АРХІВ ОФТАЛЬМОЛОГІЇ УКРАЇНИ

УДК 617.7-007.681:575.174.015.3 DOI: https://doi.org/10.22141/2309-8147.10.1.2022.286

Ісаєв О.А.
Дніпровський державний медичний університет, м. Дніпро, Україна
Комунальне підприємство «Дніпропетровська обласна клінічна офтальмологічна лікарня», м. Дніпро, Україна

Зв'язок поліморфізмів rs1799983 та rs2070744 гена *NOS3* з первинною відкритокутовою глаукомою

Резюме. ***Актуальність.*** *Значний вплив на розвиток первинної відкритокутової глаукоми (ПВКГ) має розвиток ендотеліальної дисфункції внаслідок її здатності провокувати вазоконстрикцію та ішемію зорового нерва, що прискорює прогресування глаукомної оптичної нейропатії. Особи із спадковою схильністю до розвитку ендотеліальної дисфункції через поліморфізм генів ендотеліальної NO-синтази (NOS3) можуть мати схильність і до розвитку ПВКГ.* ***Мета:*** *встановити зв'язок поліморфізмів rs1799983 та rs2070744 гена NOS3 з первинною відкритокутовою глаукомою.* ***Матеріали та методи.*** *Проаналізовані дані 153 пацієнтів (153 ока) із ПВКГ та 47 пацієнтів групи контролю. Вік пацієнтів становив 65,0 ± 13,1 року, тривалість захворювання — 4,9 ± 5,3 року. Кров пацієнтів досліджена методом полімеразної ланцюгової реакції в реальному часі (ампліфікатор Gene Amp® PCR System 7500, США) із використанням тест-систем TaqMan Mutation Detection Assays Life-Technology (США). Для статистичної обробки отриманих результатів використовували програму Statistica 10 (StatSoft, Inc., США).* ***Результати.*** *У хворих на ПВКГ встановлено збільшення частоти мінорної гомозиготи TT rs1799983 (у 2,8 раза; P_{Fet} = 0,023) та зменшення частоти мінорної гомозиготи TT rs2070744 (у 1,9 раза; P_{Fet} = 0,049) при порівнянні з контролем. Вплив генотипів rs1799983 на розподіл пацієнтів був статистично значущим для III і IV стадій (p < 0,02), а вплив генотипів rs2070744 — тільки для IV стадії (p = 0,006). Встановлено зв'язок із ПВКГ алелей T rs1799983 (p = 0,016) і C rs2070744 (p = 0,025), що при стратифікації зберігалося для III і IV стадій (p < 0,025). Носії генотипу TT rs1799983 порівняно з носіями інших генотипів мали більший внутрішньоочний тиск, гірші результати периметрії, меншу товщину RNFL і GCC та більше відношення Cup/Disk Area Ratio. Носії генотипу CC rs2070744 порівняно з носіями генотипу TT мали гірші результати периметричного обстеження та меншу товщину RNFL і GCC.* ***Висновки.*** *Отримані результати підтвердили наявність зв'язку поліморфізмів rs1799983 та rs2070744 гена NOS3 із ПВКГ у пацієнтів з української популяції. Механізмом реалізації їх впливу можна вважати схильність до розвитку ендотеліальної дисфункції, яка може прискорювати прогресування глаукомної оптичної нейропатії.*

Ключові слова: *первинна відкритокутова глаукома; ендотеліальна дисфункція; ген NOS3; rs1799983; rs2070744*

Актуальність

Глобальною програмою ВООЗ із виявлення проблем зору та запобігання сліпоті в період 2014–2019 рр. була програма «VISION 2020: The Right to Sight». Результати цього проєкту показали, що для діагностики глаукоми на ранніх доклінічних стадіях необхідне розширення діапазону діагностики з упровадженням нових персоніфікованих методів дослідження [1]. Первинна відкритокутова глаукома (ПВКГ) розглядається як хронічна прогресуюча нейропатія зорового нерва з гоніоскопічно відкритим кутом передньої камери; саме ПВКГ є однією з основних причин погіршення зору та сліпоти в промислово розвинених країнах [2]. Залежно від вираженості дегенеративних процесів виділяють початкову, розвинену (таку, що далеко зайшла) та термінальну стадії [3, 4].

© «Архів офтальмології України» / «Archive Of Ukrainian Ophthalmology» («Arhìv oftal´mologìï Ukraïni»), 2022
© Видавець Заславський О.Ю. / Publisher Zaslavsky O.Yu., 2022

Для кореспонденції: Ісаєв Олексій Андрійович, аспірант кафедри офтальмології, Дніпровський державний медичний університет, вул. Вернадського, 9, м. Дніпро, 49044, Україна; e-mail: oleksiiisaev@gmail.com
For correspondence: Oleksiy Isaev, PhD student at the Department of ophthalmology, Dnipro State Medical University, Vernadsky st., 9, Dnipro, 49044, Ukraine; e-mail: oleksiiisaev@gmail.com
Full list of author information is available at the end of the article.

Значний вплив на розвиток ПВКГ мають ендотеліальні вазоактивні фактори (оксиду азоту, ендотелін, ангіотензин, простациклін тощо) через здатність провокувати вазоконстрикцію та ішемію зорового нерва, що прискорює прогресування глаукомної оптичної нейропатії [5, 6]. Отже, ендотеліальна дисфункція може бути одним із факторів патогенезу ПВКГ [7].

Чітко встановленою можна вважати генетичну схильність до розвитку та прогресування ПВКГ, що визначається на рівні 20–60 % [8]. Щодо цього увагу привертають поліморфізми гена ендотеліальної NO-синтази (*NOS3*), особливо rs1799983 (*G894T*, Glu298Asp) та rs2070744 (*T-786C*). Поліморфізм rs1799983 являє собою місенс-мутацію із заміною у кодуючій ділянці гена *NOS3* предкового триплету *GAT* (кодує аспартат) на *GAG/GAA* (кодує глютамін) — *894T>A,G* [9, 10]. Поліморфізм rs2070744 локалізується в інтроні гена *NOS3* [11]. За даними когортного дослідження «випадок — контроль» A.A. Kondkar та співавт. (2020), мінорна алель *T* rs1799983 була значуще зв'язана із ПВКГ, причому ризик суттєво збільшувався при поєднанні з алеллю *C* rs2070744 [12]. Також визначено, що гаплотип *CG* поліморфізмів *T-786C* і Glu298Asp *NOS3* мав зв'язок із ризиком ПВКГ у загальному аналізі та серед жінок, а також для пацієнтів, у яких захворювання розвинулося у віці понад 52 роки [13].

Мета: встановити зв'язок поліморфізмів rs1799983 та rs2070744 гена *NOS3* із первинною відкритокутовою глаукомою.

Матеріали та методи

Проаналізовані дані 153 пацієнтів (153 ока) із встановленим діагнозом ПВКГ. До контрольної групи увійшли 47 пацієнтів без такого діагнозу (загалом 200 осіб). У групі із ПВКГ чоловіків було 57 (37,25 %), жінок — 96 (62,75 %). У контрольній групі чоловіків було 22 (46,81 %), жінок — 25 (53,19 %).

Згідно із загальноприйнятим протоколом обстеження хворих із ПВКГ [3], у кожного пацієнта ретельно збирали скарги та анамнез, виконували візометрію, периметрію Hamphrey, рефрактометрію, пневмотонометрію, біомікроскопію, гоніоскопію, офтальмоскопію, оптичну когерентну томографію (ОКТ). Встановлювали стадію ПВКГ (I–IV) [3]. Для аналізу відбирали показники гіршого ока, визначали максимальну гостроту зору з корекцією (МГЗК), внутрішньоочний тиск (ВОТ) (мм рт.ст.), результати дослідження поля зору, використовуючи значення середнього відхилення (MD, дБ) та стандартного відхилення моделі (PSD, дБ), а також показники ОКТ: товщину шарів нервових волокон сітківки (RNFL, мкм) та комплексу гангліозних клітин макули (GCC, мкм); відношення площі екскавації до площі диска зорового нерва (Cup/Disk Area Ratio).

Молекулярно-генетичне дослідження проведене у зразках цільної венозної крові, що була отримана в пацієнтів у кількості 3 мл, відповідно до їх дозволу та з дотриманням необхідних біоетичних норм. Визначення генотипів поліморфізмів rs1799983 (*G894T*, Glu298Asp) та rs2070744 (*T-786C*) гена *NOS3* проводили методом полімеразної ланцюгової реакції в реальному часі в автоматичному ампліфікаторі «Gene Amp® PCR System 7500» («Applied Biosystems», США). На першому етапі дослідження з цільної венозної крові виділяли геномну ДНК за допомогою реактивів PureLink® Genomic DNA Kit For Purification of Genomic DNA («Invitrogen», США). Генетичний аналіз здійснено з використанням уніфікованої тест-системи «TaqMan Mutation Detection Assays Life-Technology» (США).

Для статистичної обробки отриманих результатів використовували програму Statistica 10 (StatSoft, Inc., США). Для описової статистики кількісних результатів використовували середні (M) та їх стандартне відхилення (SD). Незалежні вибірки порівнювали із застосуванням методу Фішера (F), критеріїв Стьюдента (t) та χ^2 Пірсона, для парних порівнянь використано точний метод Фішера (P_{Fet}). У всіх випадках статистичного оцінювання значення $p < 0,05$ вважали вірогідними.

Результати та обговорення

За віком та статтю пацієнти з ПВКГ і контрольної групи суттєво не відрізнялися (табл. 1). Тривалість захворювання в осіб із ПВКГ була 4,9 ± 5,3 року.

Таблиця 1. Загальноклінічні показники у групах пацієнтів

Показник		Контроль	ПВКГ	Критерій	P
Вік, роки		62,1 ± 12,5	65,0 ± 13,1	t = –1,34	0,181
Стать	Ч, n (%)	22 (46,81)	57 (37,25)	χ^2 = 1,37	0,241
	Ж, n (%)	25 (53,19)	96 (62,75)		

Таблиця 2. Результати офтальмологічних досліджень

Показник	Контроль	ПВКГ	t	P
МГЗК	0,97 ± 0,08	0,50 ± 0,39	8,18	< 0,001
ВОТ, мм рт.ст.	14,50 ± 3,27	17,86 ± 8,75	–2,58	0,010
MD, дБ	–2,24 ± 0,41	–20,43 ± 10,11	12,31	< 0,001
PSD, дБ	2,42 ± 0,35	6,74 ± 3,82	–7,74	< 0,001
RNFL, мкм	103,56 ± 8,04	70,68 ± 16,94	12,56	< 0,001
GCC, мкм	94,46 ± 4,74	76,05 ± 14,13	8,75	< 0,001
Cup/Disk Area Ratio	0,28 ± 0,15	0,72 ± 0,18	–14,73	< 0,001

Розподіл пацієнтів за стадіями ПВКГ показано на рис. 1. Переважна кількість осіб мали ПВКГ III стадії (52,94 %), приблизно однакова кількість пацієнтів була з іншими стадіями (11,76–17,65 %).

Результати офтальмологічного обстеження наведені у табл. 2. За всіма показниками відмінності мали високу статистичну значущість ($p \leq 0,01$): у пацієнтів із ПВКГ гострота зору була меншою, ВОТ — вищим, показники периметричного обстеження — гіршими, товщина шарів нервових волокон сітківки (RNFL) та комплексу гангліозних клітин макули (GCC) — меншою і відношення площі екскавації до площі диска зорового нерва (Cup/Disk Area Ratio), яке відбиває ступінь прогресії глаукоми, більшим.

При порівнянні розподілу генотипів поліморфізму rs1799983 (табл. 3) у пацієнтів із ПВКГ із контролем була виявлена тенденція до зменшення частоти предкового генотипу *GG* (в 1,4 раза; $P_{Fet} = 0,110$) та збільшення частоти мінорної гомозиготи *TT* (у 2,8 раза; $P_{Fet} = 0,023$). Вплив генотипів на розподіл пацієнтів по групах (контроль і ПВКГ) статистичної значущості не мав ($p = 0,051$). Натомість стратифікація за стадіями ПВКГ показала, що вплив генотипів порівняно з контролем був значущим для III ($p = 0,019$) і більшою мірою для IV стадії ($p = 0,003$), але не для стадій I і II ($p = 0,893$).

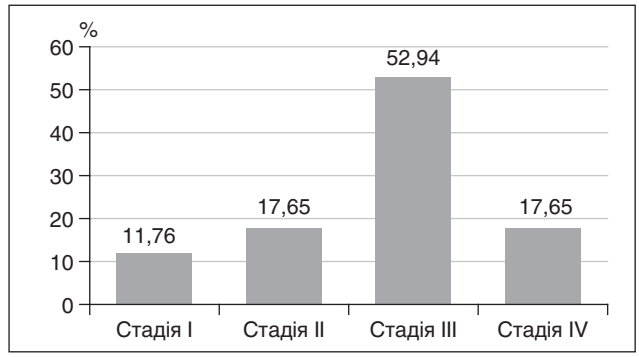

Рисунок 1. Розподіл пацієнтів із ПВКГ за стадіями захворювання ($\chi^2 = 200,00$; $p < 0,001$)

Так само і при порівнянні розподілу за алелями rs1799983 у пацієнтів із ПВКГ і контрольної групи було визначено статистично значуще зменшення частоти предкової алелі *G* та збільшення частоти мінорної алелі *T* ($P_{Fet} = 0,017$). Вплив алелей на розподіл пацієнтів по групах (контроль і ПВКГ) мав статистичну значущість

Таблиця 3. Розподіл генотипів rs1799983 по групах пацієнтів і при стратифікації за стадіями, n (f)

Група/Стадія		Генотипи			χ^2	P
		GG	*GT*	*TT*		
Контроль		20 (0,426)	23 (0,489)	4 (0,085)	5,99	0,051
ПВКГ		45 (0,294)	72 (0,471)	36 (0,235)		
Стадія	I + II	18 (0,400)	24 (0,533)	3 (0,067)	0,23	0,893
	III	24 (0,296)	33 (0,408)	24 (0,296)	7,96	0,019
	IV	3 (0,111)	15 (0,556)	9 (0,333)	11,62	0,003
		$\chi^2 = 42,4$; $p < 0,001$				

Таблиця 4. Розподіл алелей rs1799983 по групах пацієнтів і при стратифікації за стадіями, n (f)

Група/Стадія		Алелі		χ^2	P
		G	*T*		
Контроль		63 (0,670)	31 (0,330)	5,78	0,016
ПВКГ		162 (0,529)	144 (0,471)		
Стадія	I + II	60 (0,667)	30 (0,333)	< 0,01	0,959
	III	81 (0,500)	81 (0,500)	6,97	0,008
	IV	21 (0,389)	33 (0,611)	10,98	< 0,001
		$\chi^2 = 26,70$; $p < 0,001$			

Таблиця 5. Розподіл генотипів rs2070744 по групах пацієнтів і при стратифікації за стадіями, n (f)

Група/Стадія		Генотипи			χ^2	p
		CC	*CT*	*TT*		
Контроль		9 (0,191)	24 (0,511)	14 (0,298)	5,67	0,059
ПВКГ		48 (0,314)	81 (0,529)	24 (0,157)		
Стадія	I + II	12 (0,267)	21 (0,466)	12 (0,267)	0,74	0,691
	III	27 (0,333)	42 (0,519)	12 (0,148)	5,41	0,067
	IV	9 (0,333)	18 (0,667)	0 (0)	10,20	0,006
		$\chi^2 = 21,9$; $p = 0,001$				

при p = 0,016. При стратифікації за стадіями вплив алелей був значущим для III (p = 0,008) і більшою мірою для IV стадій (p < 0,001) порівняно з контролем.

Розподіл генотипів поліморфізму rs2070744 (табл. 5) у пацієнтів із ПВКГ показав тенденцію до збільшення частоти предкового генотипу *CC* (в 1,6 раза; P_{Fet} = 0,139) та зменшення частоти мінорної гомозиготи *TT* (в 1,9 раза; P_{Fet} = 0,049) порівняно з контрольною групою. Вплив генотипів на розподіл пацієнтів по групах (контроль і ПВКГ) статистичної значущості не мав (p = 0,059). Стратифікація за стадіями ПВКГ показала, що вплив генотипів порівняно з контролем був значущим тільки для IV стадії (p = 0,006).

Порівняння розподілу алелей rs2070744 у пацієнтів із ПВКГ та контрольної групи (табл. 6) показало статистично значуще збільшення частоти предкової алелі *C* та зменшення частоти мінорної алелі *T* (P_{Fet} = 0,033). Вплив алелей на розподіл пацієнтів по групах (контроль і ПВКГ) мав статистичну значущість при p = 0,025. При стратифікації за стадіями вплив розподілу алелей зберігав статистичну значущість для III (p = 0,024) і IV стадій (p = 0,010).

Аналіз залежності офтальмологічних показників від генотипів rs1799983 у пацієнтів із ПВКГ (табл. 7) показав загальну закономірність: гірші показники були відзначені для носіїв генотипу *TT*. Порівняно з носіями інших генотипів вони мали значуще більший ВОТ, гірші результати периметричного обстеження, найменшу товщину шарів нервових волокон сітківки (RNFL) і комплексу гангліозних клітин макули (GCC) та більше відношення площі екскавації до площі диска зорового нерва (Cup/Disk Area Ratio).

Аналіз залежності офтальмологічних показників від генотипів rs2070744 у пацієнтів із ПВКГ (табл. 8) також виявив певну закономірність: гірші показники були відзначені для носіїв генотипу *CC*. Порівняно з носіями генотипу *TT* вони мали гірші результати периметричного обстеження та меншу товщину шарів нервових волокон сітківки (RNFL) і комплексу гангліозних клітин макули (GCC).

Стратифікація за стадіями ПВКГ повністю підтвердила виявлену залежність офтальмологічних показників від генотипів обох поліморфізмів: гірші показники були визначені для носіїв генотипів *TT* rs1799983 і *CC*

Таблиця 6. Розподіл алелей rs2070744 по групах пацієнтів і при стратифікації за стадіями, n (f)

Група/Стадія		Алелі		χ^2	p
		C	*T*		
Контроль		42 (0,447)	52 (0,553)	5,02	0,025
ПВКГ		177 (0,578)	129 (0,422)		
Стадія	I + II	12 (0,333)	24 (0,667)	1,37	0,242
	III	96 (0,593)	66 (0,407)	5,07	0,024
	IV	36 (0,667)	18 (0,333)	6,61	0,010
		χ^2 = 10,96; p = 0,012			

Таблиця 7. Залежність офтальмологічних показників від генотипів rs1799983; M ± SD

Показник	Генотипи			F	P
	GG	*GT*	*TT*		
МГЗК	0,55 ± 0,40	0,51 ± 0,36	0,41 ± 0,43	F = 1,3	0,261
ВОТ, мм рт.ст.	15,69 ± 8,07	17,70 ± 8,21	22,00 ± 10,06	5,1	0,007
MD, дБ	–14,68 ± 11,45	–22,37 ± 8,88	–25,82 ± 6,22	15,1	< 0,001
PSD, дБ	5,51 ± 4,11	7,50 ± 3,32	6,91 ± 4,17	3,3	0,041
RNFL, мкм	79,35 ± 19,53	67,46 ± 14,96	65,45 ± 13,91	8,6	< 0,001
GCC, мкм	81,60 ± 13,18	75,34 ± 16,45	70,51 ± 9,96	5,9	0,003
Cup/Disk Area Ratio	0,65 ± 0,21	0,76 ± 0,17	0,75 ± 0,14	4,4	0,010

Таблиця 8. Залежність офтальмологічних показників від генотипів rs2070744; M ± SD

Показник	Генотип			F	P
	CC	*CT*	*TT*		
МГЗК	0,53 ± 14,33	0,45 ± 0,36	0,61 ± 0,41	1,94	0,147
ВОТ, мм рт.ст.	19,19 ± 10,07	16,70 ± 7,90	19,12 ± 8,49	1,52	0,222
MD, дБ	–23,85 ± 7,81	–20,57 ± 10,06	–12,08 ± 10,55	11,30	< 0,001
PSD, дБ	7,54 ± 3,85	6,84 ± 3,85	4,57 ± 2,83	4,72	0,010
RNFL, мкм	69,52 ± 16,56	67,18 ± 14,40	88,39 ± 17,67	13,63	< 0,001
GCC, мкм	75,39 ± 14,94	72,63 ± 12,66	89,80 ± 8,12	14,50	< 0,001
Cup/Disk Area Ratio	0,71 ± 0,15	0,74 ± 0,19	0,66 ± 0,18	1,52	0,222

rs2070744. Також і порівняння офтальмологічних показників за алелями вивчених поліморфізмів підтвердило отримані результати: гірші показники були визначені для носіїв алелей *T* rs1799983 і *C* rs2070744.

Обговорення

Відсутність статистично значущої різниці розподілу за віком та статтю між обраними групами дослідження свідчила про адекватній відбір пацієнтів та значущість отриманих результатів. Серед пацієнтів із ПВКГ жінок було більше, ніж чоловіків, — 2 : 1. Такий розподіл відповідав загальним спостереженням — жінки хворіють частіше [3]. Офтальмологічні показники показали меншу гостроту зору та більший ВОТ, що також відповідало загальним уявленням про виникнення ПВКГ [14]. Для хворих було характерним значне звуження полів зору та зменшення товщини шарів нервових клітин сітківки, що було одним із проявів глаукомної оптичної нейропатії [15].

У нашому дослідженні більше половини хворих мали III стадію ПВКГ. При порівнянні розподілу генотипів поліморфізму rs1799983 було виявлено значуще зниження частоти мінорної гомозиготи *TT* (P_{Fet} = 0,023), що вказувало на її зв'язок із захворюванням. При стратифікації за стадіями асоціація була підтверджена для пацієнтів із III і IV стадіями. Статистично значущу асоціацію із ПВКГ мав і розподіл алелей rs1799983 (p = 0,016), що також було підтверджене для III і IV стадій.

За даними деяких популяційних досліджень також була показана асоціація rs1799983 з ПВКГ. Так, у бразильському дослідженні встановлений високий ризик захворювання у чоловіків — носіїв алелі *T* [13]. За даними дослідників із США, високий ризик ПВКГ установлений у жінок — носіїв алелі *T* з європеоїдної популяції [16]. На противагу цим результатам була показана відсутність зв'язку поліморфізмів *NOS3* із гіпер- та нормотензивною глаукомою в осіб європеоїдної раси із Німеччини [17]. У нашому дослідженні виявлене значуще збільшення частоти мінорної алелі *T* та генотипу *TT* поліморфізму rs1799983 у пацієнтів із ПВКГ як для жінок, так і для чоловіків. Крім того, стратифікація за стадіями показала збереження такого зв'язку для III та IV стадії, але не для I і II. На наш погляд, це може обумовлювати зв'язок поліморфізму rs1799983 більшою мірою із прогресуванням ПВКГ, а не з її виникненням. Можливо, суперечливі результати, отримані в інших дослідженнях, саме й були обумовлені відсутністю врахування стадії глаукоми.

Також можна взяти до уваги таке міркування. Ендотеліальна дисфункція, що виникає в носіїв генотипів ризику гена *NOS3*, сприяє вазоконстрикції та ішемічним пошкодженням сітківки, що через активацію апоптозу гангліозних клітин може прискорювати прогресування глаукомної оптичної нейропатії [5, 6]. Це пояснює виявлений нами зв'язок розподілу генотипів та алелей вивчених поліморфізмів із III та IV стадіями ПВКГ та відсутність такого зв'язку з I і II стадіями. Таким чином, спадково обумовлена ендотеліальна дисфункція впливає не стільки на виникнення ПВКГ, скільки на її прогресування, коли захворювання вже виникло, через реалізацію дії інших факторів ризику.

Дослідження, яке було проведене в арабських хворих, показало, що алель *T* rs1799983 була значуще зв'язана з ПВКГ у чоловіків, але авторами не був виявлений зв'язок із такими показниками, як ВОТ і Cup/Disk Area Ratio [12]. За результатами наших порівнянь, і ВОТ, і Cup/Disk Area Ratio були вищими в носіїв мінорного генотипу *TT*.

Щодо цього необхідно звернутися до біологічного значення поліморфізму rs1799983 гена *NOS3*, який являє собою місенс-мутацію із заміною у структурі молекули NOS3 аспартату на глютамін (Glu298Asp) [9, 10]. Установлено, що в носіїв мінорної алелі *T* має місце послаблення активності ендотеліальної NO-синтази (NOS3), що супроводжується зниженням утворення оксиду азоту [9]. Останнє має значення в розвитку ендотеліальної дисфункції [18], яка, у свою чергу, обумовлює прогресування глаукомної оптичної нейропатії [7, 11].

Як і поліморфізм rs1799983 гена *NOS3*, інший поліморфізм цього гена — rs2070744 також має асоціацію із ПВКГ. У пацієнтів із Єгипту із захворюванням мали асоціацію генотип *CC* (p = 0,007) та алель *C* (p < 0,001) [19], що було підтверджене і для бразильських жінок [13]. У наших дослідженнях встановлена значуще більша частота алелі *C* rs2070744 в осіб із ПВКГ, що було підтверджене для III та IV стадій захворювання. Наявність такої асоціації підтверджена і в метааналізах 2016 та 2021 років [11, 20].

Поліморфізм rs2070744 (*T-786C*) гена *NOS3* має локалізацію в інтроні гена та впливає на його фізіологічні функції [11]. Показано, що вплив цього поліморфізму на ПВКГ мав залежність від гормонального статусу [21] та наявності артеріальної гіпертонії [22]. Очевидно, що його зв'язок із ПВКГ має складний характер, але, імовірно, реалізується він саме через розвиток ендотеліальної дисфункції [23].

Таким чином, отримані результати підтвердили наявність зв'язку поліморфізмів rs1799983 та rs2070744 гена *NOS3* із ПВКГ у пацієнтів з української популяції. Зв'язок був значущим для носіїв алелей *T* rs1799983 (p = 0,016) і *C* rs2070744 (p = 0,025). При цьому механізмом реалізації впливу поліморфізмів можна вважати схильність до розвитку ендотеліальної дисфункції в носіїв алелей ризику. Також важливим результатом роботи є встановлення зв'язку вивчених поліморфізмів із ступенем порушення зорових функцій. У носіїв ризикових генотипів (*TT* та *CC*) порівняно з носіями інших генотипів відзначалися гірші результати периметричного обстеження та найменша товщина шарів сітківки, що вказувало на більше прогресування глаукомної оптичної нейропатії.

Висновки

1. У хворих на ПВКГ встановлена тенденція до зменшення частоти предкового генотипу *GG* (в 1,4 раза; P_{Fet} = 0,110) та збільшення частоти мінорної гомозиготи *TT* (у 2,8 раза; P_{Fet} = 0,023) поліморфізму rs1799983 гена

NOS3 при порівнянні з контролем. Вплив генотипів на розподіл пацієнтів був статистично значущим для III і IV стадій (p < 0,02). Також при ПВКГ було визначене зменшення частоти алелі *G* і збільшення частоти алелі *T* (P_{Fet} = 0,017) порівняно з контролем та значущий зв'язок розподілу алелей із ПВКГ (p = 0,016).

2. У хворих на ПВКГ встановлена тенденція до збільшення частоти предкового генотипу *CC* (в 1,6 раза; P_{Fet} = 0,139) та зменшення частоти мінорної гомозиготи *TT* (в 1,9 раза; P_{Fet} = 0,049) поліморфізму rs2070744 гена *NOS3* при порівнянні з контролем. Вплив генотипів на розподіл пацієнтів був статистично значущим тільки для IV стадії (p = 0,006). Також при ПВКГ було визначено збільшення частоти алелі *C* та зменшення частоти алелі *T* (P_{Fet} = 0,033) порівняно з контролем та значущий зв'язок розподілу алелей із ПВКГ (p = 0,025).

3. Носії генотипу *TT* поліморфізму rs1799983 гена *NOS3* порівняно з носіями інших генотипів мали більший ВОТ, гірші результати периметрії, меншу товщину RNFL і GCC та більше відношення Cup/Disk Area Ratio.

4. Носії генотипу *CC* поліморфізму rs2070744 гена *NOS3* порівняно з носіями генотипу *TT* мали гірші результати периметричного обстеження та меншу товщину RNFL і GCC.

Конфлікт інтересів. Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів при підготовці даної статті.

Список літератури

1. *Bourne R.R. Vision 2020: where are we? Curr. Opin. Ophthalmol. 2020. 31(2). 81-84. 117. doi: 10.1097/ICU.0000000000000647.*

2. *Schuster A.K., Erb C., Hoffmann E.M., Dietlein T., Pfeiffer N. The diagnosis and treatment of glaucoma. Dtsch Arztebl. Int. 2020. 117(13). 225-34. doi: 10.3238/arztebl.2020.0225.*

3. *Nesterov A.P. Glaucoma. Moscow: LTD "Medical Information Agency", 2014. 360 p. [in Russian]*

4. *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. doi: 10.1007/s10792-017-0795-9.*

5. *Hoguet A. et al. The Effect of Anti-Vascular Endothelial Growth Factor Agents on Intraocular Pressure and Glaucoma: A Report by the American Academy of Ophthalmology. Ophthalmology. 2019 Apr. 126(4). 611-622. doi: 10.1016/j.ophtha.2018.11.019.*

6. *Bracha P., Moore N.A., Ciulla T.A., WuDunn D., Cantor L.B. The acute and chronic effects of intravitreal anti-vascular endothelial growth factor injections on intraocular pressure: a review. Surv. Ophthalmol. 2018. 63(3). 281-95. doi: 10.1016/j.survophthal.2017.08.008.*

7. *Mudassar I.B. et al. Microvascular endothelial function and primary open angle glaucoma. Ther. Adv. Ophthalmol. 2019. 11. 2515841419868100. doi: 10.1177/2515841419868100.*

8. *Liu Y., Allingham R.R. Major review: Molecular genetics of primary open-angle glaucoma. Exp. Eye Res. 2017. 160. 62-84. doi: 10.1016/j.exer.2017.05.002.*

9. *Luo Z., Jia A., Lu Z., Muhammad I., Adenrele A., Song Y. Associations of the NOS3 rs1799983 polymorphism with circulating nitric oxide and lipid levels: a systematic review and meta-analysis. Postgrad. Med. J. 2019. 95(1125). 361-371. doi: 10.1136/postgradmedj-2019-136396.*

10. *Jeoung J.W. et al. The relation between endothelial nitric oxide synthase polymorphisms and normal tension glaucoma. J. Glaucoma. 2017. 26(11). 1030-1035. doi: 10.1097/IJG.0000000000000751.*

11. *Salari N., Bokaee S., Farshchian N., Mohammadi M., Kazeminia M. The role of polymorphisms rs2070744 and rs1799983 eNOS gene in patients with POAG: a systematic review and meta-analysis. Int. Ophthalmol. 2021 Apr 10. doi: 10.1007/s10792-021-01832-y. Epub ahead of print. PMID: 33837898.*

12. *Kondkar A.A. et al. Association of endothelial nitric oxide synthase (NOS3) gene polymorphisms with primary open-angle glaucoma in a Saudi cohort. PLoS ONE. 2020. 15(1). e0227417. doi: 10.1371/journal.pone.0227417.*

13. *Magalhães da Silva T. 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. doi: 10.1016/j.gene.2012.04.047.*

14. *Torres L.A., Hatanaka M. Correlating structural and functional damage in glaucoma. J. Glaucoma. 2019. 28(12). 1079-1085. doi: 10.1097/IJG.0000000000001346.*

15. *Glaucoma. American Optometric Association. 2020 [Internet]. Available from: https://www.aoa.org/healthy-eyes/eye-and-visionconditions/glaucoma?sso = y.*

16. *Kang J.H., Wiggs J.L., Haines J., Abdrabou W., Pasquale L.R. Reproductive factors and NOS3 variant interactions in primary open-angle glaucoma. Mol. Vis. 2011. 17. 2544-2551. Epub 2011 Sep 30. PMID: 22025889; PMCID: PMC3198482.*

17. *Weiss J. et al. No difference in genotype frequencies of polymorphisms of the nitric oxide pathway between Caucasian normal and high tension glaucoma patients. Mol. Vis. 2012. 18. 2174-2181. Epub 2012 Aug 7. PMID: 22919264; PMCID: PMC3425578.*

18. *Cyr A.R., Huckaby L.V., Shiva S.S., Zuckerbraun B.S. Nitric oxide and endothelial dysfunction. Crit. Care Clin. 2020. 36(2). 307-321. doi: 10.1016/j.ccc.2019.12.009.*

19. *Emam W.A. et al. Endothelial nitric oxide synthase polymorphisms and susceptibility to high-tension primary open-angle glaucoma in an Egyptian cohort. Mol. Vis. 2014. 20. 804-811. PMID: 24940036; PMCID: PMC4057245.*

20. *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. doi: 10.1155/2016/1348347.*

21. *Kang J.H., Wiggs J.L., Haines J., Abdrabou W., Pasquale L.R. Reproductive factors and NOS3 variant interactions in primary open-angle glaucoma. Mol. Vis. 2011. 17. 2544-51. Epub 2011 Sep 30. PMID: 22025889; PMCID: PMC3198482.*

22. *Kang J.H., Wiggs J.L., Rosner B.A., Haines J., Abdrabou W., Pasquale L.R. Endothelial nitric oxide synthase gene variants and primary open-angle glaucoma: interactions with hypertension, alcohol intake, and cigarette smoking. Arch. Ophthalmol. 2011 Jun. 129(6). 773-80. doi: 10.1001/archophthalmol.2011.118.*

23. *McMonnies C.W. Glaucoma history and risk factors. J. Optom. 2017. 10(2). 71-8. doi: 10.1016/j.optom.2016.02.003.*

Отримано/Received 23.01.2022
Рецензовано/Revised 10.02.2022
Прийнято до друку/Accepted 14.02.2022

Information about author
Oleksiy Isaev, PhD student at the Department of ophthalmology, Dnipro State Medical University, Dnipropetrovsk Regional Ophthalmological Hospital, Dnipro, Ukraine; e-mail: oleksiiisaev@gmail.com; https://orcid.org/0000-0002-6737-677X

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

O.A. Isaev
Dnipro State Medical University, Dnipro, Ukraine
Public Utility "Dnipropetovsk Regional Clinical Ophthalmologic Hospital", Dnipro, Ukraine

Relationship between rs1799983 and rs2070744 polymorphism of the *NOS3* gene with primary open-angle glaucoma

Abstract. ***Background.*** The development of endothelial dysfunction (EDF) significantly impacts the development of primary open-angle glaucoma (POAG) due to its ability to provoke vasoconstriction and ischemia of the optic nerve, which accelerates the progression of glaucomatous optic neuropathy. Patients with a hereditary predisposition to the development of EDF due to polymorphism of the endothelial NO-synthase *(NOS3)* genes may also be prone to the development of POAG. The study was aimed to establish the relationship of the rs1799983 and rs2070744 polymorphisms of the *NOS3* gene with primary open-angle glaucoma. ***Material and methods.*** The data of 153 patients (153 eyes) with POAG and 47 controls were analyzed. The age of the patients was 65.0 ± 13.1 years; the duration of the disease was 4.9 ± 5.3 years. A real-time polymerase chain reaction was performed in the blood of patients (Gene Amp® PCR System 7500 Amplifier; USA) using the TaqMan Mutation Detection Assays Life-Technology test system (USA). Statistica 10 software (StatSoft, Inc., USA) was used for statistical processing of the obtained results. ***Results.*** In POAG patients, an increase in the frequency of the minor *TT* homozygote rs1799983 (2.8 times; $P_{Fet} = 0.023$) and a decrease in the frequency of the minor *TT* homozygote rs2070744 (1.9 times; $P_{Fet} = 0.049$) were found when compared with the control. The effect of rs1799983 genotypes on the distribution of patients was statistically significant for stages III and IV ($p < 0.02$), and the effect of rs2070744 genotypes was only for stage IV ($p = 0.006$). A relationship with POAG of alleles *T* rs1799983 ($p = 0.016$) and *C* rs2070744 ($p = 0.025$) was established, which, when stratified by stages, remained for III and IV ($p < 0.025$). Carriers of genotype *TT* rs1799983, in comparison with carriers of other genotypes, had higher intraocular pressure, worse perimetry results, less RNFL and GCC thickness, and higher Cup/Disk Area Ratio. Carriers of the *CC* rs2070744 genotype, in comparison with carriers of the *TT* genotype, had worse results of the perimetric examination and a smaller thickness of RNFL and GCC. ***Conclusions.*** The results obtained confirmed the presence of a relationship between the rs1799983 and rs2070744 polymorphisms of the *NOS3* gene with POAG in patients of the Ukrainian population. The mechanism of realization of the influence of polymorphisms can be considered a tendency to develop EDF, which can accelerate the progression of glaucomatous optic neuropathy.

Keywords: primary open-angle glaucoma; endothelial dysfunction; *NOS3* gene; rs1799983; rs2070744