) <sup>0,2,3</sup>     | 8,86<br>(7,72–10,4) <sup>0,1,3</sup> | 24,1<br>(19,1–26,8) <sup>0,1,2</sup> | < 0,001 |

Примітки: порівняння проведено за критерієм Крускала — Уолліса, постеріорні порівняння — за критерієм Данна: <sup>0</sup> — відмінність від контрольної групи статистично значуща,  $p < 0,05$ ; <sup>1</sup> — відмінність від 1-ї групи статистично значуща,  $p < 0,05$ ; <sup>2</sup> — відмінність від 2-ї групи статистично значуща,  $p < 0,05$ ; <sup>3</sup> — відмінність від 3-ї групи статистично значуща,  $p < 0,05$ .

## Результати

Уміст вивчених маркерів суттєво зростав відповідно до стадії ДР, за винятком eNOS, уміст якої мав чітку тенденцію до зниження (табл. 1).

Так, уміст вч-СРП при НПДР перевищував контрольний рівень у 1,9 раза, при ППДР — у 3,2 раза, при ПДР — у 4,9 раза ( $p < 0,001$  для всіх порівнянь). Уміст ЕМАР-II при НПДР перевищував дані контрольної групи у 2,5 раза, при ППДР — у 4,6 раза, при ПДР — у 6,1 раза ( $p < 0,001$  для всіх порівнянь). Уміст IL-6 при НПДР був більший за контрольний у 3,5 раза, при ППДР — у 6,0 раза і при ПДР — у 16,4 раза ( $p < 0,001$  для всіх порівнянь). При цьому прогресуванню ДР чітко відповідало збільшення вмісту вч-СРП, ЕМАР-II і IL-6, відмінності між групами були статистично значущі ( $p < 0,05$ ).

Уміст ЕТ-1 у пацієнтів з НПДР був більше контрольний рівня у 2,2 раза, при ППДР — у 3,8 раза, при ПДР — у 4,1 раза ( $p < 0,001$  для всіх порівнянь). Уміст IL-1 $\beta$  при НПДР був більший за контрольний у 5,45 раза, при ППДР — у 11,1 раза і при ПДР — у 14,0 раза ( $p < 0,001$  для всіх порівнянь). При цьому вміст обох маркерів у пацієнтів з ППДР і ПДР статистично значуще не відрізнявся ( $p > 0,05$ ), але був вищим за такий у пацієнтів з НПДР. Таким чином, при розвитку ДР ЕТ-1 і IL-1 $\beta$  мали дві сходинки росту — перша при НПДР і друга — при її прогресуванні до ППДР.

Уміст NOx при ДР був більшим порівняно з контрольною групою без діабету (у 1,3–1,4 раза;  $p < 0,001$ ). Наомість за групами різниці виявлено не було ( $p > 0,05$ ). Уміст eNOS при ДР, навпаки, суттєво і прогресивно знижувався, при НПДР він був менше за контрольний у 1,5 раза, при ППДР — у 1,6 раза і при ПДР — у 3,7 раза ( $p < 0,001$  для всіх порівнянь). При цьому вміст eNOS у пацієнтів з НПДР і ППДР статистично значуще не відрізнявся ( $p > 0,05$ ), але був вищим за такий у пацієнтів з ПДР (у 2,3–2,4 раза;  $p < 0,05$ ). Таким чином,

прогресування ДР зазнавало двох падінь — перше при розвитку НПДР/ППДР і друге супроводжувало подальше прогресування ретинопатії до стадії ПДР.

Для аналізу зв'язку стадії ДР з визначеними маркерами було використано метод побудови моделей лінійної регресії [17]. Результуюча змінна — стадія ДР була конвертована у кількісну змінну Y, при цьому Y = 0 для групи контролю, Y = 1 для 1-ї групи (НПДР), Y = 2 для 2-ї групи (ППДР), Y = 3 для 3-ї групи (ПДР). На першому етапі було проведено кореляційний аналіз, у табл. 2 наведено отримані результати. Було з'ясовано, що всі маркери мали чітку кореляцію зі стадіями ДР ( $p < 0,0001$ ) і, відповідно, могли розглядатися як маркери прогресування ДР.

На другому етапі у багатофакторних GLM-моделях було проведено відбір сукупності незалежних факторів, пов'язаних із показником Y. Відбір проводився за методом покрокового включення/виключення ознак, Stepwise ( $p_{\text{включення}} < 0,05$  та  $p_{\text{виключення}} > 0,1$ ). Було виділено 5 показників: вч-СРП, ЕТ-1, NOx, IL-1 $\beta$  і IL-6. Модель, що була побудована на вказаних ознаках, адекватна ( $F_{\text{ratio}} = 527,6$  при  $p < 0,001$ ), корегований коефіцієнт

Таблиця 2. Зв'язок стадії ДР з визначеними маркерами

| Показник             | r      | p        |
|----------------------|--------|----------|
| вч-СРП, мкг/л        | 0,917  | < 0,0001 |
| ЕМАР-II, нг/мл       | 0,925  | < 0,0001 |
| ЕТ-1, пг/мл          | 0,890  | < 0,0001 |
| NOx, мкмоль/л        | 0,520  | < 0,0001 |
| eNOS, пг/мл          | -0,752 | < 0,0001 |
| IL-1 $\beta$ , пг/мл | 0,917  | < 0,0001 |
| IL-6, пг/мл          | 0,934  | < 0,0001 |

Примітки: r — коефіцієнт кореляції Спірмена; p — статистична значущість.

**Таблиця 3. Аналіз 5-факторної моделі логістичної регресії прогнозування ризику прогресування діабетичної ретинопатії**

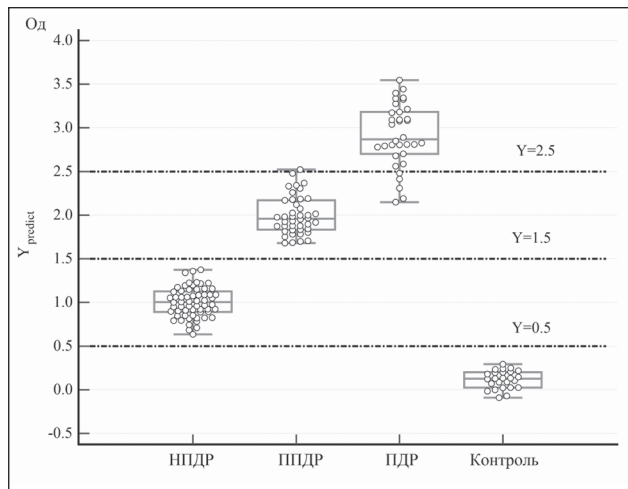
| Показник      | Коефіцієнт моделі, $b$ | Стандартна похибка, $m$ | $p$      | Показник частинної кореляції, $r_{\text{sempartial}}$ |
|---------------|------------------------|-------------------------|----------|---|
| Константа     | -7,85E-01              | 1,49E-01                | < 0,0001 | —   |
| вч-СРП        | 7,26E-05               | 2,00E-05                | 0,0004   | 0,070   |
| ЕТ-1          | 3,53E-01               | 4,62E-02                | < 0,0001 | 0,145   |
| NOx           | 1,02E-01               | 2,87E-02                | 0,0005   | 0,067   |
| TNF- $\alpha$ | 2,46E-03               | 4,61E-04                | < 0,0001 | 0,101   |
| IL-1 $\beta$  | 3,99E-03               | 4,93E-04                | < 0,0001 | 0,153   |

детермінації  $R^2_{\text{adj}} = 0,94$ , що свідчило про дуже сильний зв'язок  $Y$  з обраними маркерами. У табл. 3 наведено аналіз статистичних показників отриманої моделі, а на рис. 1 — межові значення  $Y$ , що були розраховані в рамках отриманої моделі.

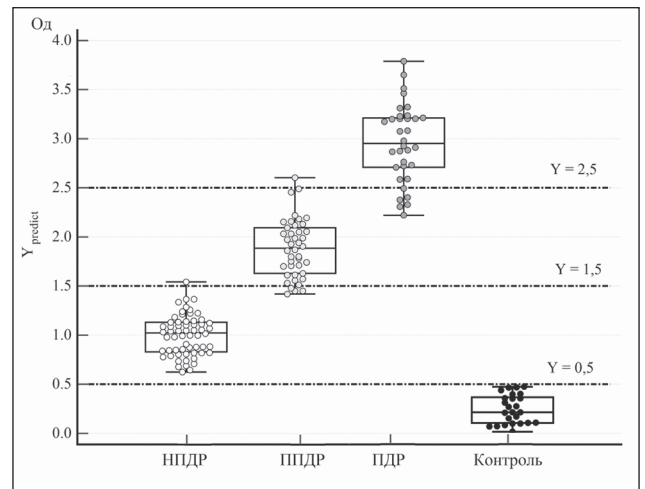
Значення  $Y$  у діапазоні 0,5–1,5 Од відповідали НПДР, більші за 1,5 Од — ППДР, а вищі за 2,5 Од — ПДР. При виборі цих межових значень застосування 5-факторної моделі дозволяло прогнозувати стадію ДР за розрахованим показником  $Y$  із точністю 96,3 % (95% ВІ 92,0–98,6 %). При цьому діагностика НПДР здійснювалася з точністю 100 %, оскільки межові діапазони контрольної групи, НПДР і ППДР не перетиналися (рис. 1).

Також необхідно зазначити, що показник  $Y$  мав безперервний характер, тобто його можна було використовувати як показник тяжкості ДР у всьому діапазоні значень.

У найбільшому ступені показник  $Y$  в рамках 5-факторної моделі визначався за показниками ЕТ-1 та ІЛ-6, які мали найбільші показники частинної кореляції (табл. 3), що свідчило про їх найбільший зв'язок з результируючою змінною  $Y$ . Модель, що була побудована тільки на цих показниках, адекватна ( $F_{\text{ratio}} = 821,3$  при  $p < 0,001$ ), корегований коефіцієнт детермінації  $R^2_{\text{adj}} = 0,91$ , що свідчило про дуже сильний зв'язок  $Y$  з обраними маркерами. У табл. 4 наведено аналіз статистичних показників отриманої моделі.



**Рисунки 1. Діаграми результуючої ознаки  $Y$  ( $Y_{\text{predict}}$ ; Од), розрахованої за 5-факторною моделлю у групах. Кружечки — показник  $Y$  у пацієнтів різних груп; горизонтальні рисочки у прямокутниках — медіани ( $Me$ ); у прямокутниках — значення I і III кватилів ( $Q_I$ – $Q_{III}$ ); вертикальні планки з рисками — мінімальні та максимальні значення; наведені межові значення  $Y$  при різних стадіях ДР; усі міжгрупові різниці статистично значущі при  $p < 0,05$**



**Рисунки 2. Діаграми результуючої ознаки  $Y$  ( $Y_{\text{predict}}$ ; Од), розрахованої за 2-факторною моделлю у групах. Тоновані кружечки — показник  $Y$  у пацієнтів різних груп; горизонтальні рисочки у прямокутниках — медіани ( $Me$ ); у прямокутниках — значення I і III кватилів ( $Q_I$ – $Q_{III}$ ); вертикальні планки з рисками — мінімальні та максимальні значення; наведені межові значення  $Y$  при різних стадіях ДР; усі міжгрупові різниці статистично значущі при  $p < 0,05$**

**Таблиця 4. Аналіз 2-факторної моделі логістичної регресії прогнозування ризику прогресування діабетичної ретинопатії**

| Показник  | Коефіцієнт моделі, $b$ | Стандартна похибка, $m$ | $p$      | Показник частинної кореляції, $r_{\text{sempartial}}$ |
|-----------|------------------------|-------------------------|----------|---|
| Константа | -0,28                  | 0,06                    | < 0,0001 | —   |
| ЕТ-1      | 0,60                   | 0,040                   | < 0,0001 | 0,357   |
| ІЛ-6      | 0,0068                 | 0,0004                  | < 0,0001 | 0,390   |

На рис. 2 наведено значення  $Y$ , розраховане в рамках моделі, для пацієнтів із різними діагнозами. Застосування 2-факторної моделі дозволяло прогнозувати стадію ДР за розрахованим показником  $Y$  із точністю 92,5 % (95% ВІ 87,3–96,1 %; при виборі відповідних межових значень). Незначне зниження точності прогнозу при цьому дозволило виокремити 2 основні показники, які, за даними цього дослідження, визначали стадію ДР і, відповідно, її прогресування.

## Обговорення

У нашому попередньому дослідженні було показано, що з прогресуванням ДР були пов'язані показники вмісту в крові глікованого гемоглобіну та показники ОКТ [15]. Мали значення вік та вміст у крові ліпопротеїдів низької та дуже низької щільності. У продовження пошуку значущих біомаркерів розвитку та прогресування ДР у цій роботі нами досліджений вміст у сироватці крові маркерів ендотеліальної дисфункції та можливості їх застосування як біомаркерів ДР.

Серед всіх вивчених показників найбільший зв'язок із стадіями ДР мали гормон ендотелію ET-1 та прозапальний цитокін IL-6. Якість прогнозу із застосуванням 5 маркерів була незначно вищою за якість прогнозу за цими показниками (96,3 проти 92,5 %). Відповідно, саме їх можна вважати незалежними показниками тяжкості ДР та маркерами прогнозу її прогресування.

ET-1 є найбільш поширеним членом родини білків ендотеліну (ET-1, ET-2 та ET-3). Він має потужну вазоконстрикторну дію і синтезується переважно пошкодженим ендотелієм з проліферативними, профібротичними та прозапальними властивостями [21]. Наслідком ішемії сітківки при ДР є гіпоксія, яка потенціює експресію ET-1 [12]. Введення ET-1 у задне склоподібне тіло або зоровий нерв тварин призводить до фізіологічних та клітинних пошкоджень ішемічного походження, включно з обструкцією кровотоку в сітківці та апоптозом гангліонарних клітин [22]. У пацієнтів з НПДР були виявлені вищі концентрації ET-1 у водянистій волозі, що корелювало із зниженням загального кровотоку в сітківці [23].

IL-6 — це багатогранний плейотропний цитокін, задіяний у патогенезі ДР [24]. У сітківці він зв'язується з ендотеліальними клітинами, що не мають мембранозв'язаного рецептора IL-6 (трансигнально), та індукуює експресію запальних і проапоптозних генів, знижує мітохондріальне дихання та окисне фосфорилування [25]. Виявлена позитивна кореляція між наявністю та тяжкістю ДР за клінічними параметрами з вмістом IL-6, що відповідало нашим результатам [26]. Трансигналізація IL-6 індукуює прозапальні ефекти, які переважають за умов ДР. З викладених позицій стає зрозумілою роль саме IL-6 як найбільш інформативного маркера ДР.

Таким чином, отримані нами результати відповідали сучасним уявленням про роль ET-1 та IL-6 у розвитку та прогресуванні ДР; встановлено можливість використання показників, що вивчалися, як її біомаркерів. Наведена 2-факторна математична модель дозволяє впровадити визначення порогів вмісту ET-1 та IL-6 для діагностики стадій ДР.

## Висновки

1. Уміст у крові вч-СРП, ЕМАР-II, ET-1, IL-1 $\beta$  і IL-6 суттєво зростає, що відповідало стадіям ДР. Уміст eNOS відповідно до стадій ДР значно зменшувався.

2. Між рівнями всіх маркерів та стадіями ДР існувала сильна кореляція ( $r = -0,75$  для eNOS і  $r =$  від  $+0,52$  до  $+0,93$  для інших;  $p < 0,0001$ ).

3. Шляхом побудови багатфакторних GLM-моделей було виділено 5 показників (вч-СРП, ET-1, NOx, IL-1 $\beta$  і IL-6), які мали дуже сильний зв'язок результуючої змінної  $Y$ , що характеризувала стадію ДР (корегований коефіцієнт детермінації  $R^2_{adj} = 0,94$ ). Для величини  $Y$  отримані межові значення, що дозволяли прогнозувати стадію ДР (точність прогнозу 96,3 %).

4. Найбільший зв'язок з результуючою змінною  $Y$  мали вміст у крові ET-1 та IL-6 (корегований коефіцієнт детермінації  $R^2_{adj} = 0,91$ ). Застосування цієї моделі дозволяло прогнозувати стадію ДР за розрахованим показником  $Y$  із точністю 92,5 %.

**Конфлікт інтересів.** Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів та власної фінансової зацікавленості при підготовці даної статті.

**Інформація про фінансування.** Зовнішнього фінансування дослідження не передбачалося.

**Внесок авторів.** Сердюк А.В. — концепція і дизайн дослідження, написання тексту; Зяблицев С.В., Могілевський С.Ю., Сердюк В.Н., Гуліда А.О. — аналіз отриманих даних.

## References

- Schiborn C, Schulze MB. Precision prognostics for the development of complications in diabetes. *Diabetologia*. 2022 Nov;65(11):1867-1882. doi: 10.1007/s00125-022-05731-4.
- Dai L, Wu L, Li H, et al. A deep learning system for detecting diabetic retinopathy across the disease spectrum. *Nat Commun*. 2021 May 28;12(1):3242. doi: 10.1038/s41467-021-23458-5.
- Ghamdi AHA. Clinical Predictors of Diabetic Retinopathy Progression; A Systematic Review. *Curr Diabetes Rev*. 2020;16(3):242-247. doi: 10.2174/1573399815666190215120435.
- Serdiuk AV. Glycated hemoglobin as a prognostic factor for the progression of non-proliferative diabetic retinopathy in type 2 diabetes. *Archives of Ukrainian Ophthalmology*. 2024;12(2):26-30. Ukrainian. doi: 10.22141/2309-8147.12.2.2024.377.
- Gui F, You Z, Fu S, Wu H, Zhang Y. Endothelial Dysfunction in Diabetic Retinopathy. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2020 Sep 4;11:591. doi: 10.3389/fendo.2020.00591.
- Hein TW, Omae T, Xu W, Yoshida A, Kuo L. Role of Arginase in Selective Impairment of Endothelium-Dependent Nitric Oxide Synthase-Mediated Dilatation of Retinal Arterioles during Early Diabetes. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2020 May 11;61(5):36. doi: 10.1167/iovs.61.5.36.
- Opatrilova R, Kubatka P, Caprnda M, et al. Nitric oxide in the pathophysiology of retinopathy: evidences from preclinical and clinical researches. *Acta Ophthalmol*. 2018 May;96(3):222-231. doi: 10.1111/aos.13384.
- Bhutia CU, Kaur P, Singh K, Kaur S. Evaluating peripheral blood inflammatory and metabolic biomarkers as predictors in diabetic retinopathy and diabetic macular edema. *Indian J Ophthalmol*. 2023

Jun;71(6):2521-2525. doi: 10.4103/IJO.IJO\_345\_23.

9. Sproston NR, Ashworth JJ. Role of C-Reactive Protein at Sites of Inflammation and Infection. *Front Immunol.* 2018 Apr 13;9:754. doi: 10.3389/fimmu.2018.00754.

10. Tang L, Xu GT, Zhang JF. Inflammation in diabetic retinopathy: possible roles in pathogenesis and potential implications for therapy. *Neural Regen Res.* 2023 May;18(5):976-982. doi: 10.4103/1673-5374.355743.

11. Campagno KE, Lu W, Sripinun P, Albalawi F, Cenaj A, Mitchell CH. Priming and release of cytokine IL-1β in microglial cells from the retina. *Exp Eye Res.* 2025 Mar;252:110246. doi: 10.1016/j.exer.2025.110246.

12. Kostov K. The Causal Relationship between Endothelin-1 and Hypertension: Focusing on Endothelial Dysfunction, Arterial Stiffness, Vascular Remodeling, and Blood Pressure Regulation. *Life (Basel).* 2021 Sep 20;11(9):986. doi: 10.3390/life11090986.

13. Mogylnytska LA. Endothelial monocyte-activating polypeptide-II: properties, functions, and pathogenetic significance. *Fiziol Zh.* 2015;61(1):102-111. Ukrainian. doi: 10.15407/fz61.01.102.

14. Rykov SO, Korobov KV, Mogilevskyy SYu, Ziablitsev DS. Progression of diabetic non-proliferative retinopathy in type 2 diabetes mellitus: the connection with the blood endothelial monocyte-activating polypeptide-II level. *Medical Science of Ukraine.* 2020;16(4):15-21. doi: 10.32345/2664-4738.4.2020.03.

15. Mogilevskii SIu, Serdiuk AV, Zyablitsev SV. Prognostic biomarkers of non-proliferative diabetic retinopathy progression in type 2 diabetes mellitus. *Ukrainian Journal of Ophthalmology.* 2024;(4):38-45. doi: 10.31288/ofthalmolzh202443845.

16. Miranda KM, Espey MG, Wink DA. A rapid, simple spectrophotometric method for simultaneous detection of nitrate and nitrite. *Nitric Oxide.* 2001 Feb;5(1):62-71. doi: 10.1006/niox.2000.0319.

17. Kanda Y. Investigation of the freely available easy-to-use software 'EZR' for medical statistics. *Bone Marrow Transplant.* 2013 Mar;48(3):452-458. doi: 10.1038/bmt.2012.244.

18. Gurianov VG, Lyakh YuE, Parii VD, et al. Handbook of biostatistics. Analysis of the results of medical research in the EZR (R-statistics) package. Kyiv: Vistka; 2018. 208 p. Ukrainian.

19. Brownlee J. One-vs-Rest and One-vs-One for Multi-Class Classification. Available from: <https://machinelearningmastery.com/one-vs-rest-and-one-vs-one-for-multi-class-classification>.

20. Robin X, Turck N, Hainard A, et al. pROC: an open-source package for R and S+ to analyze and compare ROC curves. *BMC Bioinformatics.* 2011 Mar 17;12:77. doi: 10.1186/1471-2105-12-77.

21. Ergul A. Endothelin-1 and diabetic complications: focus on the vasculature. *Pharmacol Res.* 2011 Jun;63(6):477-482. doi: 10.1016/j.phrs.2011.01.012.

22. Cheung SS, Leung JW, Lam AK, et al. Selective over-expression of endothelin-1 in endothelial cells exacerbates inner retinal edema and neuronal death in ischemic retina. *PLoS One.* 2011;6(10):e26184. doi: 10.1371/journal.pone.0026184.

23. Khuu LA, Tayyari F, Sivak JM, et al. Aqueous humor endothelin-1 and total retinal blood flow in patients with non-proliferative diabetic retinopathy. *Eye (Lond).* 2017 Oct;31(10):1443-1450. doi: 10.1038/eye.2017.74.

24. Hoffman JM, Robinson R, Greenway G, Glass J, Budkin S, Sharma S. Blockade of interleukin-6 trans-signaling prevents mitochondrial dysfunction and cellular senescence in retinal endothelial cells. *Exp Eye Res.* 2023 Dec;237:109721. doi: 10.1016/j.exer.2023.109721.

25. Quevedo-Martínez JU, Garfias Y, Jimenez J, Garcia O, Venegas D, Bautista de Lucio VM. Pro-inflammatory cytokine profile is present in the serum of Mexican patients with different stages of diabetic retinopathy secondary to type 2 diabetes. *BMJ Open Ophthalmol.* 2021 Jun 30;6(1):e000717. doi: 10.1136/bmjophth-2021-000717.

26. Reeh H, Rudolph N, Billing U, et al. Response to IL-6 trans- and IL-6 classic signalling is determined by the ratio of the IL-6 receptor  $\alpha$  gp130 expression: fusing experimental insights and dynamic modelling. *Cell Commun Signal.* 2019 May 17;17(1):46. doi: 10.1186/s12964-019-0356-0.

Отримано/Received 25.10.2025

Рецензовано/Revised 23.11.2025

Прийнято до друку/Accepted 24.11.2025 ■

#### Information about authors

Anton Serdiuk, PhD in Medicine, Assistant, Department of Family Medicine, Postgraduate Education Faculty, Dnipro State Medical University, Dnipro, Ukraine; e-mail: anton777serdiuk@gmail.com, anton777serdiuk@icloud.com; <https://orcid.org/0000-0003-4909-8662>

Sergiy Mogilevskyy, MD, DSc, PhD, Professor, Department of Ophthalmology, Shupyk National Healthcare University of Ukraine, Kyiv, Ukraine; e-mail: sergey.mogilevskyy@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0002-8744-3124>

Valerii Serdiuk, MD, DSc, PhD, Professor, Dnipro State Medical University, Dnipro, Ukraine; e-mail: valeriserdiuk@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0003-3411-1561>

Anastasiia Gulida, PhD, Assistant at the Department of Ophthalmology, Shupyk National Healthcare University of Ukraine, Kyiv, Ukraine; e-mail: anastasiagulida@gmail.com; <https://orcid.org/0009-0007-4923-0957>

Sergii Ziablitsev, MD, DSc, PhD, Professor, Head of the Department of Pathophysiology, Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine; e-mail: zsv1965@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0002-5309-3728>

**Conflicts of interests.** Authors declare the absence of any conflicts of interests and own financial interest that might be construed to influence the results or interpretation of the manuscript.

**Information about funding.** No external funding for the study was anticipated.

**Authors' contribution.** A.V. Serdyuk — concept and design of the study, writing the text; S.Yu. Mogilevsky, V.N. Serdyuk, A.O. Gulida, S.V. Ziablitsev — analysis of the data obtained.

A.V. Serdyuk<sup>1</sup>, S.Yu. Mogilevsky<sup>2</sup>, V.N. Serdyuk<sup>1</sup>, A.O. Gulida<sup>2</sup>, S.V. Ziablitsev<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Dnipro State Medical University, Dnipro, Ukraine

<sup>2</sup> Shupyk National Healthcare University of Ukraine, Kyiv, Ukraine

<sup>3</sup> Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine

### Prediction of diabetic retinopathy based on determination of endothelial dysfunction factors

**Abstract. Background.** One of the main pathogenetic mechanisms of the onset and progression of diabetic retinopathy (DR) is endothelial dysfunction, which worsens ocular hemodynamics.

Indicators of endothelial dysfunction correlate well with the severity of DR and can be biomarkers of its progression. The purpose was to determine the content of endothelial dysfunction markers:

high-sensitivity C-reactive protein (hs-CRP), endothelial monocyte-activating polypeptide-II (EMAP-II), endothelin-1 (ET-1), nitric oxide (NOx) metabolites, endothelial NO synthase (eNOS), interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) and IL-6 at different stages of DR and the possibility of their use as diagnostic and prognostic markers. **Materials and methods.** One hundred and thirty-six patients with type 2 diabetes mellitus were examined and divided into groups: 1<sup>st</sup> one — with non-proliferative DR (60 eyes), 2<sup>nd</sup> one — with preproliferative DR (42 eyes) and 3<sup>rd</sup> one — with proliferative DR (34 eyes). The content of NOx in the blood was determined using the Griess reagent. Assessment of other markers in the serum was performed by the enzyme-linked immunoassay. The results were analyzed using the EZR v.1.54 package (Austria). **Results.** The blood content of the markers studied increased significantly that corresponded to the DR stages. The level of eNOS decreased significantly according to the DR stages. There was a strong correlation between all markers' levels and the DR stages ( $r = -0.75$  for eNOS and  $r = +0.52... +0.93$  for the others;  $p < 0.0001$ ). By constructing multivariate general linear models, 5 indicators were identified

(hs-CRP, ET-1, NOx, IL-1 $\beta$  and IL-6), which had a very strong relationship with the resulting Y variable that characterized the DR stage (adjusted coefficient of determination  $R^2_{adj} = 0.94$ ). For the Y variable, the cut-off values were obtained, which allowed predicting the DR stage (prediction accuracy was 96.3 %). The content of ET-1 and IL-6 in the blood (adjusted coefficient of determination  $R^2_{adj} = 0.91$ ) had the greatest relationship with the resulting variable Y. The use of this model allowed predicting the stage of DR by the calculated indicator Y with an accuracy of 92.5 %. **Conclusions.** The indicators obtained corresponded to modern ideas about the role of endothelial dysfunction in the development and progression of DR; the possibility of their use as its biomarkers was established. The presented two-factor mathematical model allows implementing the evaluation of ET-1 and IL-6 content thresholds to diagnose the DR stages.

**Keywords:** type 2 diabetes mellitus; diabetic retinopathy; prognosis; biomarkers; high-sensitivity C-reactive protein; endothelin-1; endothelial monocyte-activating polypeptide-II; nitric oxide; endothelial nitric oxide synthase; interleukin-1 $\beta$ ; interleukin-6