

引文格式:樊维,谢琳. 糖尿病视网膜病变易感基因的研究进展[J]. 眼科新进展,2016,36(2):190-193. doi:10.13389/j.cnki.rao.2016.0052

【文献综述】

糖尿病视网膜病变易感基因的研究进展[△]

樊维 谢琳

作者简介:樊维,女,1991年6月出生,四川达州人,硕士研究生。E-mail:ncdxfan@163.com

About FAN Wei: Female, born in June, 1991, Master degree. E-mail:ncdxfan@163.com

收稿日期:2015-07-31
修回日期:2015-11-04

本文编辑:盛丽娜

△基金项目:国家自然科学基金(编号:81160123);江西省科技支撑计划(重点项目)(编号:2010BSA15800);江西省自然科学基金(编号:2010GQY0269)

作者单位:330000 江西省南昌市,南昌大学第二附属医院(樊维,谢琳);330000 江西省南昌市,南昌大学(樊维)

通讯作者:谢琳, E-mail: amandaxie0510@163.com

Received date: Jul 31, 2015

Accepted date: Nov 4, 2015

Foundation item: National Natural Science Foundation of China (No: 81160123); Key Technologies R&D Program of Jiangxi Province (No: 2010BSA15800); Natural Science Foundation of Jiangxi Province (No: 2010GQY0269)

From the Department of Ophthalmology, the Second Affiliated Hospital of Nanchang University (FAN Wei, XIE Lin), Nanchang 330000, Jiangxi Province, China; Nanchang University (FAN Wei), Nanchang 330000, Jiangxi Province, China

Responsible author: XIE Lin, E-mail: amandaxie0510@163.com

学作用是促进血管生成和提高血管通透性,是维持血管通透性和促进新生血管的主要中介物质。在最近的一项研究中,CHOUDHURI等^[3]发现PDR患者血清中VEGF含量明显超过了非增生型糖尿病视网膜病变(non-proliferative diabetic retinopathy, NPDR)患者以及无DR的糖尿病患者。2014年一项对PDR患者玻璃体和血浆VEGF含量检测中,得到PDR患者血浆和玻璃体内VEGF含量明显高于正常人群,PDR进展期患者高于平稳期患者这一结论,并且提示玻璃体内增高的VEGF水平可能可以作为预测

Recent advances in susceptibility genes of diabetic retinopathy

FAN Wei, XIE Lin

【Key words】 diabetic retinopathy; pathogenesis; susceptibility gene

【Abstract】 Diabetic retinopathy (DR) is a kind of frequent and serious microvascular complication of diabetes, which is one of the important reasons resulting in the irreversible loss of vision. The occurrence and development of DR are influenced by many factors, its pathogenesis is always the hot topic. All the time, the duration of diabetes is considered as the important factor of DR, but in fact, long duration of diabetes without DR and short duration of diabetes with serious DR are not uncommon. Recent years, many researches show gene is of much importance to the pathogenesis of DR. This article reviews the recent advances in several susceptibility genes linked with DR.

【关键词】 糖尿病视网膜病变;发病机制;易感基因

【摘要】 糖尿病视网膜病变(diabetic retinopathy, DR)是糖尿病常见以及严重的微血管并发症,是导致视力不可逆性丧失的重要原因之一。DR发生发展受多种因素影响,其发病机制一直是研究热点。一直以来,糖尿病病程被认为是DR发生发展的重要因素,但是在临床上,糖尿病病程长未发DR者以及糖尿病病程短而DR进展迅速者并不少见。近年来不断有研究提示基因对糖尿病发病机制有着至关重要的影响,本文就几个与DR发病有关的重要的易感基因研究进展作一综述。

糖尿病视网膜病变(diabetic retinopathy, DR)是糖尿病最常见的严重微血管并发症,血糖控制水平和糖尿病病程长短是DR发生发展的重要因素,但是,血糖控制情况极差或者糖尿病病程长而没有发展为DR,糖尿病病程很短并且血糖控制平稳却早早地发生了DR的情况并不少见。双生子和流行病学研究证据指出,DR的发生有27%的遗传可能性,甚至在增生型糖尿病视网膜病变(proliferative diabetic retinopathy, PDR)中有50%的遗传可能性^[1]。还有研究指出,在美国人口中不同种族间DR的发病概率也是不一样的^[2],这些证据都提示DR与遗传因素有关。多年来,DR易感基因的研究已取得重大进展,本文就此作一综述。

1 血管内皮生长因子基因

血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)的主要生物PDR患者玻璃体切割术后预后的一个重要因素^[4]。

人类VEGF基因由7个内含子和8个外显子组成,定位于6号染色体p21.3,具有高度多态性,是DR候选基因研究中目前被发现相关单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphisms, SNPs)最多的,VEGF基因的5'非翻译区和启动子的单核苷酸多态性是影响VEGF蛋白质表达的主要因素^[5]。CHURCHILL等^[6]对位于启动子区及内含子区的5个SNP和5'非编码区的9个SNPs进行研究发现,-160C/T、-152A/G及116A/G 3个位点(位于启动子

区)及其组成的单倍体与PDR呈强相关。2011年一项对268个中国2型糖尿病患者的研究中发现,在VEGF基因启动子的三个SNPs测试中,rs699947、rs13207351、rs833061表现出和DR易感性有重要的联系,在这个研究群体中,和野生基因型相比,等位基因纯合子多态 rs699947、rs13207351、rs833061 分别增加了3.54倍、3.76倍、3.72倍患DR的危险性^[7]。2014年YANG等^[8]对500位中国人进行了同样的研究再一次发现了rs699947、rs13207351两种多态性对DR易感性有显著统计学意义。此后,一项meta分析报道了VEGF460C/T基因多态性与亚洲人DR相关,CC基因型为其易感基因,-634C/G与DR无相关性^[9]。近年来,VEGF基因的遗传学研究大多着重对其进行多个SNP、SNP单倍体及标签SNP的研究,虽然相关结论不一,但是很多数据都提示VEGF基因是DR的主要易感基因。

2 激酶插入区受体基因

激酶插入区受体(kinase insert domain receptor, KDR)又被称为血管内皮生长因子受体2(vascular endothelial growth factor receptor 2, VEGFR2),是VEGF信号指导内皮细胞移行和增生的主要受体,被认为是VEGF导致血管通透性增加及新生血管形成的主要原因^[8]。ZHANG等^[10]的一项实验发现糖尿病大鼠模型玻璃体内KDR水平高于正常大鼠并且与糖尿病引起的视网膜早期病变有关联。早在2002年WITMER等^[11]就曾发现在那些捐赠眼球的人当中,与无糖尿病病史者相比,糖尿病患者视网膜微血管上KDR的表达与血管渗漏有明显的关联。

KDR基因编码了1356个氨基酸,定位于4号染色体q11-q12,KDR是一种跨膜糖蛋白,含7个细胞外免疫球蛋白样功能区,其中区域1-3是VEGF结合所必需^[12],KDRn3则为该3个区域的基因序列,它表达一种可溶性蛋白质,该蛋白阻断VEGF与KDR的结合,使得VEGF促新生血管生成作用一直存在,左玲等^[13]对KDRn3转染抑制氧诱导小鼠视网膜新生血管的实验研究也证实了这一点。有研究显示,KDR基因的SNP rs2071559与DR有重要的联系,但数据上无统计学差异^[8]。KDR作为VEGF最重要的受体,与视网膜微血管通透性增加及新生血管形成必然有着重要的联系,目前,对其编码基因的研究太少,尚需大量的样本、数据和实验来深入研究KDR基因对DR发病的影响。

3 醛糖还原酶基因

多元醇通路是连接高血糖和糖尿病并发症的主要代谢途径,是DR发病的重要机制之一,而醛糖还原酶(aldose reductase, ALR)就是这条通路的第一个限速酶。在依赖还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADPH)反应下,ALR将葡萄糖转化为山梨醇,血

糖过高时,山梨醇在周细胞内大量堆积导致渗透压过高, K^{+} 和肌醇丢失,周细胞中 $Na^{+}-K^{+}$ -ATP酶活性下降,内皮细胞受损以及周细胞死亡,新生大量无细胞结构的毛细血管,最后闭塞。另一方面,ALR过度利用NADPH,限制了一氧化氮合酶和谷胱甘肽过氧化物酶,导致抗氧化作用减弱,促进DR的发生发展^[14]。并且KUMAR等^[15]发现使用ALR抑制剂作用于DR大鼠后可显著延缓DR的发展。

人类的ALR基因全长约18 kb,含10个外显子和9个内含子,该基因定位于7号染色体q35,是目前最受重视的DR候选基因之一。各学者对ALR的研究从未停滞,研究最多的是(CA)n和-106C/T两种多态性与DR危险性的关联,但是分析结果却并不完全一致。KO等^[16]首先提出了在ALR基因启动子序列中(CA)n二核苷酸重复多态性,其中在Z-2等位基因多次被发现与DR易感性增加有关系^[17-19]。天津医科大学2014年的一项实验提示AR基因启动子-106C/T多态性与DR发病有关,携带T等位基因和CT/TT基因型的2型糖尿病患者发生DR的危险性降低^[20]。REZAEI等^[21]最近的一项对于伊朗人做的相似研究也得出ALR基因中-106C/T多态性可能是DR的危险因素。但是,最近一项包括351例DR患者和4319例糖尿病无DR患者的Meta分析却指出ALR基因-106C/T多态性在2型糖尿病患者中与DR危险性无关,在1型糖尿病患者中可能是DR的易发因素^[22]。

4 晚期糖基化终产物受体基因

蛋白质和脂肪长期暴露在高血糖环境中的,最终导致这些大分子的非酶糖基化产生了晚期糖基化终末产物(advanced glycation end products, AGEs),大量AGEs的积累通过直接损伤组织和激活晚期糖基化终末产物受体(receptor for advanced glycation end products, RAGE)导致氧自由基的含量升高、组织缺氧、血管病变等一系列病理生理变化,最终加快糖尿病并发症的发生^[23-24]。MCVICAR等^[25]在野生型糖尿病大鼠视网膜中发现RAGE早期表达较高,RAGE阴性糖尿病大鼠可以避免很多视网膜病变,RAGE抑制剂可能成为预防DR的一项有效治疗药物。

RAGE属于免疫球蛋白超家族,其编码基因定位于6号染色体p21.3,包含1个长约117 kb的5'侧域和11个外显子。在RAMPRASAD等^[26]对印度南部190位DR患者、189例无DR的2型糖尿病患者以及149例正常糖耐量受试者进行RAGE等位基因-374T/A、-429T/C多态性分析,发现位于RAGE基因的-374T/A位点的多态性与DR有关联,而-429T/C与DR并无多大关系。但是在另一项对马来西亚2型糖尿病患者的分析中,RAGE启动子区域的这两个位点多态性与DR均无明显关联^[27],而2013年一项对于RAGE基因多态性的研究包括

2184A/G、1704G/T、G82S 以及 429T/C,其系统树图显示 2184A/G 和 1704G/T 多态性表现出一种温和适度的协同作用,但并没发现这两种多态性与 DR 的关联,而 G82S 多态性与 DR 危险因素有显著关联,SS 型在 DR 患者中出现频率更高,并且血清 RAGE 含量也更高^[28]。这些研究结果的差异可能是因为存在种族或地域差异,具体原因还有待进一步研究。

5 其他相关基因

上述四个基因多态性是目前报道过的与 DR 相关性最大的也是目前研究最多的基因。除此之外,还有一些基因也或多或少被报道过,包括维生素 D 受体基因、一氧化氮合酶基因、白细胞介素基因、转化生长因子基因、亚甲基四氢叶酸还原酶基因、葡萄糖转运蛋白 1 基因、纤溶酶原激活物抑制物-1 基因、载脂蛋白基因、色素上皮衍生因子基因、细胞黏附因子基因等,但是由于样本数据太少或者技术上的缺陷,这些基因的研究成果未能得到重复验证。

近年来,糖尿病患病率越来越高,其所带来的并发症发病率也越来越高。其中 DR 是糖尿病非常常见的微血管并发症,DR 一旦发病,对视力造成不可逆损害,目前已有的治疗方案及技术只能对症治疗,控制其进展,因此,研究 DR 发病机制及影响因素对于控制其发生发展意义重大。通过众多学者及临床医师多年的研究,我们可以确定 DR 发生发展受环境和基因共同影响,前者包括高血糖、高血脂、高血压、肥胖等危险因素,控制好这些危险因素在很大程度上能减少 DR 发病率及进展速度。

然而,如果能将 DR 易感基因研究透彻,便能从根源上解决 DR 发病问题甚至可以预防 DR,目前,对 DR 的相关基因研究已经取得了很大的进展,同一基因多态性在不同个体间的表达差异与 DR 发生发展有密切关系,目前发现较多的是由于启动区域或者翻译区域的突变最终引起转录或翻译产物改变引起一系列病理生理变化。很多基因的多态性已经得到了重复验证,已有很多易感基因被确认为 DR 的危险因素。同时,DR 易感基因及其多态性的研究一直面临着巨大的挑战,可能是受种族或者研究环境、技术的影响,很多研究结果不尽相同甚至互相矛盾,尚需大量实验重复验证各基因多态性与 DR 的联系,相信对 DR 相关基因的研究会更深入、更彻底,在不久的将来对于 DR 的预防、筛查及治疗也会取得巨大的成就。

参考文献

[1] HIETALA K, FORSBLOM C, SUMMANEN P, GROOP PH; Finn Diane Study Group. Heritability of proliferative diabetic retinopathy[J]. *Diabetes*, 2008, 57(8): 2176-2180.
[2] ZHANG X, SAADDINE JB, CHOU CF, COTCH MF, CHENG

YJ, GEISS LS, *et al.* Prevalence of diabetic retinopathy in the United States 2005 -2008[J]. *JAMA*, 2010, 304(6): 649-656.
[3] CHOUDHURI S, CHOWDHURY IH, DAS S, DUTTA D, SAHA A, SARHAR R, *et al.* Role of NF- κ B activation and VEGF gene polymorphisms in VEGF upregulation in non-proliferative and proliferative diabetic retinopathy[J]. *Mol Cell Biochem*, 2015, 405(1-2): 265-279.
[4] WANG J, CHEN S, JIANG F, YOU C, MAO C, YU J, *et al.* Vitreous and plasma VEGF levels as predictive factors in the progression of proliferative diabetic retinopathy after vitrectomy[J]. *PLoS One*, 2014, 9(10): e110531.
[5] AWATA T, INOUE K, KURIHARA S, OHKUBO T, WATANABE M, INUKAI K, *et al.* A common polymorphism in the 5' untranslated region of the VEGF gene is associated with diabetic retinopathy in type 2 diabetes[J]. *Diabetes*, 2002, 51(5): 1635-1639.
[6] CHURCHILL AJ, CARTER JG, RAMSDEN C, TURNER SJ, YEUNG A, BRENCHELEY PE, *et al.* VEGF polymorphisms are associated with severity of diabetic retinopathy[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2008, 49(8): 3611-3616.
[7] YANG X, DENG Y, GU H, LIM A, ALTANKHUYAG A, JIA W, *et al.* Polymorphisms in the vascular endothelial growth factor gene and the risk of diabetic retinopathy in Chinese patients with type 2 diabetes[J]. *Mol Vis*, 2011, 17: 3088-3096.
[8] YANG XF, DENG Y, GU H, REN X, LI N, LI MA, *et al.* Candidate gene association study for diabetic retinopathy in Chinese patients with type 2 diabetes[J]. *Mol Vis*, 2014, 20: 200-214.
[9] 郭露, 吕红彬. 亚洲及欧洲人群血管内皮生长因子基因多态性与糖尿病视网膜病变的相关性 meta 分析[J]. *中华眼底病学杂志*, 2015, 31(2): 173-178.
[10] ZHANG Y, SONG D, ZHANG G. Study on vascular endothelial growth factor and its receptor in the vitreous of diabetic rats[J]. *West Indian Med J*, 2013, 62(9): 799-802.
[11] WITMER AN, BLAAUWGEERS HG, WEICH HA, ALITALO K, VRENSSEN GF, SCHLINGEMANN RO. Altered expression patterns of VEGF receptors in human diabetic retina and in experimental VEGF-induced retinopathy in monkey[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2002, 43(3): 849-857.
[12] 刘继彦, 魏于全. 血管内皮生长因子受体 2 的结构功能与信号转导[J]. *中国病理生理杂志*, 2004, 20(7): 1309-1313.
[13] 左玲, 栾永昕, 裴颖, 隋桂芹, 苏冠方. 血管内皮生长因子受体 KDR 基因胞外段 1-3 基因转染抑制氧诱导小鼠视网膜新生血管的研究[J]. *中华眼科杂志*, 2011, 47(5): 398-403.
[14] 孙丹. 多元醇通路导致糖尿病视网膜病变的研究[J]. *中国眼耳鼻喉杂志*, 2013, 3(2): 101-103.
[15] KUMAR MP, SANKESHI V, NAIK RR, THIRUPATHI P, DAS B, RAJU TN. The inhibitory effect of Isoflavones isolated from *Caesalpinia pulcherrima* on aldose reductase in STZ induced diabetic rats[J]. *Chem Biol Interact*, 2015, 237(1): 18-24.
[16] KO BC, LAM KS, WAT NM, CHUNG SS. An(A-C)n dinucleotide repeat polymorphic marker at the 5' end of the aldose reductase gene is associated with early-onset diabetic retinopathy in NIDDM patients[J]. *Diabetes*, 1995, 44(7): 727-732.
[17] ABHARY S, HEWITT AW, BURDON KP, CRAIG JE. A systematic meta- analysis of genetic association studies for diabetic retinopathy[J]. *Diabetes*, 2009, 58(9): 2137-2147.
[18] WANG Y, NG MC, LEE SC, SO WY, TONG PC, COCKRAM CS, *et al.* Phenotypic heterogeneity and associations of two aldose reductase gene polymorphisms with nephropathy and retinopathy in type 2 diabetes[J]. *Diabetes Care*, 2003, 26(8): 2410-2415.
[19] ABHARY S, BURDON KP, LAURIE KJ, THORPE S, LANDERS J, GOOLD L, *et al.* Aldose reductase gene polymorphisms and diabetic retinopathy susceptibility[J]. *Diabetes Care*, 2010, 33(8): 1834-1836.
[20] 任琨, 赵莉莉, 张莹, 师莹, 毛用敏, 齐秀英. 醛糖还原酶基因多态性与 2 型糖尿病视网膜病变的关系[J]. *山东医药*, 2014, 54(30): 20-22.
[21] REZAEI MR, AMIRI AA, HASHEMI-SOTEH MB, DANESHVAR F, EMADY- JAMALI R, JAFARI R, *et al.* Aldose reductase C-106T gene polymorphism in type 2 diabetics with microangiopathy in Iranian individuals[J]. *Indian J Endocrinol Metab*, 2015, 19(1): 95-99.

引文格式:刘子扬,叶俊杰. 息肉状脉络膜血管病变并发玻璃体积血的机制研究[J]. 眼科新进展,2016,36(2):193-196. doi:10.13389/j.cnki.rao.2016.0053

【文献综述】

息肉状脉络膜血管病变并发玻璃体积血的机制研究

刘子扬 叶俊杰

作者简介:刘子扬,女,1990年2月出生,河南新乡人,在读硕士研究生。联系电话:13552577907; E-mail:ceoliuzy@163.com

About LIU Zi-Yang: Female, born in February, 1990. Postgraduate student. Tel: 13552577907; E-mail: ceoliuzy@163.com

收稿日期:2015-09-17
修回日期:2015-11-08
本文编辑:盛丽娜
作者单位:100730 北京市,中国医学科学院 北京协和医学院 北京协和医院眼科
通讯作者:叶俊杰, E-mail: yejunjie@hotmail.com

Received date: Sep 17, 2015
Accepted date: Nov 8, 2015
From the Department of Ophthalmology, Peking Union Hospital, Peking Union Medical College, Chinese Academy of Medical Science, Beijing 100730, China
Responsible author: YE Jun-Jie, E-mail: yejunjie@hotmail.com

Research on mechanism of polypoidal choroidal vasculopathy combined with vitreous hemorrhage

LIU Zi-Yang, YE Jun-Jie

【Key words】 polypoidal choroidal vasculopathy; vitreous hemorrhage; fundus fluorescein angiography; indocyanine green angiography

【Abstract】 Polypoidal choroidal vasculopathy (PCV) is a multiple disease of recurrent serous retinal neuroepithelial and pigment epithelial detachment with polypoid choroidal vascular abnormalities. PCV includes the exudative PCV and hemorrhagic PCV, and the hemorrhagic PCV is often combined with vitreous hemorrhage. Recent years, with indocyanine green angiography (ICGA) technology widely used in the fields of ophthalmology, the studies on this disease gradually deepen at home and abroad. Based on the recent progress of research on PCV combined with vitreous hemorrhage, this article reviews the epidemiology, pathogenesis, diagnosis, and changes of fundus fluorescein angiography and ICGA after vitrectomy.

【关键词】 息肉状脉络膜血管病变; 玻璃体积血; 眼底荧光素血管造影; 吲哚青绿血管造影

【摘要】 息肉状脉络膜血管病变(polypoidal choroidal vasculopathy, PCV)曾被称为“特发性息肉状脉络膜血管病变”,是一种多发的反复发作性浆液性视网膜神经上皮和色素上皮脱离伴脉络膜息肉样血管异常。PCV被分为两型:渗出型和出血型,其中出血型容易发生玻璃体积血。近年来,随着吲哚青绿血管造影与光学相干断层扫描技术在眼科的普遍应用,国内外对该病的研究逐渐深入。本文结合国内外研究的最新进展,对PCV合并玻璃体积血的流行病学、发病机制、诊断以及经玻璃体切除术后眼底、眼底荧光素血管造影及吲哚青绿血管造影的改变进行了综述。

自1982年在迈阿密召开的美国黄斑学会的会议上首次提出“特发性息肉状脉络膜血管病变”(idiopathic polypoidal choroidal vasculopathy, IPCV)以来,越来越多的学者对这一疾病展开研究^[1]。早期IPCV是根据临床以及荧光素血管造影的特征定义的,即膨大的分枝状内层脉络膜血管和末端橘红色动脉瘤样(息肉样)的特征性脉络膜血管异常。当时认为这是一种由息肉样脉络膜血管异常的渗出和出血引起的多发性反复发作的浆液性视网膜神经上皮和色素上皮脱离^[2]。后来,YANNUZZI等^[3-4]舍去了“特发性(idiopathic)”一词,引入“息肉状脉络膜血管病变(polypoidal choroidal vasculopathy, PCV)”这一术语并沿用至今。随着吲哚青绿血管造影(indocyanine green angiography, ICGA)的出现和临床应用,优化了脉络膜血管循环成像^[5-6],进而对PCV这一特殊形式的脉络膜血管病变的病理、自然病程、临

[22] ZHOU M, ZHANG P, XU X, SUN X. The relationship between aldose reductase C106T polymorphism and diabetic retinopathy: An updated meta-analysis [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2015, 56(4): 2279-2289.

[23] STITT AW. The role of advanced glycation in the pathogenesis of diabetic retinopathy [J]. *Exp Mol Pathol*, 2003, 75(1): 95-108.

[24] GOLDIN A, BECKMAN JA, SCHMIDT AM, CREAGER MA. Advanced glycation end products: sparking the development of diabetic vascular injury [J]. *Circulation*, 2006, 114(6): 597-605.

[25] MCVICAR CM, WARD M, COLHOUN LM, GUDURIC-FUCHS J, BIERHAUS FLEMING T. Role of the receptor for advanced glycation end products (RAGE) in retinal vasodegenerative pathology during diabetes in mice [J]. *Diabetologia*, 2015, 58(5): 1129-1137.

[26] RAMPRASAD S, RADHA V, MATHIAS RA, MAJUMDER PP, RAO MR, REMA M. Rage gene promoter polymorphisms and diabetic retinopathy in a clinic-based population from South India [J]. *Eye*, 2007, 21(3): 395-401.

[27] NG ZX, KUPPUSAMY UR, TAJUNISAH I, FONG KC, CHUA KH. Association analysis of -429T/C and -374T/A polymorphisms of receptor of advanced glycation end products (RAGE) gene in Malaysian with type 2 diabetic retinopathy [J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2012, 95(3): 372-377.

[28] YANG L, WU Q, LI Y, FAN X, HAO Y, SUN H, et al. Association of the receptor for advanced glycation end products gene polymorphism and circulating RAGE levels with diabetic retinopathy in the Chinese population [J]. *J Diabetes Res*, 2013, 2013: 264579.