

РОЛЬ ПОЛИМОРФИЗМА G894T ГЕНА ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ СИНТАЗЫ МОНООКСИДА АЗОТА В ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМАХ ПЕРВИЧНОЙ ОТКРЫТОУГОЛЬНОЙ ГЛАУКОМЫ

Романчук В. В.¹, Карпович Н. В.²

¹Гродненский государственный медицинский университет

²Гродненская университетская клиника

Гродно, Беларусь

Введение. Глаукома представляет собой хроническое и прогрессирующее дегенеративное заболевание глаз, являющееся одной из ведущих причин слепоты во всем мире. Одной из особенностей данного заболевания является наличие наследственной предрасположенности его развития [1]. Генетическая структура глаукомы весьма сложна и включает широкий спектр вариантов: от моногенных мутаций с большим эффектом, до полигенных вариаций, каждая из которых оказывает незначительное влияние, но в совокупности определяет высокий риск заболевания.

Сегодня глаукома рассматривается как результат сложного взаимодействия метаболических и сосудистых нарушений, где центральное место занимает эндотелиальная дисфункция. Важнейшим медиатором сосудистого гомеостаза в тканях глаза является оксид азота (NO), который обеспечивает адекватную перфузию сетчатки и регулирует тонус гладкомышечных клеток трабекулярного аппарата.

Продукция этого медиатора напрямую зависит от функциональной активности эндотелиальной изоформы фермента фермента NO-синтазы (eNOS). Известно, что множество факторов регулируют eNOS на транскрипционном, посттранскрипционном и посттрансляционном уровнях. В связи с этим, вариации данного гена влияют на регуляцию фермента eNOS и, соответственно, на продукцию газотрансмиттера NO [2].

В связи с изложенным выше, распределение частот аллелей и генотипов полиморфного варианта G894T гена eNOS и их участие в протекании кислородзависимых процессов в организме при ПОУГ вызывают научный интерес для детального изучения.

Цель. Оценить влияние полиморфизма G894T гена eNOS на показатели кислородсвязывающих свойств крови и системы газотрансмиттеров с учетом их значения для патогенеза первичной открытоугольной глаукомы.

Методы исследования. В исследование вошли 100 пациентов с ПОУГ, среди которых 53 мужчины и 47 женщин, средний возраст – $65,0 \pm 6,56$ 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 – $63,0 \pm 6,46$ 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. Данные по распределению генотипов и аллелей локуса G894T (rs1799983) у пациентов с верифицированным диагнозом ПОУГ согласуются с данными популяционных выборок для европейского региона [3]. В исследуемой группе пациентов с ПОУГ преобладал гомозиготный генотип дикого типа G/G. Распределение генотипов соответствовало равновесию Харди-Вайнберга ($p = 0,092$), что подтверждает генетическую репрезентативность выборки.

В ходе анализа связи между изучаемым полиморфизмом G894T (rs1799983) и уровнем монооксида азота были построены четыре генетические модели: кодоминантная, доминантная, рецессивная и сверхдоминантная, что позволило определить наиболее вероятный физиологический механизм влияния аллелей на экспрессию NO-синтазы. Для изучаемого полиморфизма главной с точки зрения статистической значимости оказалась рецессивная модель. Выявлено, что у носителей только рецессивных аллелей (T/T) уровень нитрат/нитритов был значительно выше в сравнении с объединенной группой носителей доминантного аллеля (G/G-G/T).

Аналогичная тенденция прослеживалась и в отношении сероводорода (H_2S), содержание которого достигало максимальных значений именно в группе T/T. Межгрупповые различия достигли уровня статистической значимости при сравнении гомозигот по минорному аллелю с объединенной

группой носителей доминантного аллеля (Т/Т и G/G+G/T). Уровень этого газотрансмиттера был выше у гомозигот по мутантному аллелю.

В ходе анализа связи между генотипами полиморфного варианта G894T и показателями кислородсвязывающих свойств крови статистически значимой и надежной оказалась рецессивная модель. Установлено, что у носителей генотипа Т/Т, характеризующихся гиперпродукцией газотрансмиттеров NO и H₂S, отмечается статистически значимое повышение показателя сродства гемоглобина к кислороду $p50_{\text{реал}}$ и $p50_{\text{станд}}$ в сравнении с генотипами G/G-G/T. Данный сдвиг кривой диссоциации оксигемоглобина вправо (уменьшение сродства гемоглобина к кислороду) облегчает десатурацию крови в ишемизированные ткани глаза у носителей минорного аллеля.

Анализ полученных данных демонстрирует, что полиморфизм G894T является важным модулятором кислородного статуса при глаукоме. Выявленное нами повышение уровней газотрансмиттеров NO и H₂S у гомозигот Т/Т сопряжено с ростом показателя $p50_{\text{реал}}$ и $p50_{\text{станд}}$, что отражает их значение в изменении конформации гемоглобина и снижении его сродства к кислороду.

Выявленная ассоциация между экзонным полиморфизмом G894T (rs1799983) и уровнями газотрансмиттеров указывает на значимость структурных вариаций фермента eNOS в формировании гипоксического синдрома при глаукоме.

Выводы. Полиморфизм G894T (rs1799983) гена eNOS влияет на газотрансмиттерный профиль у пациентов с глаукомой. Носителей рецессивного генотипа (Т/Т) имеют более высокие уровни как NO, так и H₂S, по сравнению с носителями доминантных аллелей.

Повышенные показатели $p50_{\text{реал}}$ и $p50_{\text{станд}}$ (сдвиг кривой диссоциации оксигемоглобина вправо) у пациентов с рецессивным генотипом связаны с увеличением уровня H₂S, который регулирует сродство гемоглобина к кислороду.

Снижение сродства гемоглобина к кислороду у носителей Т/Т способствует более эффективной отдаче кислорода тканям, что помогает частично компенсировать ишемические процессы при глаукоме.

Работа выполнена в рамках гранта БРФФИ № M24-083.

ЛИТЕРАТУРА

1. Classification of Common Human Diseases Derived From Shared Genetic and Environmental Determinants / K. Wang, H. Gaitsch, H. Poon [et al.] // Nature Genetics. – 2017. – Vol. 49, № 9. – P. 1319–1343.
2. Gheibi, S. Insulin secretion: The nitric oxide controversy / S. Gheibi, A. Ghasemi // EXCLI Journal. – 2020. – Vol. 19. – P. 1227-1245.
3. Ensembl 2022 / F. Cunningham, J. E. Allen, J. Allen [et al.] // Nucleic Acids Res. – 2022. – Vol. 50, № (D1). – D988-D995.