

Научная статья

<https://doi.org/10.36233/0372-9311-221>

Роль полиморфизма гена *eNOS* в иммунопатогенезе первичной открытоугольной глаукомы

Свитич О.А.^{1,2}, Кинкулькина А.Р.^{1,2✉}, Авагян А.С.^{1,2}, Гаврилова Т.В.³

¹Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва, Россия;

²Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова, Москва, Россия;

³Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера, Пермь, Россия

Аннотация

Введение. Патологии органа зрения (кератиты, глаукома и др.) занимают ведущее место среди причин снижения зрения и слепоты. По данным литературы, иммунопатогенез бактериальных кератитов связан с активацией макрофагов и кислородным взрывом. Не до конца понятна роль этих механизмов в патогенезе первичной открытоугольной глаукомы. Есть единичные работы, в которых связывают развитие этой патологии с оксидом азота NO, который продуцируется эндотелиальной NO-синтазой (*eNOS*). Однако, несмотря на многочисленные исследования, роль иммуногенетических в патогенезе глаукомы остаются недостаточно исследованными.

Цель работы — изучение роли полиморфных маркеров *T786C*, *C774T*, *Glu298Asp* гена *eNOS* при развитии ПОУГ у жителей Пермского края.

Материалы и методы. В качестве материала была использована периферическая кровь 93 пациентов с ПОУГ и 96 пациентов с катарактой. Сначала выделяли ДНК, затем проводили полимеразную цепную реакцию в режиме реального времени. Частоту встречаемости аллелей и генотипов в исследуемых группах рассчитывали при помощи критерия χ^2 и точного критерия Фишера. Статистически значимыми были приняты результаты с $p < 0,05$. Для количественной оценки связи между возникновением ПОУГ у пациентов и носительством неблагоприятного полиморфного маркера были рассчитаны отношение шансов и 95% доверительный интервал.

Результаты. Среди маркеров *C774T* и *Glu298Asp* не выявлено достоверных различий в распределении генотипов и аллелей гена *eNOS*. Установлены повышение частоты встречаемости гомозиготного генотипа *TT*; снижение встречаемости аллеля *C* по полиморфному локусу *T786C* гена *eNOS* у пациентов с ПОУГ.

Выводы. Полиморфные маркеры гена *eNOS* могут рассматриваться как факторы, влияющие на вероятность возникновения ПОУГ.

Ключевые слова: эндотелиальная дисфункция, иммунная привилегированность, полиморфные маркеры, эндотелиальная NO-синтаза, первичная открытоугольная глаукома, бактериальные кератиты

Этическое утверждение. Исследование проводилось при добровольном информированном согласии пациентов. Протокол исследования одобрен Этическим комитетом ПМГМУ им. И.М. Сеченова (протокол № 17-19 от 11.12.2019).

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Для цитирования: Свитич О.А., Кинкулькина А.Р., Авагян А.С., Гаврилова Т.В. Роль полиморфизма гена *eNOS* в иммунопатогенезе первичной открытоугольной глаукомы. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2022;99(1):54–62.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-221>

The role of eNOS gene polymorphisms in immunopathogenesis of primary open-angle glaucoma

Oksana A. Svitich^{1,2}, Aliya R. Kinkulkina^{1,2✉}, Hasmik S. Avagyan^{1,2}, Tatiana V. Gavrilova³

¹Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia;

²I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russia;

³Academician E.A. Vagner Perm State Medical University, Perm, Russia

Abstract

Introduction. Pathologies of the visual organ (keratitis, glaucoma, etc.) occupy a leading place among the causes of vision loss and blindness. According to the literature, the immunopathogenesis of bacterial keratitis is associated with the activation of macrophages and oxygen explosion. The role of these mechanisms in the pathogenesis of primary open-angle glaucoma is not fully understood. There are isolated studies in which the development of this pathology is associated with nitric oxide NO, which is produced by endothelial NO synthase (nos). However, despite numerous studies, the role of immunogenetics in the pathogenesis of glaucoma remains insufficiently researched.

The **aim** of the study is to explore the association of T786C, C774T, Glu298Asp polymorphic markers of the eNOS gene with development of POAG in residents of the Perm Territory.

Materials and methods. The study was performed using peripheral blood collected from 93 patients with POAG and 96 patients with cataracts. The real-time polymerase chain reaction was performed after the DNA extraction. The frequencies of alleles and genotypes in the study groups were measured using the chi-square (χ^2) test and Fisher's exact test. Results with $p < 0.05$ were seen as statistically significant. The calculated odds ratio and the 95% confidence interval were used to quantify the association between POAG development in patients and the existence of an unfavorable polymorphic marker.

Results. The C774T and Glu298Asp markers did not show any significant differences in the distribution of genotypes and alleles of the eNOS gene. Higher frequencies of the homozygous TT genotype; and lower frequencies of the C allele of T786C polymorphic locus of eNOS gene were detected in patients with POAG.

Conclusion. Polymorphic markers of the eNOS gene can be seen as factors associated with the risk of POAG.

Keywords: endothelial dysfunction, immune privilege, polymorphic markers, endothelial NO synthase, primary open-angle glaucoma

Ethics approval. The study was conducted with the informed consent of the patients. The research protocol was approved by the Ethics Committee of the Sechenov First Moscow State Medical University (Protocol 17-19, December 11, 2019).

Funding source. This study was not supported by any external sources of funding.

Conflict of interest. The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

For citation: Svitich O.A., Kinkulkina A.R., Avagyan A.S., Gavrilova T.V. The role of eNOS gene polymorphisms in immunopathogenesis of primary open-angle glaucoma. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology = Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2022;99(1):54–62.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-221>

Введение

Глаз обладает системой местного иммунитета, которая обеспечивается несколькими феноменами «иммунной привилегированности»: иммунное отклонение, связанное с передней камерой (anterior chamber associated immune deviation — ACAID) или с задней камерой, феномен субретинального пространства. Наиболее изучен феномен ACAID [1].

Антигенные материалы в передней камере глаза генерируют системный иммунный ответ, который сохраняет первичные клонально расширенные цитотоксические предшественники Т-клеток и В-клетки, секретирующие большие концентрации IgG₁, который является антителом, не фиксиру-

ющим комплемент. С другой стороны, ACAID ингибирует CD4⁺ Th1- и Th2-клетки и В-клетки, секретирующие антитела, фиксирующие комплемент [2].

Антигены из передней камеры глаза, попав в селезёнку, приобретают три типа антигенспецифических Treg, которые опосредуют ACAID. Одна из этих популяций состоит из CD4⁺-Т-клеток, которые известны как афферентные регуляторы. CD4⁺-Т-клетки способны подавлять начальную активацию и дифференцировку наивных Т-клеток в эффекторные клетки Th1. Вторая популяция состоит из CD8⁺-Т-клеток, которые известны как эфферентные регуляторы. CD8⁺-Т-клетки снижают экспрессию Th1-иммунных реакций, при этом тормозят разви-

тие замедленной гиперчувствительности. Третья популяция состоит из CD8⁺-Т-клеток, которые препятствуют В-клеткам переключаться на изотип IgG. Эфферентные CD8⁺-Tregs в AСAID действуют на периферии, в том числе в глазу, тогда как афферентные CD4⁺-Tregs действуют во вторичных лимфоидных органах. В AСAID антигенпрезентирующие клетки индуцируют экспансию толерогенных В-клеток, чтобы индуцировать антигенспецифичные Treg и инвариантные естественные Т-клетки-киллеры, которые дополнительно необходимы для генерации AСAID [2, 3].

Появляется всё больше доказательств того, что резидентные клетки глаза, которые включают эндотелиальные клетки роговицы (СЕ-клетки) и клетки пигментного эпителия глаза (РЕ-клетки), могут способствовать развитию и поддержанию иммуносупрессивного внутриглазного микроокружения посредством генерации Treg. В дополнение к глазным РЕ-клеткам глаз содержит резидентные популяции миелоидных клеток, таких как макрофаги и микроглиальные клетки. Однако большинство макрофагов ограничено роговицей и увеальным трактом, где они отвечают за поддержание гомеостаза путём удаления мусора и мёртвых клеток [2]. Микроглиальные клетки также играют важную роль в развитии/гомеостазе сетчатки и могут опосредовать местные нейровоспалительные реакции [4].

Treg, индуцируемые РЕ-клетками глаза, которые конститутивно экспрессируют фактор транскрипции Foxp3, необходимы для иммунной толерантности и гомеостаза, поскольку они подавляют чрезмерные иммунные реакции. Таким образом, Foxp3⁺-Tregs, а также Tregs, участвующие в AСAID, считаются ключевыми регуляторами иммунной привилегированности глаза [5].

СЕ-клетки являются частью внутренней поверхности передней камеры глаза и вступают в контакт с водянистой влагой. СЕ-клетки человека способны к местной иммунной толерантности в человеческом глазу, поскольку активированные Т-клетки, подвергшиеся воздействию СЕ-клеток, не приобретают эффекторную функцию Т-клеток [3]. Кроме того, известно, что СЕ-клетки конститутивно экспрессируют различные иммуномодулирующие молекулы, такие как Fas-лиганд, лиганд 1 программируемой смерти (PD-L1/CD274) и лиганд белка, связанный с рецептором фактора некроза опухоли, индуцированный глюкокортикоидами, что приводит к апоптозу эффекторных Т-клеток [2, 6].

Совокупность перечисленных механизмов позволяет органу зрения противостоять подавляющему большинству тканеспецифических антител, способных вызвать «на себя» иммунные реакции аутоагрессии и привести к потере зрения [7]. Нарушение баланса иммунологических факторов в глазу может привести к развитию различной патологии

этого органа, в том числе глаукомебактериальном кератите, катаракте [1].

Бактериальный кератит — острое воспаление роговой оболочки глаза бактериального генеза. Клинически проявляется острой болью в глазу, отёком, корнеальным синдромом, выраженной воспалительной инъекцией глазного яблока, наличием слизисто-гнойных выделений и др. Одним из основных механизмов борьбы макроорганизма с бактериальной инфекцией является активация кислородного взрыва. При бактериальном кератите данный механизм активируется и в итоге защищает орган зрения от распространения инфекции. При других офтальмопатологиях механизмы кислородного взрыва изучены недостаточно, особенно в аспекте предрасположенности (иммуногенетические маркеры). В настоящей работе будет акцентирована роль этих механизмов в патогенезе глаукомы. Являясь одним из наиболее распространённых заболеваний глаза, глаукома имеет высокую медико-социальную значимость, нередко приводит к слепоте и слабовидению и лидирует среди причин инвалидности вследствие офтальмопатологии. В России насчитывается около 1,3 млн больных глаукомой [9, 10].

В настоящее время выделяют основные теории развития ПОУГ:

- сосудистая дисфункция (дисрегуляция), приводящая к ишемии диска зрительного нерва [11];
- механическое поражение решетчатой мембраны склеры;
- компрессия аксонов зрительного нерва [12].

Важными факторами развития и прогрессирования глаукомы являются недостаточное кровоснабжение сетчатки и зрительного нерва вследствие нарушения глазного кровотока [4]. Многие авторы отмечают ухудшение показателей артериального кровотока, при этом роль венозного орбитального кровотока в развитии глаукомной оптической нейропатии отражена в единичных работах [11]. Изменения внутрисосудистой микроциркуляции развиваются на фоне нарушения функционирования системы гемостаза, в частности, патологии сосудисто-тромбоцитарного, или первичного, гемостаза [13]. Одной из причин нарушения регионарного кровообращения и микроциркуляции является дисфункция эндотелия, которая может приводить к вазоспазму, усиленному тромбообразованию и усиленной адгезии лейкоцитов к эндотелию [11]. Сосудистый эндотелий играет ключевую роль в регуляции тонуса сосудов сетчатки, зрительного нерва и хориоидеи [14–16].

Оксид азота (NO) играет ключевую роль в регуляции сосудистого гомеостаза и участвует в различных физиологических процессах. Известно, что NO выполняет защитную функцию при повреждении тканей или гибели клеток, вызванном

окислительным стрессом [17]. Прогрессирование глаукомы ассоциируется с изменением синтеза NO. В результате постоянного воздействия окислительного стресса, приводящего к недостаточности NO, запускается каскад патологических процессов [18]. Во многих исследованиях сообщается о связи между полиморфизмами гена *eNOS* и риском развития ПОУГ [11, 19, 20]. Среди нуклеотидных полиморфизмов, зарегистрированных в локусе *NOS3*, особенно значимыми являются *rs2070744*, вариант промотора *TC (T786C)* и *rs1799983*, вариант *GT (G894T)* в кодоне 298 в экзоне 7 (*Glu298Asp*). Недавний метаанализ также показал, что полиморфизмы *rs1799983* и *rs2070744* в *NOS3* играют значительную роль в модуляции риска ПОУГ [19]. Однако функциональная роль *rs1799983 (Glu298Asp)* является спорной. Существуют исследования *in vivo* и *in vitro*, которые предоставили противоположные доказательства того, что *Glu298Asp* не влияет на биологическую активность или функцию *eNOS*. Также сообщается об отрицательной ассоциации полиморфизмов в *TMTC2 (rs7961953)* [20], *PLXDC2 (rs7081455)* [21], *ATOH7 (rs7916697)* [22] и в локусе *1q43* [23].

Для оценки состояния эндотелия у пациентов с глаукомой проводилось исследование уровня циркулирующих эндотелиальных клеток-предшественников, показавшее его снижение у пациентов с ПОУГ, и предполагается его взаимосвязь с изменением глазной гемоперфузии [18]. Одним из наиболее информативных методов диагностики эндотелиальной дисфункции является исследование интегрального маркера эндотелиальной дисфункции — фактора Виллебранда. В работе P.L. Lip и соавт. выявлено повышение уровня фактора Виллебранда при глаукоме [24]. Однако, исходя из данных литературы, взаимосвязь изменений сосудистого эндотелия с риском развития глаукомной оптической нейропатии всё ещё недостаточно изучена [15].

Целью настоящего исследования стало изучение ассоциации полиморфных маркеров *T786C (rs2070744)*, *C774T (rs1549758)*, *Glu 298 Asp (rs1799983)* гена *eNOS*, а также их гаплотипов с риском развития ПОУГ у жителей Пермского края.

Материалы и методы

Для изучения роли полиморфных маркеров в гене *eNOS* были изучены данные 188 пациентов в возрасте 39–89 лет. В основную группу были включены 90 человек, у которых была диагностирована ПОУГ. При этом у 67 (74%) человек в качестве сопутствующей патологии диагностирована гипертоническая болезнь. В группу сравнения включены 98 человек, у которых была диагностирована возрастная катаракта различной степени зрелости, при этом гипертоническая болезнь в качестве сопутствующей патологии была у 54 (55%)

человек. Все пациенты — жители Пермского края, проходившие лечение в Центре микрохирургии глаза Пермской краевой клинической больницы по поводу катаракты или глаукомы. При поступлении на стационарное обследование и лечение всем больным разъяснялась суть проводимого исследования, ими подписывалось добровольное согласие на участие в нём. Протокол исследования одобрен Этическим комитетом ПМГМУ им. И.М. Сеченова (протокол № 17-19 от 11.12.2019).

В качестве материала для исследования использовалась периферическая кровь, из которой выделялась ДНК с помощью набора «К-СОРБ» («Синтол»), согласно протоколу, затем проводили полимеразную цепную реакцию в режиме реального времени с использованием наборов для определения полиморфных маркеров *T786C*, *C774T*, *Glu298Asp* в гене *eNOS* («Синтол»).

Статистический анализ проводился с использованием статистического пакета для социальных наук SPSS («IBM»), а также «StatTech v.2.4.1» («Статтех»). Количественные показатели оценивали на предмет соответствия нормальному распределению с помощью критерия Шапиро–Уилка (при числе исследуемых менее 50) или критерия Колмогорова–Смирнова (при числе исследуемых более 50). В случае отсутствия нормального распределения количественные данные описывали с помощью медианы (Me) и нижнего и верхнего квартилей (Q_1 – Q_3). Категориальные данные описывали с указанием абсолютных значений и процентных долей. Сравнение процентных долей при анализе четырехпольных таблиц сопряженности выполняли с помощью критерия χ^2 Пирсона (при значениях ожидаемого явления более 10). При оценке результатов статистически значимыми считали результаты при $p < 0,05$. Результаты описаны с помощью отношения шансов (ОШ) и 95% доверительного интервала для ОШ (ДИ). ОШ, равное 1, показывает равенство сравниваемых шансов. Если ДИ ОШ включает единицу, то отсутствует статистически значимая связь между генотипом и наличием глаукомы у пациента. Для анализа совместного действия генотипов на наличие глаукомы использовали байесовский подход к построению логистической регрессии.

Построение прогностической модели вероятности определённого исхода выполняли при помощи метода логистической регрессии. Мерой определённости, указывающей на ту часть дисперсии, которая может быть объяснена с помощью логистической регрессии, служил коэффициент R^2 Найджелкерка.

Для оценки диагностической значимости количественных признаков при прогнозировании определённого исхода применяли метод анализа ROC-кривых. Разделяющее значение количественного признака в точке cut-off определяли по наивысшему значению индекса Юдена.

Результаты

В основной группе средний возраст пациентов составил 71 ± 7 лет, по полу пациенты были распределены равномерно. В группе сравнения средний возраст составил 69 ± 9 лет, пациенты женского пола составили 58%, мужского — 42%. Статистически значимые различия по возрасту и по соотношению полов между основной группой и группой сравнения не выявлены ($p = 0,36$ и $p = 0,42$ соответственно).

При исследовании частоты встречаемости аллелей гена *eNOS* по полиморфному локусу *T786C* установлены процентные доли аллелей: в основной группе для аллеля *T* — 67,5%, для аллеля *C* — 32,5%; в группе сравнения для аллеля *T* — 43,31%, для аллеля *C* — 31,5%.

При анализе распределения аллелей по полиморфному локусу *T786C* гена *eNOS* в группе пациентов с ПОУГ выявлено увеличение частоты встречаемости аллеля *T* в 1,558 раза, различия шансов не были статистически значимыми (95% ДИ 0,649–3,744; $p = 0,319$, критерий χ^2 Пирсона). По аллелю *C* гена *eNOS* отмечено снижение встречаемости в 2,329 раза в основной группе, различия шансов были статистически значимыми (ОШ = 0,429; 95% ДИ 0,234–0,786; $p = 0,006$, критерий χ^2 Пирсона). Распределение долей аллелей *T* и *C* гена *eNOS* для основной группы и для группы сравнения представлено в **табл. 1**.

При анализе распределения генотипов по полиморфному локусу *T786C* гена *eNOS* выявлено, что доля гомозигот по аллелю *T* в основной группе была выше в 2,125 раза по сравнению с группой сравнения, различия шансов были статистически значимыми (95% ДИ 1,185–3,810; $p = 0,013$). Частота встречаемости гомозиготы по аллелю *C* и гетерозиготы *TC* в основной группе была ниже в 1,580 и в 1,763 раза по сравнению с группой контроля, различия шансов не были статистически значимыми (для гомозиготы по аллелю *C*: ОШ = 0,633; 95% ДИ 0,271–1,478; $p = 0,288$; для гетерозиготы *TC*: ОШ = 0,567; 95% ДИ 0,311–1,033; $p = 0,063$).

При исследовании распределения аллеля *T* по полиморфному локусу *C774T* гена *eNOS* в группе пациентов с глаукомой наблюдалось снижение встречаемости в 1,067 раза по сравнению с группой сравнения, различия шансов не были статистически значимыми (ОШ = 0,937; 95% ДИ 0,325–2,707).

При исследовании распределения аллеля *C* по полиморфному локусу *C774T* гена *eNOS* в группе пациентов с глаукомой наблюдалось снижение встречаемости в 1,186 раза относительно группы сравнения, различия шансов не были статистически значимыми (ОШ = 0,843; 95% ДИ 0,466–1,525).

При исследовании распределения генотипов по полиморфному локусу *C774T* гена *eNOS* среди пациентов с ПОУГ встречаемость по гомозиготному генотипу *TT* была выше в 1,329 раза относительно группы сравнения, различия шансов не были статистически значимыми (95% ДИ 0,733–2,409). Частота встречаемости генотипов *CC*, *TC* была ниже в 1,067 и 1,290 раза соответственно. При сопоставлении данных показателей различия шансов не были статистически значимыми: ОШ = 0,938; 95% ДИ 0,333–2,640 и ОШ = 0,775; 95% ДИ 0,421–1,426.

При исследовании распределения аллелей *Glu298Asp* частота встречаемости аллеля *T* была выше в 1,211 раза, аллеля *C* — ниже в 1,018 раза по сравнению с группой контроля, различия шансов не были статистически значимыми: 95% ДИ 0,519–2,828; 95% ДИ 0,554–1,745.

При исследовании распределения генотипов по полиморфному локусу *Glu298Asp* гена *eNOS* частота встречаемости генотипов *TT*, *TC* была выше в 1,011 и 1,055 раза соответственно. Частота встречаемости генотипа *CC* была ниже в 1,014 раза по сравнению с группой контроля, различия шансов не были статистически значимыми: 95% ДИ 0,569–1,797; 95% ДИ 0,586–1,898; 95% ДИ 0,412–2,363.

Для выявления влияния взаимодействия генотипов на наличие у пациента ПОУГ рассматривалось попарное влияние генотипов и влияние сразу 3 генотипов на наличие глаукомы. В **табл. 2** представлены p -значения при сравнении шансов для различных комбинаций генотипов относительно референсного генотипа.

В ходе анализа совместного влияния генотипов не было выявлено комбинации генотипов, которые оказывали бы статистически значимое влияние на наличие глаукомы у пациента.

С помощью метода бинарной логистической регрессии нами была построена прогностическая модель, позволяющая определить вероятность выявления ПОУГ в зависимости от различных факторов риска. Факторы для модели отбирали методом

Таблица 1. Распределение долей аллелей *T/C* по полиморфному локусу *T786C* гена *eNOS*

Table 1. Distribution of proportions of *T/C* alleles for *T786C* polymorphic locus of *eNOS* gene

Аллель / Allele	Пациенты с ПОУГ / Patients with POAG		Группа сравнения / Control group		p
	n	%	n	%	
<i>T</i>	71	46,7	81	53,3	0,319
<i>C</i>	32	35,2	59	64,8	0,006

Таблица 2. Совместное влияние генотипов полиморфных маркеров на наличие ПОУГ у пациентов
Table 2. Joint effect of genotypes of polymorphic markers on presence of POAG in patients

Полиморфные маркеры Polymorphic markers	Генотипы полиморфных маркеров Genotypes of polymorphic markers			<i>p</i>	
<i>T786C</i> и <i>C774T</i> гена <i>eNOS</i> <i>T786C</i> and <i>C774T</i> of the <i>eNOS</i> gene	<i>T786C</i>	<i>C774T</i>		Референс-генотип Reference genotype	
	CC	TT			
	TC	TC			0,74
	TT	TC			0,69
	TC	CC			0,39
	TT	CC		0,22	
<i>T786C</i> и <i>Glu298Asp</i> гена <i>eNOS</i> <i>T786C</i> and <i>Glu298Asp</i> of the <i>eNOS</i> gene	<i>T786C</i>	<i>Glu298Asp</i>		Референс-генотип Reference genotype	
	CC	TT			
	TC	TC			0,74
	TT	TC			0,87
	TC	CC			0,75
	TT	CC		0,11	
<i>C774T</i> и <i>Glu298Asp</i> гена <i>eNOS</i> <i>T786C</i> and <i>Glu298Asp</i> of the <i>eNOS</i> gene	<i>C774T</i>	<i>Glu298Asp</i>	<i>Glu298Asp</i>	Референс-генотип Reference genotype	
	CC	TT	TT		
	TC	TC	TC		0,53
	CC	TC	TC		0,35
	TC	CC	CC		0,17
	CC	CC	0,38		
Совместное влияние <i>T786C</i> , <i>C774T</i> , <i>Glu298Asp</i> гена <i>eNOS</i> Joint effect of <i>T786C</i> , <i>C774T</i> , <i>Glu298Asp</i> of the <i>eNOS</i> gene	<i>T786C</i>	<i>C774T</i>	<i>Glu298Asp</i>	Референс-генотип Reference genotype	
	CC	CC	TT		
	TC	TC	TC		0,88
	TT	TC	TC		0,53
	TC	CC	TC		0,67
	TT	CC	TC		0,70
	TC	TC	CC		0,53
	TT	TC	CC		0,24
	TC	CC	CC		0,56
	TT	CC	0,83		

исключения по методу Вальда. Получена регрессионная функция:

$$P = 1 / (1 + e^{-z}) \times 100\%,$$

$$z = -0,312 + 0,201X_T - 0,513X_C + 0,680X_{ГБ},$$

где *P* — вероятность наличия глаукомы; *X_T* — *eNOS T786* (0 — отсутствие гомозиготы по аллелю *T* гена *eNOS*, 1 — наличие гомозиготы по аллелю *T* гена *eNOS*); *X_C* — *eNOS T786C* (0 — отсутствие аллеля *C*, 1 — наличие аллеля *C*), *X_{ГБ}* — ГБ (0 — отсутствие гипертонической болезни, 1 — наличие гипертонической болезни).

Полученная регрессионная модель является статистически значимой (*p* = 0,010). Исходя из значения коэффициента детерминации Найджелкерка, модель объясняет 7,9% наблюдаемой дисперсии глаукомы.

В соответствии с полученными значениями коэффициентов регрессии, наличие таких факторов, как гипертоническая болезнь, гомозигота по аллелю *T* гена *eNOS*, увеличивало вероятность выявления ПОУГ. Наличие аллеля *C T786C* гена *eNOS* снижало вероятность выявления глаукомы. Харак-

Таблица 3. Характеристики связи предикторов модели с вероятностью выявления глаукомы**Table 3.** Characteristics of the association between the model predictors and the probability of glaucoma detection

Предикторы Predictors	Нескорректированные показатели Unadjusted parameters			Скорректированные показатели Adjusted parameters
	ОШ / OR	95% ДИ 95% CI	p^*	ОШ / OR
Гомозигота по аллелю <i>T</i> <i>T786C</i> гена <i>eNOS</i> Homozygote for the allele <i>T</i> <i>T786C</i> of the <i>eNOS</i> gene	2,125	1,185–3,811	0,011	1,223
Аллель <i>C</i> <i>T786C</i> гена <i>eNOS</i> Allele <i>C</i> <i>T786C</i> of the <i>eNOS</i> gene	0,471	0,262–0,844	0,006	0,599
Гипертоническая болезнь Hypertension	2,061	1,137–3,736	0,017	1,975

Примечание. * $p < 0,05$ статистически значима.
Note. * $p < 0.05$ is statistically significant.

теристики отдельных факторов, вошедших в модель, представлены в **табл. 3**.

При оценке зависимости вероятности наличия глаукомы от значения логистической функции P с помощью ROC-анализа площадь под ROC-кривой составила $0,632 \pm 0,041$, 95% ДИ 0,552–0,711. Полученная модель была статистически значимой ($p = 0,001$).

Пороговое значение логистической функции P в точке cut-off, которому соответствовало наивысшее значение индекса Юдена, составило 0,639. Наличие глаукомы прогнозировалось при значении логистической функции P выше данной величины или равном ей. Чувствительность и специфичность модели составили 42,2 и 80,4% соответственно.

Обсуждение

Из данных литературы известно, что эндотелиальная дисфункция участвует в патогенезе нейродегенеративных изменений при ПОУГ [7]. Среди различных популяций проводилось исследование роли полиморфизма гена *eNOS* *rs2077044*, *rs1799983*. Так, среди китайской популяции не выявлено ассоциаций, в то время как европейской популяции у пациентов с мигренью генотип *TT* по полиморфному локусу *T786C* ассоциирован с риском развития глаукомы. В бразильской популяции генотип *rs2070744* ассоциирован с ПОУГ у пациентов женского пола. Среди жителей Саудовской Аравии *rs1799983* (и гаплотип *rs2070744*), ассоциированы с ПОУГ у мужчин [16].

В нашем исследовании установлено, что в группе пациентов с ПОУГ генотип *TT* по полиморфному локусу *T786C* гена *eNOS* ассоциирован с риском развития глаукомы, при этом аллель *C* по полиморфному локусу *T786C* гена *eNOS* выполняет протективную роль. При исследовании совместного влияния генотипов полиморфных маркеров гена *eNOS* на развитие ПОУГ у исследуемых больных статистически значимое влияние не выявлено.

При этом замечено, что гипертоническая болезнь усиливала негативное влияние повышенного внутриглазного давления на глаукомную оптическую нейропатию.

Проведённый А.А. Kondkar и соавт. анализ гаплотипов показал противоречивые результаты, но в большинстве из них *rs2070744* и *rs1799983* в группе пациентов с ПОУГ и в группе контроля не были связаны с риском развития глаукомы, как и в нашем исследовании [16].

Таким образом, генотип *TT* по полиморфному локусу *T786C* гена *eNOS* является прогностическим маркером, повышающим вероятность развития ПОУГ, при этом аллель *C* *T786C* гена *eNOS* выполняет протективную роль при том же заболевании среди жителей Пермского края.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Соломатина М.В., Лихванцева В.Г., Колесникова А.В. Иммунологические аспекты глаукомы. *Практическая медицина*. 2017; (3): 16–21.
2. Hiroshi K.S., Shintaro H.S., Sunao S.S. Immune privilege and eye-derived T-regulatory cells. *J. Immunol. Res.* 2018; 2018: 1679197. <https://doi.org/10.1155/2018/1679197>
3. Chaiwang N.S., Poyomtip T.S. The association of toll-like receptor 4 gene polymorphisms with primary open angle glaucoma susceptibility: a meta-analysis. *Biosci. Rep.* 2019; 39(4): BSR20190029. <https://doi.org/10.1042/BSR20190029>
4. Iglesias A.I., Springelkamp H.S., Ramdas W.D., Klaver C.C., Willemssen R., van Duijn C.M. Pathways, and animal models in primary open-angle glaucoma. *Eye (Lond.)*. 2015; 29(10): 1285–98. <https://doi.org/10.1038/eye.2015.160>
5. Sakaguchi S.S., Yamaguchi T.S., Nomura T.S., Ono M. Regulatory T cells and immune tolerance. *Cell*. 2008; 133(5): 775–87. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2008.05.009>
6. Hsu S.M., Mathew R., Taylor A.W., Stein-Streilein J. Ex-vivo tolerogenic F4/80⁺ antigen-presenting cells (APC) induce effluent CD8⁺ regulatory T cell-dependent suppression of experimental autoimmune uveitis. *Clin. Exp. Immunol.* 2014; 176(1): 37–48. <https://doi.org/10.1111/cei.12243>
7. Williams P.A., Marsh-Armstrong N.S., Howell G.R. Neuroinflammation in glaucoma: A new opportunity. *Exp. Eye Res.* 2017; 157: 20–7. <https://doi.org/10.1016/j.exer.2017.02.014>

8. Егоров Е.А., Астахов Ю.С., Еричев В.П. *Национальное руководство по глаукоме: для практикующих врачей*. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2015.
9. Фурсова А.Ж., Гусаревич О.Г., Тарасова М.С., Васильева М.А., Чубарь Н.В., Литвинова Н.В. Возрастная макулярная дегенерация и глаукома. Эпидемиологические и клинико-генетические аспекты сочетанного течения. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2018; 38(5): 83–91. <https://doi.org/10.15372/SSMJ20180514>
10. Wong W.L., Su X., Li X., Cheung C.M., Klein R., Cheng C.Y., et al. Global prevalence of age-related macular degeneration and disease burden projection for 2020 and 2040: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Glob. Health*. 2014; 2(2): e106–16. [https://doi.org/10.1016/S2214-109X\(13\)70145-1](https://doi.org/10.1016/S2214-109X(13)70145-1)
11. Silva T.M., Rocha A.V., Lacchini R.C., Marques C.R., Silva E.S., Tanus-Santos J.E., et al. Association of polymorphisms of endothelial nitric oxide synthase (eNOS) gene with the risk of primary open angle glaucoma in a Brazilian population. *Gene*. 2012; 502(2): 142–6. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2012.04.047>
12. Evangelho K., Mogilevskaya M., Losada-Barragan M., Vargas-Sanchez J.K. Pathophysiology of primary open-angle glaucoma from a neuroinflammatory and neurotoxicity perspective: a review of the literature. *Int. Ophthalmol.* 2019; 39(1): 259–71. <https://doi.org/10.1007/s10792-017-0795-9>
13. Эрб К. Глаукома и артериальная гипертония. *Российский офтальмологический журнал*. 2016; 9(1): 105–11. <https://doi.org/10.21516/2072-0076-2016-9-1-105-111>
14. Ozkan J.S., Majzoub M.E., Coroneo M.S., Thomas T., Willcox M. Comparative analysis of ocular surface tissue microbiome in human, mouse, rabbit, and guinea pig. *Exp. Eye Res.* 2021; 207: 108609. <https://doi.org/10.1016/j.exer.2021.10860>
15. Weinreb R.N., Khaw P.T. Primary open-angle glaucoma. *Lancet*. 2004; 363(9422): 1711–20. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(04\)16257-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(04)16257-0)
16. Kondkar A.A., Azad T.A., Sultan T., Osman E.A., Almobarak F.A., Al-Obeidan S.A. Association of endothelial nitric oxide synthase (NOS3) gene polymorphisms with primary open-angle glaucoma in a Saudi cohort. *PLoS One*. 2020; 15(1): e0227417. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0227417>
17. Wink D.A., Miranda K.M., Espey M.G., Luta R.M., Hewett S.J., Colton C., et al. Mechanisms of the antioxidant effects of nitric oxide. *Antioxid. Redox Signal.* 2001; 3(2): 203–13. <https://doi.org/10.1089/152308601300185179>
18. Ster A.M., Popp R.A., Petrisor F.M., Stan C., Pop V.I. The role of oxidative stress and vascular insufficiency in primary open angle glaucoma. *Clinul Med.* 2014; 87(3): 143–6. <https://doi.org/10.15386/cjmed-295>
19. Xiang Y., Dong Y., Li X., Tang X. Association of common variants in eNOS gene with primary open angle glaucoma: a meta-analysis. *J. Ophthalmol.* 2016; 2016: 1348347. <https://doi.org/10.1155/2016/1348347>
20. Kondkar A.A., Azad T.A., Almobarak F.A., Abu-Amero K.K., Al-Obeidan S.A. Polymorphism rs7961953 in TMTC2 gene is not associated with primary open-angle glaucoma in a Saudi cohort. *Ophthalmic Genet.* 2019; 40(1): 74–6. <https://doi.org/10.1080/13816810.2019.1576210>
21. Kondkar A.A., Sultan T., Almobarak F.A., Kalantan H., Abu-Amero K.K., Al-Obeidan S.A. Plexin domain containing 2 (PLXDC2) gene polymorphism rs7081455 may not influence POAG risk in a Saudi cohort. *BMC Res. Notes*. 2018; 11(1): 733. <https://doi.org/10.1186/s13104-018-3848-x>
22. Kondkar A.A., Azad T.A., Almobarak F.A., Bahabri I.M., Kalantan H., Abu-Amero K.K., et al. Lack of association between variant rs7916697 in ATOH7 and primary open angle glaucoma in a Saudi cohort. *Genet. Res. Int.* 2018; 2018: 2148056. <https://doi.org/10.1155/2018/2148056>
23. Kondkar A.A., Azad T.A., Sultan T., Al-Mobarak F.A., Kalantan H., Al-Obeidan S.A. Polymorphisms rs693421 and rs2499601 at locus 1q43 and their haplotypes are not associated with primary open-angle glaucoma: a case-control study. *BMC Res. Notes*. 2019; 12(1): 453. <https://doi.org/10.1186/s13104-019-4491-x>
24. Lip P.L., Felmeden D.C., Blann A.D., et al. Plasma vascular endothelial growth factor, soluble VEGF receptor FLT-1, and von Willebrand factor in glaucoma. *Br J Ophthalmol.* 2002; 86(11): 1299–302. <https://doi.org/10.1136/bjo.86.11.1299>

REFERENCES

1. Solomatina M.V., Likhvantseva V.G., Kolesnikova A.V. Immunological aspects of glaucoma. *Prakticheskaya meditsina*. 2017; (3): 16–21. (in Russian)
2. Hiroshi K.S., Shintaro H.S., Sunao S.S. Immune privilege and eye-derived T-regulatory cells. *J. Immunol. Res.* 2018; 2018: 1679197. <https://doi.org/10.1155/2018/1679197>
3. Chaiwang N.S., Poyomtip T.S. The association of toll-like receptor 4 gene polymorphisms with primary open angle glaucoma susceptibility: a meta-analysis. *Biosci. Rep.* 2019; 39(4): BSR20190029. <https://doi.org/10.1042/BSR20190029>
4. Iglesias A.I., Springelkamp H.S., Ramdas W.D., Klaver C.C., Willemsen R., van Duijn C.M. Pathways, and animal models in primary open-angle glaucoma. *Eye (Lond.)*. 2015; 29(10): 1285–98. <https://doi.org/10.1038/eye.2015.160>
5. Sakaguchi S.S., Yamaguchi T.S., Nomura T.S., Ono M. Regulatory T cells and immune tolerance. *Cell*. 2008; 133(5): 775–87. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2008.05.009>
6. Hsu S.M., Mathew R., Taylor A.W., Stein-Streilein J. Ex-vivo tolerogenic F4/80⁺ antigen-presenting cells (APC) induce efferent CD8⁺ regulatory T cell-dependent suppression of experimental autoimmune uveitis. *Clin. Exp. Immunol.* 2014; 176(1): 37–48. <https://doi.org/10.1111/cei.12243>
7. Williams P.A., Marsh-Armstrong N.S., Howell G.R. Neuroinflammation in glaucoma: A new opportunity. *Exp. Eye Res.* 2017; 157: 20–7. <https://doi.org/10.1016/j.exer.2017.02.014>
8. Egorov E.A., Astakhov Yu.S., Eriчев V.P. *National Guide to Glaucoma: for Practicing Physicians [Natsional'noe rukovodstvo po glaukome: dlya praktikuyushchikh vrachey]*. Moscow: GEOTAR-Media; 2015. (in Russian)
9. Fурсова А.Ж., Гусаревич О.Г., Тарасова М.С., Васильева М.А., Чубарь Н.В., Литвинова Н.В. Age-macular degeneration and glaucoma. Epidemiological and clinic-pathogenetic aspects. *Sibirskiy nauchnyy meditsinskiy zhurnal*. 2018; 38(5): 83–91. <https://doi.org/10.15372/SSMJ20180514> (in Russian)
10. Wong W.L., Su X., Li X., Cheung C.M., Klein R., Cheng C.Y., et al. Global prevalence of age-related macular degeneration and disease burden projection for 2020 and 2040: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Glob. Health*. 2014; 2(2): e106–16. [https://doi.org/10.1016/S2214-109X\(13\)70145-1](https://doi.org/10.1016/S2214-109X(13)70145-1)
11. Silva T.M., Rocha A.V., Lacchini R.C., Marques C.R., Silva E.S., Tanus-Santos J.E., et al. Association of polymorphisms of endothelial nitric oxide synthase (eNOS) gene with the risk of primary open angle glaucoma in a Brazilian population. *Gene*. 2012; 502(2): 142–6. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2012.04.047>
12. Evangelho K., Mogilevskaya M., Losada-Barragan M., Vargas-Sanchez J.K. Pathophysiology of primary open-angle glaucoma from a neuroinflammatory and neurotoxicity perspective: a review of the literature. *Int. Ophthalmol.* 2019; 39(1): 259–71. <https://doi.org/10.1007/s10792-017-0795-9>
13. Erb K. Glaucoma and arterial hypertension. *Rossiyskiy oftalmologicheskiy zhurnal*. 2016; 9(1): 105–11. <https://doi.org/10.21516/2072-0076-2016-9-1-105-111> (in Russian)

14. Ozkan J.S., Majzoub M.E., Coroneo M.S., Thomas T., Willcox M. Comparative analysis of ocular surface tissue microbiome in human, mouse, rabbit, and guinea pig. *Exp. Eye Res.* 2021; 207: 108609. <https://doi.org/10.1016/j.exer.2021.108609>
15. Weinreb R.N., Khaw P.T. Primary open-angle glaucoma. *Lancet.* 2004; 363(9422): 1711–20. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(04\)16257-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(04)16257-0)
16. Kondkar A.A., Azad T.A., Sultan T., Osman E.A., Almobarak F.A., Al-Obeidan S.A. Association of endothelial nitric oxide synthase (NOS3) gene polymorphisms with primary open-angle glaucoma in a Saudi cohort. *PLoS One.* 2020; 15(1): e0227417. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0227417>
17. Wink D.A., Miranda K.M., Espey M.G., Iuta R.M., Hewett S.J., Colton C., et al. Mechanisms of the antioxidant effects of nitric oxide. *Antioxid. Redox Signal.* 2001; 3(2): 203–13. <https://doi.org/10.1089/152308601300185179>
18. Ster A.M., Popp R.A., Petrisor F.M., Stan C., Pop V.I. The role of oxidative stress and vascular insufficiency in primary open angle glaucoma. *Chujul Med.* 2014; 87(3): 143–6. <https://doi.org/10.15386/cjmed-295>
19. Xiang Y., Dong Y., Li X., Tang X. Association of common variants in eNOS gene with primary open angle glaucoma: a meta-analysis. *J. Ophthalmol.* 2016; 2016: 1348347. <https://doi.org/10.1155/2016/1348347>
20. Kondkar A.A., Azad T.A., Almobarak F.A., Abu-Amero K.K., Al-Obeidan S.A. Polymorphism rs7961953 in TMTC2 gene is not associated with primary open-angle glaucoma in a Saudi cohort. *Ophthalmic Genet.* 2019; 40(1): 74–6. <https://doi.org/10.1080/13816810.2019.1576210>
21. Kondkar A.A., Sultan T., Almobarak F.A., Kalantan H., Abu-Amero K.K., Al-Obeidan S.A. Plexin domain containing 2 (PLXDC2) gene polymorphism rs7081455 may not influence POAG risk in a Saudi cohort. *BMC Res. Notes.* 2018; 11(1): 733. <https://doi.org/10.1186/s13104-018-3848-x>
22. Kondkar A.A., Azad T.A., Almobarak F.A., Bahabri I.M., Kalantan H., Abu-Amero K.K., et al. Lack of association between variant rs7916697 in ATOH7 and primary open angle glaucoma in a Saudi cohort. *Genet. Res. Int.* 2018; 2018: 2148056. <https://doi.org/10.1155/2018/2148056>
23. Kondkar A.A., Azad T.A., Sultan T., Al-Mobarak F.A., Kalantan H., Al-Obeidan S.A. Polymorphisms rs693421 and rs2499601 at locus 1q43 and their haplotypes are not associated with primary open-angle glaucoma: a case-control study. *BMC Res. Notes.* 2019; 12(1): 453. <https://doi.org/10.1186/s13104-019-4491-x>
24. Lip P.L., Felmeden D.C., Blann A.D., et al. Plasma vascular endothelial growth factor, soluble VEGF receptor FLT-1, and von Willebrand factor in glaucoma. *Br J Ophthalmol.* 2002; 86(11): 1299–302. <https://doi.org/10.1136/bjo.86.11.1299>

Информация об авторах

Свитич Оксана Анатольевна — д.м.н., член-корреспондент РАН, профессор каф. микробиологии, вирусологии и иммунологии Института общественного здоровья им. Ф.Ф. Эрисмана ПМГМУ им. И.М. Сеченова, Москва, Россия, директор НИИВС им. И.И. Мечникова, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-1757-8389>

Кинкулькина Алия Ряшидовна[✉] — аспирант каф. микробиологии, вирусологии и иммунологии Института общественного здоровья им. Ф.Ф. Эрисмана ПМГМУ им. И.М. Сеченова, Москва, Россия, м.н.с. НИИВС им. И.И. Мечникова, Москва, Россия, princes111@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4473-0577>

Авагян Асмик Самсоновна — студентка ПМГМУ им. И.М. Сеченова, Москва, Россия; лаборант НИИВС им. И.И. Мечникова, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-5642-7092>

Гаврилова Татьяна Валерьевна — д.м.н., профессор, зав. каф. офтальмологии ПГМУ им. акад. Е.А. Вагнера, Пермь, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-2071-9322>

Участие авторов. Все авторы внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Статья поступила в редакцию 24.12.2021;
принята к публикации 14.02.2022;
опубликована 28.02.2022

Information about the authors

Oksana A. Svitich — D. Sci. (Med.), Corresponding Member of the RAS, Professor, Department of microbiology, virology and immunology, F.F. Erisman Institute of Public Health, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia; Director, I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-1757-8389>

Aliya R. Kinkulkina[✉] — graduate student, Department of microbiology, virology and immunology, F.F. Erisman Institute of Public Health, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia; junior researcher, I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russia, princes111@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4473-0577>

Hasmik S. Avagyan — student, Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia; laboratory assistant, I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-5642-7092>

Tatiana V. Gavrilova — D. Sci. (Med.), Professor, Head, Department of ophthalmology, Academician E.A. Vagner Perm State Medical University, Perm, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-2071-9322>

Author contribution. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published.

The article was submitted 24.12.2022;
accepted for publication 14.02.2022;
published 28.02.2022