

ВЛИЯНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОГО ПОЛИМОРФИЗМА T786C ГЕНА ENOS НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ КИСЛОРОДНОГО ОБМЕНА У ПАЦИЕНТОВ С ПЕРВИЧНОЙ ОТКРЫТОУГОЛЬНОЙ ГЛАУКОМОЙ

Романчук В. В.¹, Садовнича Я. Ю.²

¹Гродненский государственный медицинский университет

²Гродненская университетская клиника

Гродно, Беларусь

Введение. Первичная открытоугольная глаукома (ПОУГ) остается одной из ведущих причин необратимой слепоты во всем мире, представляя собой мультифакторное заболевание с наследственной предрасположенностью. Несмотря на достигнутые успехи в контроле внутриглазного давления (ВГД), у значительной части пациентов нейродегенеративный процесс продолжает прогрессировать [1]. Это диктует необходимость детального изучения генетических маркеров, ответственных за негидродинамические факторы патогенеза, в частности – за состояние глазного кровотока.

Ключевым регулятором сосудистого тонуса и микроциркуляции в тканях глаза является оксид азота (NO), синтезируемый эндотелиальной синтазой (eNOS). Одной из наиболее значимых генетических вариаций, влияющих на функциональную активность этого фермента, является полиморфизм T786C (rs2070744) в промоторной области гена eNOS. Замена тимина на цитозин приводит к существенному снижению скорости транскрипции гена, что влечет за собой развитие эндотелиальной дисфункции.

Актуальность изучения данного полиморфизма при ПОУГ обусловлена его ролью в развитии ишемии и вазоспазма диска зрительного нерва. Нарушение продукции NO провоцирует изменение перфузионного давления, что делает решетчатую пластинку склеры и нервные волокна более уязвимыми к механическому стрессу. Кроме того, полиморфизм rs2070744 рассматривается как потенциальный биомаркер для выделения групп риска, предрасположенных к агрессивному течению глаукомы и ранней потере зрительных функций [2].

Исследование взаимосвязи аллеля 786C с развитием глаукомной оптической нейропатии позволит расширить представления о молекулярно-генетических основах заболевания и создать базу для разработки персонализированных стратегий фармакологической коррекции эндотелиальной дисфункции у пациентов с ПОУГ.

Методы исследования. В исследование вошли 100 пациентов с ПОУГ, среди которых 53 мужчины и 47 женщин, средний возраст – 65,0±6,56 лет. Все участники не имели родственных связей между собой. В качестве контрольной группы было набрано 30 человек без глаукомы: 17 мужчин и 13 женщин, средний возраст – 63,0±6,46 лет. Диагноз и стадия заболевания определялись на основании комплексного офтальмологического обследования.

Включение в основную группу происходило при наличии клинически подтверждённого диагноза ПОУГ и компенсированного ВГД, соответствующего установленным стандартам для стадии. Исключались пациенты, перенесшие офтальмохирургию менее 6 месяцев назад, с выраженными аномалиями рефракции, другими офтальмопатологиями (кроме катаракты), активно воспалительными или системными заболеваниями (например, диабетом, сердечно-сосудистыми болезнями, онкологией, почечной и печёночной недостаточностью). Контрольная группа подбиралась по тем же критериям исключения. В обеих группах преобладали возрастные сосудистые патологии: ИБС, атеросклероз, гипертония 1-2 стадии.

Для выделения ДНК использовали буккальный эпителий. Генотипирование SNP rs1799983 в гене eNOS проводили методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени посредством термоциклирующей системы Rotor Gene Q 5 plex HRM (QIAGEN, Германия) в соответствии с протоколом реакции фирмы-производителя (ООО «Синтол», Российская Федерация) к указанному полиморфизму.

Анализ связи между полиморфизмами генов и исследуемыми переменными проводился с использованием онлайн-сервиса SNPstats. В рамках этого анализа была выполнена проверка условий равновесия Харди – Вайнберга, рассчитывались таблицы сопряженности, значения отношения шансов с 95%-ными доверительными интервалами, а также р-значения для проверки гипотез о наличии статистически значимых различий и информационные критерии (Байесовский и Акаике). Критерий статистической значимости устанавливался при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Анализ распределения аллелей полиморфного варианта T786C (rs2070744) показал преобладание гетерозиготных генотипов T/C. Частотный профиль выявленных аллелей не имел статистически значимых отклонений от популяционных стандартов и соответствовал равновесию Харди-Вайнберга ($p = 0,42$), что послужило основой для дальнейшего моделирования типов наследования признака.

При построении статистических моделей наследования для локуса rs2070744 наиболее высокая прогностическая ценность взаимосвязи генотипа и уровня нитрат/нитритов в плазме крови при ПОУГ была зафиксирована у доминантной модели. У носителей вариантного аллеля С (группа генотипов T/C и C/C) наблюдались более высокие значения уровня нитрат/нитритов по сравнению с гомозиготами по дикому типу (ТТ). Поэтому наличие хотя бы одного мутантного аллеля С (генотипы T/C и C/C) оказывается достаточным для статистически значимого изменения фенотипа. Для оценки эффективности доставки кислорода был проанализирован уровень $p50_{\text{станд}}$, значения которого в исследуемой группе варьировали в зависимости от носительства вариантных аллелей. Статистически достоверное влияние на показатель $p50_{\text{станд}}$ также обнаружено при доминантной генетической модели. Установленный рост показателя у носителей T/C+C/C свидетельствует об облегчении дезоксигенации гемоглобина в ответ на гиперпродукцию монооксида азота.

Анализ вклада промоторного локуса T786C позволил выявить доминантный характер его влияния на метаболический профиль пациентов. Носительство аллеля С (генотипы Т/С и С/С) ассоциировано с достоверной гиперпродукцией монооксида азота, что выступает триггером для роста показателя $p50_{\text{станд}}$. Это подтверждает роль регуляторной зоны гена eNOS в обеспечении эффективной оксигенации тканей, указывая на то, что даже гетерозиготное состояние по минорному аллелю обеспечивает значимый прирост адаптивного потенциала системы транспорта газов кровью.

Полученные нами данные о значительном повышении уровня нитритов/нитратов у носителей аллеля С (генотипы Т/С и С/С) дополняют существующую научную дискуссию о функциональной роли полиморфизма T-786C. Традиционно считается, что замена Т на С в промоторной области гена eNOS (rs2070744) снижает активность промотора и, как следствие, ведет к уменьшению синтеза оксида азота. Например, в исследовании El-Sayed et al. (2014) на египетской популяции было показано, что средний уровень NOx в плазме был значимо ниже у носителей генотипов ТС+СС по сравнению с ТТ. Однако наши результаты согласуются с альтернативной точкой зрения, представленной в ряде работ (например, Sacchi et al., 2002; Galassi et al., 2004), где указывается на возможную избыточную экспрессию eNOS при глаукоме как ответ на ишемическое повреждение. Подобная «гиперпродукция» NO может выступать в роли патогенетического фактора, усиливающего нейротоксичность через образование пероксинитрита.

Установленное нами облегчение отдачи кислорода у носителей аллеля С является уникальным наблюдением. В литературе основное внимание уделяется сосудистому тону, в то время как системное влияние на кислородно-транспортную функцию крови в зависимости от генотипа eNOS практически не освещено [3].

Выводы. Полученные результаты позволяют предположить наличие сопряженного механизма: гиперпродукция NO у носителей аллеля С ведет к компенсаторному снижению сродства гемоглобина к кислороду для поддержания оксигенации тканей в условиях эндотелиальной дисфункции.

Работа выполнена в рамках гранта БРФФИ № M24-083.

ЛИТЕРАТУРА

1. Comparative effectiveness of treatments for open-angle glaucoma: A systematic review for the U.S. Preventive Services Task Force / M. V. Boland, A. M. Ervin, D. S. Friedman [et al.] // Ann. Intern. Med. – 2013. – Vol. 158, № 4. – P. 271-279.
2. Association of Endothelial Nitric Oxide Synthase Gene Polymorphisms with Primary Open-Angle Glaucoma: A Meta-Analysis / M. Xiang [et al.] // Genet. Test. Mol. Biomarkers. – 2016. – Vol. 20, № 5. – P. 233-241.
3. The role of polymorphisms rs2070744 and rs1799983 eNOS gene in patients with POAG: a systematic review and meta-analysis / N. Salari, S. Bokaei, N. Farshchian [et al.] // Int. Ophthalmol. – 2021. – Vol. 41, № 8. – P. 2747-2763.