

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ  
ДНІПРОВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ  
ДНІПРОВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Кваліфікаційна наукова  
праця на правах рукопису

**ІСАЄВ ОЛЕКСІЙ АНДРІЙОВИЧ**

УДК: 617.7-007. 681-06-07-084:575.1

**ДИСЕРТАЦІЯ**

**РАННЯ ДІАГНОСТИКА РОЗВИТКУ ТА ПРОГНОЗУВАННЯ УСКЛАДНЕНЬ  
У ХВОРИХ НА ПЕРВИННУ ВІДКРИТОКУТОВУ ГЛАУКОМУ**

22 – Охорона здоров'я

222 – Медицина

Подається на здобуття ступеню доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

Олексій ІСАЄВ

*(підпис, ініціали та прізвище здобувача)*

Науковий керівник Сердюк Валерій Миколайович, доктор медичних наук, професор

Дніпро – 2023

## АНОТАЦІЯ

*Ісаєв О. А.* Рання діагностика розвитку та прогнозування ускладнень у хворих на первинну відкритокутову глаукому. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття ступеня доктора філософії за спеціальністю 222 – «Медицина», 22 – «Охорона здоров'я». – Дніпровський державний медичний університет МОЗ України, Дніпро, 2023.

Дисертація присвячена вирішенню актуального завдання сучасної офтальмології – удосконаленню ранньої діагностики розвитку та прогнозування ускладнень у пацієнтів з первинною відкритокутовою глаукомою (ПВКГ) на підставі проведення комплексного клінічного, офтальмологічного та молекулярно-генетичного дослідження однонуклеотидні варіації (SNV) *rs1799983* і *rs2070744* гену ендотеліальної NO-синтази (*NOS3*).

**Обґрунтування вибору теми дослідження.** В світі налічується близько 60,5 млн. хворих на глаукому, 20 % з яких мають невиліковну стадію, а часткова втрата працездатності через глаукому за останні 25 років збільшилася на 122% з піком до 60 років. Поширеність глаукоми в Україні сягає 612,7 на 100 000 населення і виходить на перше місце серед інвалідизуючих захворювань по зору. Перше місце за показником незворотної втрати зору, що є причиною інвалідності, займає ПВКГ, доля якої складає більш ніж 5 % всіх випадків.

Наростання дегенеративних та патобіохімічних порушень при глаукомі призводять до підвищення рівня внутрішньоочного тиску. Вагомим фактором патогенезу ПВКГ є пошкодження ендотелію з вивільненням ендотеліальних вазоактивних поліпептидів і зниженням продукції ендотеліальної NO-синтази. Сумація негативної дії цих процесів з підвищеним рівнем внутрішньоочного тиску обумовлює порушення дифузії, кризу мікроциркуляції, апоптозу гангліозних клітин з формуванням глаукомної оптичної нейропатії.

Генетична детермінованість виникнення та прогресування ПВКГ дає змогу виділити низку генів-кандидатів, серед яких значний науковий інтерес мають

однонуклеотидні варіації (SNV) гена *NOS3* через його вплив на формування ендотеліальної дисфункції. Особливу увагу привертає SNV *rs1799983* (*G894T, Glu298Asp*) гена *NOS3*. Генотип *TT* та алель *T* SNV *rs1799983* гена *NOS3* асоційований із зниженням активності eNOS. Цей синонімічний SNV локалізований на 7 хромосомі (chr7:150999023; GRCh38.p12) та являє собою місенс-мутацію, при якій предковий триплет *GAT* (кодує аспарагінову кислоту) змінюється на *GAG/GAA* (кодує глютамінову кислоту) – *89T>A,G*.

Іншим перспективним SNV гена *NOS3* для вивчення впливу на розвиток ПБКГ є *rs2070744* (*T-786C NOS3*) з генною локалізацією 7q36.1 (7:150992991; GRCh38). Отже, аналіз літератури щодо ролі генів-кандидатів в розвитку ПБКГ показав вагомий вплив SNV *NOS3*. Визначення зв'язку SNV *rs1799983* і *rs2070744* гена *NOS3* з розвитком та прогресуванням ПБКГ, клінічними проявами захворювання, дозволить вдосконалити її ранню діагностику та прогнозування ускладнень.

**Мета дослідження** полягала у встановленні діагностичної значимості однонуклеотидних варіантів генів *rs1799983* і *rs2070744* гену ендотеліальної NO-синтази при первинній відкритокутовій глаукомі.

#### **Завдання дослідження:**

1. Встановити особливості перебігу та прогресування ПБКГ у дослідженій групі пацієнтів.
2. Встановити вплив SNV *rs1799983* (*G894T, Glu298Asp*) гена *NOS3* на розвиток ПБКГ, а також його зв'язок з віком, статтю та показниками офтальмологічного обстеження.
3. Встановити вплив SNV *rs2070744* (*T-786C*) гена *NOS3* на розвиток ПБКГ, а також його зв'язок з віком, статтю та показниками офтальмологічного обстеження.
4. Встановити вплив SNV *rs1799983* та *rs2070744* гена *NOS3* при стратифікації за стадіями ПБКГ.
5. Встановити інформативність ризикових генотипів SNV *rs1799983* та *rs2070744* гена *NOS3*, визначити швидкість прогресії ПБКГ у носіїв різних генотипів.

6. Розробити модель прогнозування розвитку та швидкості прогресії ПВКГ, та використовувати її в клінічній практиці для ранньої діагностики та прогнозування ускладнень при даній патології.

*Об'єкт дослідження:* первинна відкритокутова глаукома (МКХ-10:Н40.1).

*Предмет дослідження:* особливості клінічного перебігу ПВКГ; розподіл генотипів SNV *rs1799983* та *rs2070744* гена *NOS3* у пацієнтів з ПВКГ та у контрольній групі; зв'язок SNV з розвитком та швидкістю прогресування ПВКГ.

*Методи дослідження:* клінічні, офтальмологічні (візометрія, периметрія Humphrey, рефрактометрія, тонометрія, біомікроскопія, гоніоскопія, офтальмоскопія, оптична когерентна томографія), молекулярно-генетичні (SNV *rs1799983* та *rs2070744* гена *NOS3*) із застосуванням полімеразної ланцюгової реакції у реальному часі, статистичні та математичні.

### **Наукова новизна отриманих результатів**

За результатами даного дослідження переважна кількість обстежених пацієнтів мала ПВКГ III стадії (52,94 %), приблизно однакова кількість пацієнтів була з іншими стадіями: 11,76 % – з I стадією; по 17,65 % з II і IV стадіями. За стадіями ПВКГ була відмічена статистично значуще збільшення тривалості захворювання: від 1 року (95 % ДІ 0,60 – 1,36) при I стадії ПВКГ до 5,9 років (95 % ДІ 4,15 – 7,62) при IV ( $p < 0,001$ ). Всі офтальмологічні показники закономірно погіршувалися від I до IV стадії ( $p < 0,001$ ).

За даними ROC аналізу, найбільшу прогностичну здатність щодо діагностики певної стадії ПВКГ мало відношення площі екскавації до площі диску зорового нерва (Cup/Disk Area Ratio) – AUC=0,904 (95 % ДІ 0,830 - 0,953;  $p < 0,001$ ), що дозволяло вважати цей показник самим чутливим (Se=95,56 %) та специфічним (Sp=100,0%) для діагностики ПВКГ всіх стадій.

Вперше отримано дані по розподілу вивчених генетичних SNV у пацієнтів на ПВКГ з української популяції Дніпропетровської області. Наявність генотипу TT SNV *rs1799983* (G894T, Glu298Asp) гена *NOS3* була фактором ризику ПВКГ (ВШ=1,806; 95 % ДІ 1,11 - 2,93;  $p = 0,016$ ). Носії генотипу TT мали у 3,3 рази

( $p < 0,001$ ) більший ризик ПБКГ, ніж носії інших генотипів ( $GG+GT$ ).

Стратифікація за статтю показала збереження зв'язку з ПБКГ у жінок-носієнок ризикового алелю  $T$  (ВШ=2,00; 95 % ДІ 1,01 - 3,95;  $p=0,043$ ).

Встановлено, що за наявністю ризикового генотипу  $TT$  та алелю  $T$   $rs1799983$ , ПБКГ розвивалася у більш молодшому віці, такі особи мали вищий внутрішньочний тиск, гірші показники периметрії (MD та PSD), меншу товщину шарів нервових волокон сітківки (RNFL) та комплексу гангліозних клітин макули (GCC), більше відношення площі екскавації до площі диску зорового нерва (Cup/Disk Area Ratio).

Вперше встановлено, що алельний SNV  $rs1799983$  ( $G894T$ , Glu298Asp) гена  $NOS3$   $rs2070744$  гену  $NOS3$  мав протективний ефект у відношенні розвитку ПБКГ (для алелю  $T$ : ВШ=0,589; 95% ДІ 0,370-0,938;  $p=0,025$ ). Носії алелю  $T$  мали кращі показники периметрії (MD та PSD) та більшу товщину шарів нервових волокон сітківки (RNFL) і комплексу гангліозних клітин макули (GCC).

Встановлена генетична схильність до розвитку ПБКГ у носіїв предкового алелю  $C$   $rs2070744$  (ВШ=1,699; 95 % ДІ 1,066-2,706;  $p=0,025$ ), у яких захворювання розвивалося у молодшому віці та супроводжувалося швидким розвитком, гіршими показниками периметрії та більш вираженою дистрофією шарів сітківки у порівнянні з носіями інших генотипів.

Розширено знання: при стратифікації за стадіями ПБКГ мала місце залежність офтальмологічних показників від генотипів обох SNV – гірші показники були визначені для носіїв генотипів  $TT$   $rs1799983$  і  $CC$   $rs2070744$ , що зберігалось для III та IV стадій.

Вперше встановлено, що носії комбінації генотипів  $rs1799983$ - $rs2070744$   $GT$ - $CC$  та  $TT$ - $CC$  мали суттєво збільшений ризик ПБКГ: ВШ=4,39 (95% ДІ 1,00-19,30;  $p=0,048$ ) і ВШ=14,15 (95% ДІ 1,88-106,28;  $p < 0,001$ ), відповідно. Швидкість прогресії ПБКГ була більшою у носіїв комбінації генотипів  $TT$ - $CC$ ,  $GT$ - $CC$  та  $GT$ - $CT$ . За кожною з цих комбінацій генотипів швидкість прогресії ПБКГ була більшою у жінок, ніж у чоловіків.

### **Практична значимість отриманих результатів**

При обстеженні пацієнтів з ПВКГ необхідно враховувати наявність генотипів ризику SNV *rs1799983* та *rs2070744* гена *NOS3*. З урахуванням їх наявності та статі побудована порядкова регресійна модель швидкості прогресії обтяження захворювання ПВКГ із задовільними показниками прогнозу (AUC=0,953; 95 % ДІ 0,912 - 0,979;  $p < 0,001$ ).

Проведено розрахунок «спадково зумовленого» віку пацієнтів, в якому слід очікувати ту чи іншу стадію ПВКГ. За наявності одного з ризикових алелів (комбінації генотипів *GG-CT*, *GT-TT*, *GG-CC*) вік виникнення ПВКГ зменшувався (до 22-39 років), але вік розвитку III та IV стадій прогнозувався дуже високим (понад 84 роки). За наявності двох ризикових алелів суттєво зменшувалися і вік виникнення, і вік розвитку ПВКГ високих стадій, що особливо було притаманно носіям комбінації генотипів *TT-CC*.

**Ключові слова:** первинна відкритокутова глаукома, однонуклеотидні варіанти генів, *rs1799983*, *rs2070744*, ген ендотеліальної NO-синтази (*NOS3*).

## СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

*Наукові праці, в яких опубліковані основні результати дисертації:*

1. Сердюк В.М., Ісаєв О.А., Устименко С.Б., Сердюк А.В. Генетичні предиктори судинної регуляції прогресування глаукомної оптичної нейропатії у пацієнтів з первинною відкритокутовою глаукомою. Український журнал «Офтальмологія». 2021;3(14). <https://doi.org/10.30702/Ophthalmology27082021-14.3.43-50/3-06-07> (Дисертантом особисто здійснено теоретичне обґрунтування дизайну дослідження, проведено клінічне обстеження хворих, статистично опрацьовано результати, обґрунтовано висновки, підготовлено матеріал до публікації, здійснено підбір літератури та її узагальнення)
2. Исаев А.А., Сердюк В.Н., Устименко С.Б. Распространенность и эпидемиология первичной открытоугольной глаукомы. Офтальмология. Восточная Европа. 2021;11(3):343-54. <https://doi.org/10.34883/PI.2021.11.3.033> (Дисертантом особисто здійснено теоретичне обґрунтування дизайну дослідження, проведено клінічне обстеження хворих, статистично опрацьовано результати, обґрунтовано висновки, підготовлено матеріал до публікації, здійснено підбір літератури та її узагальнення)
3. Ісаєв О.А. Зв'язок поліморфізму rs1799983 і rs2070744 гена NOS3 з первинною відкритокутовою глаукомою. «Архів офтальмології України» Том 10, №1, 2022 р. 10-16 стор. DOI: <https://doi.org/10.22141/2309-8147.10.1.2022.286>
4. O. A. Isaiev, V. M. Serdiuk. Association of primary open-angle glaucoma with endothelial NO-synthase (NOS3) rs2070744 (T-786C) in a Ukrainian population. J.opthalmol.(Ukraine). 2022;3:3-9. <http://doi.org/10.31288/oftalmolzh2022339>. (Дисертантом особисто здійснено теоретичне обґрунтування дизайну дослідження, проведено клінічне обстеження хворих, статистично опрацьовано результати, обґрунтовано висновки, підготовлено матеріал до публікації, здійснено підбір літератури та її узагальнення)
5. О.А.Ісаєв, В.М.Сердюк. Прогнозування швидкості прогресії первинної

відкритокутової глаукоми у залежності від статі та поліморфізму гена ендотеліальної NO-синтази (NOS3). Медичні перспективи. 2022. Т. 27, № 4. С. 159-168. <https://doi.org/10.26641/2307-0404.2022.4.271215> (Дисертантом особисто здійснено теоретичне обґрунтування дизайну дослідження, проведено клінічне обстеження хворих, статистично опрацьовано результати, обґрунтовано висновки, підготовлено матеріал до публікації, здійснено підбір літератури та її узагальнення)

6. Oleksii Isaiev, Valerii Serdiuk, Denys Ziablitsev. Predicting the occurrence of primary open-angle glaucoma depending on genetic polymorphism endothelial NO synthase (NOS3) gene. Wiadomości Lekarskie, VOLUME LXXV, ISSUE 12, DECEMBER 2022. DOI: <https://doi.org/10.36740/WLek202212133> (Дисертантом особисто здійснено теоретичне обґрунтування дизайну дослідження, проведено клінічне обстеження хворих, статистично опрацьовано результати, обґрунтовано висновки, підготовлено матеріал до публікації, здійснено підбір літератури та її узагальнення)

7. Pallikaris., V.M. Serdiuk., S.B. Ustymenko., O.A. Isaiev. Influence of rs1799983 (G894T, Glu298Asp) NOS3 on the primary open-angle glaucoma development. Medicni perspektivi. 2022;27(1):117-123. <https://doi.org/10.26641/2307-0404.2022.1.254376>. (Дисертантом особисто здійснено теоретичне обґрунтування дизайну дослідження, проведено клінічне обстеження хворих, статистично опрацьовано результати, обґрунтовано висновки, підготовлено матеріал до публікації, здійснено підбір літератури та її узагальнення)

*Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:*

8. Сердюк В.М., Ісаєв О.А. Частота поліморфізму GLU298ASP гена ендотеліальної посинтази у пацієнтів з первинною відкритокутовою глаукомою. Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю «Філатовські читання-2021», 20-21 травня 2021. Одеса, “Чорномор’я”. – 2021. – С. 98-99.

9. Сердюк В.М., Ісаєв О.А. Роль поліморфізмів rs1799983 і rs2070744 гена



ендотеліальної NO-синтази в розвитку первинної відкритокутової глаукоми. В кн.: «СВОЄ ДИТИНСТВО ТРЕБА БАЧИТИ`21»: ІХ науково-практична конференція дитячих офтальмологів та оптометристів України з міжнародною участю, 10-12 червня 2021 року: збірник праць / Під ред. проф.есора С. О. Рикова // Бугаз Одеської області. – 2021. – С. 142-144.

10. Сердюк В.М., Ісаєв О.А. Поширеність та епідеміологія первинної відкритокутової глаукоми. Український журнал Офтальмологія. 2021 Випуск 3(14). вересень 2021 р. Конференція з міжнародною участю Glaucoma +2021. <http://surl.li/ejckf>

11. Ісаєв О.А, Сердюк В.М., Устименко С.Б. Вплив поліморфізму rs1799983 (G894T, Glu298Asp) гена NOS3 на розвиток первинної відкритокутової глаукоми. Український журнал Офтальмологія. 2021. Випуск 3(14). Вересень 2021 р. Конференція з міжнародною участю Glaucoma +2021. <http://surl.li/ejckk>

## ANNOTATION

*Isaiev O. A.* Early diagnosis of development and prognosis of complications in patients with primary open-angle glaucoma. – Qualifying scientific work on the rights of the manuscript.

Dissertation for the degree of Philosophy Doctor in specialty 222 – "Medicine", 22 - "Health Care". – Dnipro State Medical University of the Ministry of Health of Ukraine, Dnipro, 2022.

The dissertation is devoted to solving the urgent problem of modern ophthalmology – improvement of early diagnosis of development and prediction of complications in patients with primary open-angle glaucoma (POAG) on the basis of a comprehensive clinical, ophthalmological and molecular genetic study of genetic single nucleotide variation (SNV) *rs1799983* and *rs2070744* of endothelial NO-synthase gene (*NOS3*).

**Rationale for choosing a research topic.** There are about 60.5 million glaucoma patients in the world, 20% of whom have an incurable stage, and partial disability due to glaucoma has increased by 122% over the past 25 years with a peak before 60 years. The prevalence of glaucoma in Ukraine reaches 612.7 per 100,000 population and ranks first among the debilitating diseases of vision. In the first place in terms of irreversible loss of vision, which is the cause of disability is POAG, the share of which is more than 5% of all cases.

Increased degenerative and pathobiochemical disorders in glaucoma lead to increased levels of intraocular pressure. An important factor in the pathogenesis of POAG is endothelial damage with the release of endothelial vasoactive polypeptides and reduced production of endothelial NO-synthase. The sum of the negative effects of these processes with high levels of intraocular pressure causes diffusion disorders, microcirculation crisis, apoptosis of ganglion cells with the formation of glaucomatous optic neuropathy.

The genetic determinism of the onset and progression of POAG makes it possible to identify a number of candidate genes, among which the single nucleotide variation (SNV) of the *NOS3* gene is of significant scientific interest due to its influence on the formation of endothelial dysfunction. The *rs1799983* SNV (*G894T*, Glu298Asp) of the *NOS3* gene attracts

special attention. The TT SNV rs1799983 genotype of the NOS3 gene is associated with a decrease in eNOS activity. This synonymic SNV is located on chromosome 7 (chr7: 150999023; GRCh38.p12) and is a missense mutation in which the ancestral triplet GAT (encoding aspartic acid) changes to GAG/GAA (encoding glutamic acid) –89T>A,G.

Another promising SNV of the NOS3 gene for studying the influence on the development of POAG is rs2070744 (T-786C NOS3) with gene localization 7q36.1 (7: 150992991; GRCh38). Thus, the analysis of the literature on the role of candidate genes in the POAG development showed a significant influence of NOS3SNV. Determining the relationship of SNV variants rs1799983 and rs2070744 with the development and progression of POAG, clinical manifestations of the disease will improve its early diagnosis and prediction of complications.

**The aim of the study** was to establish the diagnostic significance of single nucleotide variation rs1799983 and rs2070744 of the endothelial NO-synthase gene in primary open-angle glaucoma.

***The objectives of the study were the following:***

1. To establish the features of the course and progression of POAG in the studied group of patients.
2. To establish the influence of the rs1799983 (G894T, Glu298Asp) SNV of the NOS3 gene on the POAG development, as well as its relationship with age, sex and ophthalmic examination.
3. To establish the influence of rs2070744 (T-786C) SNV of the NOS3 gene on the POAG development, as well as its relationship with age, sex and ophthalmic examination.
4. To establish the influence of SNVrs1799983 and rs2070744 of the NOS3 gene during stratification by stages of POAG.
5. To determine the informativeness of risk genotypes SNV rs1799983 and rs2070744 of the NOS3 gene, to determine the rate of progression of POAG in carriers of different genotypes.
6. Develop a model for predicting the development and rate of progression of POAG, and to use it in clinical practice for early diagnosis and prediction of complications in this

pathology.

*Object of study:* primary open-angle glaucoma (ICD-10: H40.1).

*Subject of research:* features of the clinical course of POAG; distribution of genotypes of *rs1799983* and *rs2070744*SNV of the *NOS3* gene in patients with POAG and in the control group; association of SNV with the development and rate of progression of POAG.

*Research methods:* clinical, ophthalmological (visometry, Humphrey perimetry, refractometry, tonometry, biomicroscopy, gonioscopy, ophthalmoscopy, optical coherence tomography), molecular genetic (SNV*rs1799983* and *rs2070744**NOS3* gene) using real-time polymerase chain reaction, statistical and mathematical.

### **The scientific novelty of the obtained results.**

According to the results of this study, the vast majority of surveyed patients had stage III POAG (52.94%), approximately the same number of patients were with other stages: 11.76% – with stage I; 17.65% with stages II and IV. A statistically significant increase in the duration of the disease was noted according to the stages of PVCG: from 1 year (95% CI 0.60 – 1.36) with stage I POAG to 5.9 years (95% CI 4.15 – 7.62) with IV (  $p < 0.001$ ). All ophthalmological indicators naturally worsened from I to IV stage ( $p < 0.001$ ).

According to ROC analysis, the ratio of the area of excavation to the area of the optic nerve disc (Cup/Disk Area Ratio) had the greatest predictive power for the diagnosis of a certain stage of POAG - AUC=0.904 (95% CI 0.830 - 0.953;  $p < 0.001$ ), which allowed us to consider this the indicator is the most sensitive (Se=95.56%) and specific (Sp=100.0%) for the diagnosis of PVCG of all stages.

For the first time, data on the distribution of the studied genetic SNV in patients on POAG from the Ukrainian population of the Dnipropetrovsk region were obtained. The presence of the TT and allele T SNV *rs1799983* (G894T, Glu298Asp) genotype of the *NOS3* gene was a risk factor for POAG (OR=1.806; 95% CI 1.11-2.93;  $p = 0.016$ ). Carriers of the TT genotype had a 3.3-fold higher risk( $p < 0.001$ )of POAG than carriers of other genotypes (*GG+GT*).

Stratification by sex showed that the association with POAG was maintained in women with the risk *T* allele (OR=2.00; 95%CI 1.01-3.95;  $p = 0.043$ ).

It was found that due to the risk *TT* genotype and *T* allele *rs1799983*, POAG developed at a younger age, such individuals had higher internal pressure, worse perimetry (MD and PSD), less thickness of the retinal nerve fibers (RNFL) and ganglionic macula cells (GCC), greater ratio of excavation area to optic disc area (Cup/Disk Area Ratio).

Installed for the first time that the *rs2070744* allelic SNV of the *NOS3* gene had a protective effect against the development of POAG (for the *T* allele: OR=0.589; 95% CI 0.370-0.938;  $p=0.025$ ). *T* allele carriers had better perimetry (MD and PSD) and greater thickness of the retinal nerve fibers (RNFL) and macular ganglion cell complex (GCC).

Genetic predisposition to the development of POAG in carriers of the ancestral allele *rs2070744* (OR=1.699; 95% CI 1.066-2.706;  $p=0.025$ ), in which the disease developed at a young age and was accompanied by rapid development, worse perimetry and more pronounced dystrophy of the layers in comparison with carriers of other genotypes.

Expanded knowledge: it was shown that ophthalmic parameters depended on the genotypes of both polymorphisms during stratification by POAG stages – the worst indicators were determined for carriers of *TT rs1799983* and *CC rs2070744* genotypes, which was preserved for III and IV stages.

For the first time, it was established that carriers of a combination genotypes *rs1799983-rs2070744GT-CC* and *TT-CC* had a significantly increased risk of POAG: OR=4.39 (95% CI 1.00-19.30;  $p=0.048$ ) and OR=14.15 (95% CI 1.88-106.28;  $p<0.001$ ), respectively. The rate of POAG progression was higher in carriers of a combination genotypes: *TT-CC*, *GT-CC* and *GT-CT*. For each of these combination genotypes, the rate of progression of POAG was higher in women than in men.

### **The practical significance of the obtained results.**

The presence of risk genotypes SNV *rs1799983* and *rs2070744* of the *NOS3* gene must be taken into account when examining patients with POAG. Taking into account their presence and gender, an ordinal regression model of the rate of progression of the disease burden of POAG was built with satisfactory prognosis indicators (AUC=0.953; 95% CI 0.912 - 0.979;  $p<0.001$ ).

The calculation of the "hereditary" age of patients, in which one or another stage of

POAG should be expected, was calculated. In the presence of one of the risk alleles (combination genotypes *GG-CT*, *GT-TT*, *GG-CC*) the age of onset of POAG decreased (up to 22-39 years), but the age of development of stages III and IV was predicted to be very high (over 84 years). In the presence of two risk alleles, both the age of onset and the age of development of high-grade POAG significantly decreased, which was especially characteristic of carriers of the *TT-CC* combination genotypes.

**Key words:** *primary open-angle glaucoma, single nucleotide variants of genes, rs1799983, rs2070744, endothelial NO-synthase (NOS3) gene.*

## ЗМІСТ

	С.
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ	17
ВСТУП	18
РОЗДІЛ 1 СУЧАСНІ ПОГЛЯДИ НА ДІАГНОСТИКУ ТА ФАКТОРИ РИЗИКУ ПЕРВИННОЇ ВІДКРИТОКУТОВОЇ ГЛАУКОМИ (огляд літератури)	25
1.1. Розповсюдженість первинної відкритокутової глаукоми	25
1.2. Діагностика первинної відкритокутової глаукоми	28
1.3. Фактори розвитку та патогенез первинної відкритокутової глаукоми	29
1.4. Вплив однонуклеотидних варіацій генів-кандидатів на розвиток первинної відкритокутової глаукоми	35
РОЗДІЛ 2 ДИЗАЙН ДОСЛІДЖЕННЯ. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	42
2.1. Загальна характеристика хворих та дизайн дослідження	42
2.2. Методи офтальмологічного обстеження пацієнтів	43
2.3. Методи молекулярно-генетичних досліджень	44
2.4. Методи статистичних досліджень	47
РОЗДІЛ 3 АНАЛІЗ КЛІНІКО-ЛАБОРАТОРНИХ ТА ОФТАЛЬМОЛОГІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ	50
3.1. Результати клінічного та офтальмологічного обстеження	50
РОЗДІЛ 4 ЗВ'ЯЗОК ОДНОНУКЛЕОТИДНИХ ВАРІАЦІЙ rs1799983 та rs2070744 ГЕНА ЕНДОТЕЛІАЛЬНОЇ NO-СИНТАЗИ З ПЕРВИННОЮ ВІДКРИТОКУТОВОЮ ГЛАУКОМОЮ	60
4.1. Вплив однонуклеотидних варіацій rs1799983 ( <i>G894T</i> , <i>Glu298Asp</i> ) гена <i>NOS3</i> на розвиток первинної відкритокутової глаукоми	60
4.2. Зв'язок первинної відкритокутової глаукоми з	68

однонуклеотидними варіаціями *rs2070744* (T-786C) гена ендотеліальної NO-синтази (*NOS3*)

4.3. Зв'язок однонуклеотидних варіацій *rs1799983* та *rs2070744* гена *NOS3* з різними стадіями первинної відкритокутової глаукоми 75

РОЗДІЛ 5 ПРОГНОЗ РОЗВИТКУ ТА ПРОГРЕСУВАННЯ ПЕРВИННОЇ ВІДКРИТОКУТОВОЇ ГЛАУКОМИ 84

5.1. Прогнозування виникнення первинної відкритокутової глаукоми у залежності від однонуклеотидних варіацій гена ендотеліальної NO-синтази (*NOS3*) 84

5.2. Прогнозування швидкості прогресії первинної відкритокутової глаукоми у залежності від статі та однонуклеотидних варіацій гена ендотеліальної NO-синтази (*NOS3*) 89

РОЗДІЛ 6 АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ 98

ВИСНОВКИ 106

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ 109

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ 110

ДОДАТКИ 130



**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ**

ВОТ	– внутрішньоочний тиск;
ВШ	– відношення шансів;
ГОН	– глаукомна оптична нейропатія;
ДІ	– довірчий інтервал;
ЕДФ	– ендотеліальна дисфункція;
МГЗК	– максимальна гострота зору з корекцією;
ОКТ	– оптична когерентна томографія;
ПВКГ	– первинна відкритокутова глаукома;
CDAR	– Cup/Disk Area Ratio (відношення площі екскавації до площі диску зорового нерва даними ОКТ);
GCC	– товщина комплексу гангліозних клітин макули;
NO	– оксид азоту;
NOS3	– ендотеліальна NO-синтаза (eNOS);
RNFL	– товщина шару нервових волокон сітківки;
SNV	– однонуклеотидна варіація генів

## ВСТУП

**Обґрунтування вибору теми дослідження.** Проблема вивчення первинної відкритокутової глаукоми (ПВКГ) з року в рік стає все більш актуальною. Зростання захворюваності на глаукому демонструє швидкий непередбачуваний ріст: за даними [151] в 2013 році кількість людей з виявленою глаукомою віком від 40 до 80 років становила 64,3 млн., прогнозована кількість таких пацієнтів в 2020 досягне 76,0 млн., а до 2040 року - 111,8 млн. Частка ПВКГ зросла з 2,35 млн. (95% ДІ 1,54-3,60) у 1990 до 5,22 млн. людей (95% ДІ 3,40-7,98) у 2015 році і загалом складає до 40% всіх випадків глаукоми [143]. В світі, серед населення віком від 40 до 80 років, розповсюдженість ПВКГ становить 3,54% (95% ДІ 2,09-5,82) [21, 28].

Поширеність глаукоми в Україні в 2016 році була 609,4 на 100 000 населення, в 2017 році цей показник досяг 612,7 на 100 000 серед дорослого населення у віці від 18 до 100 років і старше [11]. З 2015 року глаукома вийшла на перше місце серед захворювань, що призводять до інвалідності по зору в Україні з показником захворюваність 200 тис. хворих у 2020 році, з приростом понад 20 тис. випадків за рік [2].

Прогресуюча дегенерація гангліозних клітин сітківки, мікроглії, астроцитів, клітин Мюллера призводять до хронічного ушкодження, стоншення нейроретинального шару та звуження зорового поля [73, 108, 131, 161]. Ще в 1994 році Йозеф Фламер [51] описав первинну дисрегуляцію судин як стан, що тимчасово порушує адаптацію кровотоку до потреб тканин. В цьому плані в патогенезі ПВКГ особливе значення належить механізмам розвитку ендотеліальної дисфункції (ЕДФ) [110].

Ендотелій – біологічно активний моноцитарний шар на кордоні крові і судинної стінки, який виконує безліч функцій, включаючи регуляцію тону судинної стінки, її проникності, реологічних властивостей крові і гемостазу,

клітинної адгезії, проліферації клітин судин, активації тромбоцитів, фібринолізу і запальних реакцій [89, 155].

Фізіологічна функція ендотеліальної клітини полягає в синтезі NO з L-аргініну за рахунок ферменту ендотеліальної NO-синтази (eNOS; NOS3), що сприяє NO-залежній релаксації судин. NOS3 локалізована на клітинній мембрані і залежить від кальцію і кальмодуліну [41, 74]. Підтримання мікроциркуляції на достатньому рівні забезпечується завдяки інгібуванню адгезії і агрегації тромбоцитів, обмеженню активації коагуляційних механізмів в каскадах взаємодій тромбомодулін/протеїн С, гепарин/антитромбін і плазіноген/плазмін та регуляції фібринолізу [93, 124, 140].

Моніторинг глаукоми HUG-5 (Health Utility for Glaucoma-5 sizes) на різних її стадіях серед чоловіків та жінок віком від 40 до 69 років показав, що виявлення генетичної схильності до цього захворювання дає нові можливості для діагностики, ранньої профілактики та лікування [80, 111]. Чітко встановленим можна вважати факт, що значна частка випадків ПБКГ є генетично обумовленою та має чітку спадкову схильність, яку по різних оцінкам визначають від 20% до 60% [101].

В плані досліджень генетичних SNV особливу увагу привертає SNV rs1799983 (*G894T*, Glu298Asp) гена *NOS3*. Його мінорна алель *T* асоційована із зниженням активності eNOS. Цей SNV локалізований на 7 хромосомі (chr7:150999023; GRCh38.p12) та являє собою місенс-мутацію, при якій предковий триплет GAT (кодує аспарагінову кислоту) змінюється на GAG/GAA (кодує глютамінову кислоту) – 89T>A,G [71, 103]. Іншим перспективним SNV гена *NOS3* для вивчення впливу на розвиток ПБКГ є rs2070744 (*T-786C NOS3*) з генною локалізацією 7q36.1 (7:150992991; GRCh38). SNV локалізується у інtronі гену та є протективним для розвитку ПБКГ [130].

Таким чином, аналіз літератури щодо ролі генів-кандидатів в розвитку ПБКГ показав вагомий вплив SNV *NOS3*. Визначення зв'язку SNV rs1799983 і rs2070744 з розвитком та прогресуванням ПБКГ, клінічними проявами захворювання дозволить вдосконалити її ранню діагностику та профілактику ускладнень.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертаційна

робота була виконана на кафедрі офтальмології Дніпровського державного медичного університету і є фрагментом науково-дослідної роботи «Вдосконалення діагностики і патогенетично обґрунтованого лікування дистрофічних, судинних та запальних захворювань ока» (№ держреєстрації 0121U111440; 01.2021 – 12.2024 р.р.), в якій дисертант був співвиконавцем.

**Мета дослідження** – встановити діагностичну значимість SNV *rs1799983* і *rs2070744* гену ендотеліальної NO-синтази при первинній відкритокутовій глаукомі.

**Завдання дослідження:**

1. Встановити особливості перебігу та прогресування ПВКГ у дослідженій групі пацієнтів.
2. Встановити вплив SNV *rs1799983* (*G894T*, *Glu298Asp*) гена *NOS3* на розвиток ПВКГ, а також його зв'язок з віком, статтю та показниками офтальмологічного обстеження.
3. Встановити вплив SNV *rs2070744* (*T-786C*) гена *NOS3* на розвиток ПВКГ, а також його зв'язок з віком, статтю та показниками офтальмологічного обстеження.
4. Встановити вплив SNV *rs1799983* та *rs2070744* гена *NOS3* при стратифікації за стадіями ПВКГ.
5. Встановити ризикові генотипи SNV *rs1799983* та *rs2070744* гена *NOS3*, визначити темпи прогресії ПВКГ у носіїв різних генотипів.
6. Розробити модель прогнозування розвитку та темпів прогресії ПВКГ, та використовувати її в клінічній практиці для ранньої діагностики та профілактики ускладнень при даній патології.

**Об'єкт дослідження:** первинна відкритокутова глаукома (МКХ-10:H40.1).

**Предмет дослідження:** особливості клінічного перебігу ПВКГ; розподіл генотипів SNV *rs1799983* та *rs2070744* гена *NOS3* у пацієнтів з ПВКГ та у контрольній групі; зв'язок SNV з розвитком та темпами прогресування ПВКГ.

**Методи дослідження:** клінічні, офтальмологічні (візометрія, периметрія Humphrey, рефрактометрія, тонометрія, біомікроскопія, гоніоскопія, офтальмоскопія, оптична когерентна томографія), молекулярно-генетичні (SNV

*rs1799983* та *rs2070744* гена *NOS3*) із застосуванням полімеразної ланцюгової реакції у реальному часі, статистичні та математичні.

**Наукова новизна отриманих результатів.** За результатами даного дослідження переважна кількість обстежених пацієнтів мала ПБКГ III стадії (52,94%), приблизно однакова кількість пацієнтів була з іншими стадіями: 11,76% – з I стадією; по 17,65% з II і IV стадіями. За стадіями ПБКГ була відмічена статистично значуща тенденція до збільшення тривалості захворювання: від 1 року (95 % ДІ 0,60 – 1,36) при I стадії ПБКГ до 5,9 років (95 % ДІ 4,15 – 7,62) при IV (p<0,001). Всі офтальмологічні показники закономірно погіршувалися від I до IV стадії (p<0,001).

За даними ROC аналізу, найбільшу прогностичну здатність щодо діагностики певної стадії ПБКГ мало відношення площі екскавації до площі диску зорового нерва (Cup/Disk Area Ratio) – AUC=0,904 (95 % ДІ 0,830 - 0,953; p<0,001), що дозволяло вважати цей показник самим чутливим (Se=95,56 %) та специфічним (Sp=100,0%) для діагностики ПБКГ всіх стадій.

Вперше отримано дані по розподілу вивчених генетичних SNV у пацієнтів на ПБКГ з української популяції Дніпропетровської області. Наявність генотипу TT SNV *rs1799983* (G894T, Glu298Asp) гена *NOS3* була фактором ризику ПБКГ (ВШ=1,806; 95% ДІ 1,11 - 2,93; p=0,016). Носії генотипу TT мали у 3,3 рази (p<0,001) більший ризик розвитку ПБКГ, ніж носії інших генотипів (GG+GT). Стратифікація за статтю показала збереження зв'язку з ПБКГ у жінок-носійок ризикового алелю T (ВШ=2,00; 95 % ДІ 1,01-3,95; p=0,043).

Встановлено, що за наявністю ризикового генотипу TT та алелю T *rs1799983*, ПБКГ розвивалася у більш молодому віці, такі особи мали вищий внутрішньочний тиск, гірші показники периметрії (MD та PSD), меншу товщину шарів нервових волокон сітківки (RNFL) та комплексу гангліозних клітин макули (GCC), більше відношення площі екскавації до площі диску зорового нерва (Cup/Disk Area Ratio).

Вперше встановлено, що алельний SNV *rs1799983* (G894T, Glu298Asp) гена *NOS3* *rs2070744* гену *NOS3* мав протективний ефект у відношенні розвитку ПБКГ

(для алелю *T*: ВШ=0,589; 95% ДІ 0,370-0,938;  $p=0,025$ ). Носії алелю *T* мали кращі показники периметрії (MD та PSD) та більшу товщину шарів нервових волокон сітківки (RNFL) і комплексу гангліозних клітин макули (GCC).

Встановлена генетична схильність до розвитку ПВКГ у носіїв предкового алелю *C rs2070744* (ВШ=1,699; 95% ДІ 1,066-2,706;  $p=0,025$ ), у яких захворювання розвивалося у молодшому віці та супроводжувалося швидким розвитком, гіршими показниками периметрії та більш вираженою дистрофією шарів сітківки у порівнянні з носіями інших генотипів.

Показано, що при стратифікації за стадіями ПВКГ мала місце залежність офтальмологічних показників від генотипів обох SNV – гірші показники були визначені для носіїв генотипів *TT rs1799983* і *CC rs2070744*, що зберігалось для III та IV стадій.

Встановлено, що носії комбінації генотипів *rs1799983-rs2070744 GT-CC* та *TT-CC* мали суттєво збільшений ризик ПВКГ: ВШ=4,39 (95% ДІ 1,00-19,30;  $p=0,048$ ) і ВШ=14,15 (95% ДІ 1,88-106,28;  $p<0,001$ ), відповідно. Швидкість прогресії ПВКГ була більшою у носіїв комбінації генотипів *TT-CC*, *GT-CC* та *GT-CT*. За кожною з цих комбінацій генотипів швидкість прогресії ПВКГ була більшою у жінок, ніж у чоловіків.

**Практична значимість отриманих результатів.** При обстеженні пацієнтів з ПВКГ необхідно враховувати наявність генотипів ризику SNV *rs1799983* та *rs2070744* гена *NOS3*. З урахуванням їх наявності та статі побудована порядкова регресійна модель швидкості прогресії ПВКГ із задовільними показниками прогнозу (AUC=0,953; 95 % ДІ 0,912 - 0,979;  $p<0,001$ ).

Проведено розрахунок «спадково зумовленого» віку пацієнтів, в якому слід очікувати ту чи іншу стадію ПВКГ. За наявності одного з ризикових алелів (комбінації генотипів *GG-CT*, *GT-TT*, *GG-CC*) вік виникнення ПВКГ зменшувався (до 22-39 років), але вік розвитку III та IV стадій прогнозувався дуже високим (понад 84 роки). За наявності двох ризикових алелів суттєво зменшувалися і вік виникнення, і вік розвитку ПВКГ високих стадій, що особливо було притаманно

носіям комбінації генотипів *TT-CC*.

**Впровадження в практику.** Наукові результати даної дисертації було впроваджено в навчальний процес та наукову діяльність на кафедрах офтальмології: ДЗ «Запорізької медичної академії післядипломної освіти» МОЗ України, Харківського національного медичного університету МОЗ України, Національного університету охорони здоров'я України імені П.Л. Шупика, Дніпровського державного медичного університету МОЗ України.

Впровадження в практичну діяльність отриманих результатів здійснювалося в КП «Дніпропетровська обласна клінічна офтальмологічна лікарня», КП «Запорізька обласна клінічна лікарня» ЗОР, КНП «Міська клінічна лікарня №14 ім. проф. Л.Л. Гіршмана» ХМР, ТОВ Медичний центр «ОЧІ КЛІНІК», ТОВ «Офтальмологія Груп».

**Особистий внесок здобувача.** Дисертація є науковою роботою, що виконана здобувачем особисто. Обґрунтування, остаточне формулювання мети та завдань дослідження зроблено разом із науковим керівником д.мед.н., професором Сердюком В.М. Пошук та аналіз джерел літератури, написання аналітичного огляду літератури виконано дисертантом особисто. Набір клінічного матеріалу, обстеження хворих, складання протоколів дослідження та ведення первинної документації автором виконано самостійно. Молекулярно-генетичні дослідження були виконані за участю дисертанта в Науково-дослідному інституті експериментальної та клінічної медицини (директор – д.мед.н., професор Натрус Л.В.) Національного медичного університету імені О.О. Богомольця МОЗ України. Статистична та математична обробка результатів клінічних та лабораторних вимірювань виконана автором самостійно. Регресійний аналіз та розробка прогностичних моделей були розроблені дисертантом при консультативній допомозі доцента кафедри менеджменту охорони здоров'я Національного медичного університету ім. О. О. Богомольця МОЗ України к.фіз.-мат.н. Гур'янова В.Г. Наукові роботи, в яких оприлюднені результати досліджень, дисертантом підготовлені та опубліковані самостійно.

**Апробація результатів дисертації.** Матеріали дисертаційної роботи були заслухані на: Науково-практичній конференції з міжнародною участю «Glaucoma + 2021», 3-4 вересня 2021 р., м.Київ; Науково-практичній конференції з міжнародною участю «Ophthalmichub 2021» 1-2 жовтня 2021 року, м.Київ; Науково-практичній конференції з міжнародною участю «П'ятий український Рефракційний пленер'21». 28-30 жовтня 2021 року, м.Київ.

**Публікації.** Основні результати роботи оприлюднено в 11 наукових публікаціях. З них 7 робіт – статті в журналах відповідно до «Переліку наукових фахових видань України, в яких можуть публікуватися результати дисертаційних робіт на здобуття наукових ступенів доктора і кандидата наук», у тому числі – 5 у виданнях, віднесених до бази даних Scopus, 1 робота – у закордонному науковому періодичному виданні з напрямку, з якого підготовлено дисертацію; 4 роботи – тези у матеріалах науково-практичних конференцій, з'їздів, симпозіумів, в тому числі іноземних.

**Структура та обсяг дисертації.** Дисертація викладена українською мовою на 141 сторінці комп'ютерного тексту. Побудована за загальноприйнятою схемою і містить наступні розділи: вступ, огляд літератури, матеріали і методи дослідження, 3 розділи власних досліджень, аналіз і узагальнення результатів дослідження, висновки, практичні рекомендації та список використаних джерел (містить 177 найменувань, займає 19 сторінок), 2 додатки. Дисертація ілюстрована 35 таблицями та 15 малюнками.



## РОЗДІЛ 1

### СУЧАСНІ ПОГЛЯДИ НА ДІАГНОСТИКУ ТА ФАКТОРИ РИЗИКУ ПЕРВИННОЇ ВІДКРИТОКУТОВОЇ ГЛАУКОМИ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

#### 1.1. Розповсюдженість первинної відкритокутової глаукоми

Глаукома розглядається як гетерогенна група захворювань із специфічною зміною біомеханіки передньої та задньої камер ока, результатом чого є збільшення продукції та зменшення відтоку водянистої вологи. Прогресуюча дегенерація гангліозних клітин сітківки, мікроглії, астроцитів, клітин Мюллера, призводять до хронічного ушкодження, стоншення нейроретинального шару та звуження зорового поля [73, 108, 131, 161]. Крім того, зустрічаються дані про визнання глаукоми системним захворюванням, спираючись на зміні морфо-функціональних властивостей еритроцитів [129].

Предметом даного дослідження стала первинна за походженням глаукома з відкритим кутом (ПВКГ) [16]. Саме ПВКГ, за даними багатьох досліджень Американської оптометричної асоціації, є найбільш розповсюдженим видом глаукоми, особливістю якої є безсимптомність розвитку з поступовим зниженням периферичного зору [66]. Причиною цього є пошкодження зорового нерва, неефективність дренажної системи ока з накопиченням рідини та підвищенням ВОТ [152].

Проблема вивчення ПВКГ з року в рік стає все більш актуальною. При аналізі епідеміологічних досліджень за останні півстоліття, зростання захворюваності на глаукому демонструє швидкий непередбачуваний ріст. В 1973 році, вважалося, що загальна кількість хворих на глаукому досягала 20 млн. людей [12], за прогнозами [122] до 2010 року хворих на глаукому буде більш ніж 66 млн., а до 2020 – 79,6 млн. людей.

Ці прогнози майже повністю справдилися, адже згідно до [99], станом на 2018 рік понад 60,5 млн. людей у всьому світі страждають на глаукому. За підрахунками ВООЗ в 2019 році 11,9 млн. людей мали важку стадію глаукоми, яка не піддається лікуванню і веде до незворотної прогресуючої втрати зору [39].

Згідно з глобальним ретроспективним епідеміологічним дослідженням, за показником часткової втрати працездатності спостерігається зростання захворюваності на глаукому на 122 % з 1990 по 2015 рр. незалежно від статі з піком до 60 років [52, 160].

Ретроспективний аналіз розповсюдженості глаукоми в Китаї показав, що кількість пацієнтів за останні 25 років зросла на 7,2 млн. людей: з 5,92 млн. (95% ДІ 4,47-7,97) в 1990 до 13,12 млн. людей (95% ДІ 9,88-17,68) в 2015 році [24].

За даними [151], в 2013 році кількість людей з виявленою глаукомою у віці від 40 до 80 років становила 64,3 млн., прогнозована кількість таких пацієнтів в 2020 досягне 76,0 млн., а до 2040 року – 111,8 млн.

Частка ПВКГ зросла з 2,35 млн. (95% ДІ 1,54-3,60) у 1990 до 5,22 млн. людей (95% ДІ 3,40-7,98) у 2015 році і загалом складає до 40% всіх випадків глаукоми [143]. В світі, серед населення віком від 40 до 80 років розповсюдженість ПВКГ становить 3,54% (95% ДІ 2,09-5,82) [21, 28]. Найбільша захворюваність на ПВКГ в світі реєструється в Африці (4,20%; 95% ДІ 2,08-7,35). Щодо національної приналежності – частіше у африканської, ніж у європейської раси (ВШ – 2,80; 95% ДІ 1,83-4,06) [91].

За дослідженнями різних авторів в європейських країнах розповсюдженість глаукоми нормального тиску (НТГ) складає від 11% до 30% від всіх випадків глаукоми, а в Україні - 16% від всіх випадків ПВКГ [14]. Поширеність глаукоми в Україні в 2016 році була 609,4 на 100 000 населення, в 2017 році цей показник досяг 612,7 на 100 000 серед дорослого населення у віці від 18 до 100 років і старше [11]. З 2015 року глаукома вийшла на перше місце серед захворювань, що призводять до інвалідності по зору в Україні. За даними МОЗ в Україні до 2020 року захворюваність на глаукому досягне 200 тис. хворих, з приростом понад 20 тис.

випадків за рік [2].

При цьому, люди працездатного віку складають більше половини випадків інвалідності, а питома вага діагностики глаукоми в розвиненій та термінальній стадіях досягає 70%. Глаукома займає друге місце серед основних причин первинної інвалідності по зору серед усього населення країни з показником 17,4 % та 19,2 % серед працездатного населення. З 2011 року в Україні, за підтримки міжнародних організацій, запроваджено тиждень глаукоми, який проводиться щорічно з 9 по 15 березня [3].

Захворювання на глаукому також має відображення в соціально-економічній сфері. Глобальні щорічні видатки на її профілактику та лікування досягають 5,8 млрд. доларів США. Соціальна значущість пояснюється, в першу чергу, незворотною втратою зору і, як наслідок, зниженням або втратою працездатності [39, 52].

В багатьох країнах, що розвиваються, дана тенденція має значний негативний вплив в першу чергу за рахунок вищої, аніж у розвинених країнах, частки хворих з запущеними стадіями, і відповідно, більшим ризиком сліпоти [43]. Окремо слід зазначити випадки, коли повна або часткова втрата працездатності пов'язана з травмами та переломами внаслідок падінь через зниження зору, що також має негативне відображення в соціально-економічній сфері [107, 139, 144].

Тобто, біохімічні та дегенеративні порушення при глаукомі призводять до підвищення рівня ВОТ. В світі 60,5 млн. людей страждають на глаукому, 20 % з яких мають невиліковну стадію, а часткова втрата працездатності через глаукому за останні 25 років збільшилася на 122% з піком до 60 років. В Україні глаукома посідає перше місце серед інвалідизуючих захворювань по зору з показником поширеності у 612,7 на 100000 населення віком від 18 до 100 років. Найбільш швидко прогресуючим видом глаукоми, що призводить до незворотної втрати зору та інвалідизації є ПВКГ, доля якої складає більш ніж 5 % всіх випадків.

## 1.2. Діагностика первинної відкритокутової глаукоми

Стандартне офтальмологічне обстеження хворих на глаукому включає оцінку загального та специфічного (очного) анамнезу, гостроти зору, автоматизоване тестування поля зору, вимірювання ВОТ, огляд диска зорового нерва на фундус-камері, проведення автоматизованої периметрії та пахіметрії рогівки, біомікроскопії переднього сегмента, гоніоскопії, кольорове фотографуванням очного дна [62, 83]. Зустрічаються дослідження, в яких для виявлення ПВКГ був використаний метод визначення кольорової гостроти зору – «Color Visual Acuity». Було виявлено, що червоний та синьо-зелений кольори гірше сприймалися очима з ПВКГ [114].

Пошкодження лише на -6 дБ при SAP MD (стандартна автоматизована периметрія з розрахунком середньої девіації) свідчить про ранню втрату поля зору, й ці пацієнти цілком можуть розглядатися, як люди з частковою втратою працездатності, за умови якщо глаукома вражає краще око [70].

Глобальною програмою ВООЗ по виявленню проблем зору та запобіганню сліпоти в період з 2014 по 2019 р.р. була «VISION 2020: The Right to Sight». Результати цього проекту показали, що для діагностики глаукоми на ранніх доклінічних стадіях необхідне розширення діапазону діагностики з впровадженням нових методів, у тому числі, – молекулярно-генетичних [29].

Глаукома внесена в міжнародну класифікацію хвороб під кодом Н 40-Н 42 в залежності від вираженості ознак, що притаманні цій хворобі. Основними є: підвищення ВОТ, яке може бути постійним або періодичним, атрофія зорового нерва (з або без екскавації) та зменшення поля зору. За походженням глаукому поділяють на первинну і вторинну. Первинну глаукому обумовлюють патологічні процеси дренажної системи ока, диска зорового нерва та кута передньої камери [9].

Широко розповсюдженою класифікацією первинної глаукоми є класифікація А. П. Нестерова і А. Я. Буніна (1976 р.) і класифікація периметричних змін за стадіями глаукоми [13].

Першою ознакою ПВКГ є рівень внутрішньоочного тиску. Він може бути нормальним, помірно підвищеним та високим. Підвищення ВОТ обумовлює зміни

кута передньої камери; на основі цього глаукому поділяють на відкрито-, закритокутову та змішану. Відкритокутова глаукома розглядаються 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 [132].

В залежності від враженості дегенеративних процесів виділяють початкову, розвинену, далекозашедшу та термінальну стадії. Як будь-якому патологічному процесу, глаукомі притаманна стабільна та нестабільна динаміка [18, 49].

В літературі також є дані щодо класифікації глаукоми на основі мінімальної ширини мембрани Бруха, товщини шару перипапільярного нервового волокна сітківки, а також кольорова класифікація на основі RNFL [136]. Варто відзначити, що при ПВКГ діаметр отвору мембрани Бруха значно збільшується з паралельним її потоншенням, що відбувається ще до настання периметричного порушення [95, 123].

Отже, найбільш актуальною та розповсюдженою класифікацією первинної глаукоми є класифікація А. П. Нестерова і А. Я. Буніна з урахуванням периметричних змін за стадіями глаукоми. Вона включає результати стандартного офтальмологічного дослідження, периметрії, пахіметрії, гоніоскопії, визначення кольорової гостроти зору.

### **1.3. Фактори розвитку та патогенез первинної відкритокутової глаукоми**

Аналіз літератури дозволив виділити три основні групи, які впливають на виникнення та подальший розвиток ПВКГ [150]. Перша група представлена предиктивними факторами, які підвищують ризик її розвитку. Сюди можна віднести параметри диска зорового нерва та показники поля зору.

Друга група включає прогностичні фактори, що впливають на прогресування встановленої ПВКГ. Це вік, рівень ВОР, відношення діаметру екскавації до діаметру диска зорового нерва у вертикальному та горизонтальному меридіанах, ступінь

відхилення центрального поля зору та центральна товщина рогівки. Особливістю цих факторів є відсутність причинно-наслідкових зв'язків [92].

Чинники, що безпосередньо пов'язані з розвитком ПВКГ шляхом еволюції вже існуючої відкритокутової глаукоми на фоні постійно підвищеного ВОТ, формують третю групу – безпосередньо факторів ризику. До них варто віднести: очний перфузійний тиск, стан мікроциркуляторного русла, короткозорість, центральна товщина рогівки та крововиливи в ділянку диска зорового нерва [58].

Загальною складовою, яка має свій вплив у всіх групах є вік. Віковими змінами ока є: зменшення площі просвіту трабекулярного простору і зменшення водного відтоку через більшу жорсткість перипапільярної склери і сполучної тканини lamina cribrosa. Ці процеси призводять до пошкодження аксонів головки зорового нерва. Паралельним патологічним процесом є зменшення енергопостачання зорового нерва через вікову дисфункцію мітохондрій [145]. Зміни біомеханіки ока, судинна дисрегуляція, переважно з вазоспазмом, вікова зміна ендотелію та енергетичний дисбаланс призводять до локальних гемодинамічних змін [166].

Іншим чинником в розвитку та еволюції ПВКГ, який розглядається як механічний, є підвищений середній показник ВОТ з його постійними коливаннями та коротший рівень осьової довжини ока [177].

Другорядними факторами ризику виступають: сімейний анамнез, етнічна приналежність, стани, які сприяють постійному підвищенню ВОТ, міопія, величина центральної товщини рогівки, псевдоексфолюації та зменшення очного перфузійного тиску [175].

Щодо етнічної приналежності, то найвища поширеність ПВКГ зареєстрована в популяції чорношкірих: 5,2% (95% ДІ 3,7%-7,2%) у віці 60 років, та 12,2% (95% ДІ 8,9%-16,6%) у віці 80 років. У латиноамериканців поширеність ПВКГ складає 2,3% (95% ДІ 2,1%-2,5%), у білошкірих людей цей показник складає 1,99% (95% ДІ 1,86-2,12). В східних та південноазіатських країнах зустрічаємість ПВКГ є найнижчою і складає 1,48%-1,88% (95% ДІ) [78, 117].

Значний вплив на розвиток ПБКГ мають численні локальні порушення та системні захворювання. Перші негативно впливають на трофіку тканини через спазм судин, провокуючи рефракційну помилку, синдром пігментної дисперсії, синдром псевдовідшарування. Системні захворювання, такі як: артеріальна гіпер- або гіпотензія, підвищення інтракраніального тиску, мігрень, численні судинні патології супроводжуються хронічною гіпоксією та ангіопатією [108].

Доведеним фактором ризику розвитку ПБКГ є системна артеріальна гіпертензія при підвищенні систолічного тиску вище 160 мм рт. ст., а діастолічного – вище 95 мм рт. ст. (ВШ 2,04; 95 % ВІ 0,88-4,73) через зниження очного перфузійного тиску. Останній є різницею між системним тиском та ВОТ [171]. Дегенерація волокон зорового нерва та збільшення дефекту поля зору пов'язана з добовим коливання артеріального тиску, з його нічним зниженням до 20 % у пацієнтів з глаукомою [88, 109, 174]. В цьому руслі також варто відмітити вплив мігрені на розвиток ПБКГ. Так, було виявлено, що пацієнти, які страждають на мігрень в 1,68 рази (95% ДІ 1,20-2,36) більш схильні до розвитку ПБКГ [65].

У хворих з системним склерозом, за даними капіляроскопії, глаукома виявлялася у 23% пацієнтів, що дає підставу вважати судинний компонент одним з вагомих факторів у розвитку захворювання [56].

Також помічено вплив на розвиток ПБКГ ендотеліальних вазоактивних факторів: оксиду азоту, ендотеліну-1, простоцикліну, фактору некрозу пухлин (TNF $\alpha$ ), нейропептиду Y, циклооксигенази 2 та металопротеїнази-9 (ММР-9) через здатність провокувати вазоконстрикцію та ішемію зорового нерва, ендотеліального фактору росту [32, 64].

Ще в 1994 році Йозеф Фламер [51] описав первинну дисрегуляцію судин як стан, що тимчасово порушує адаптацію кровотоку до потреб тканин. В цьому руслі в патогенезі розвитку ГОН при ПБКГ особливу увагу, на наш погляд, мають механізми розвитку ендотеліальної дисфункції (ЕДФ) [110].

Ендотелій – біологічно активний моноцитарний шар на кордоні крові і судинної стінки, який виконує безліч функцій, включаючи регуляцію тону

судинної стінки, їх проникності, реологічних властивостей крові і гемостазу, клітинної адгезії, проліферації клітин судин, активації тромбоцитів, фібринолізу і запальних реакцій [Ошибка! Незвестный аргумент ключа., Ошибка! Незвестный аргумент ключа.].

Функції ендотелію реалізуються через продукцію регуляторних медіаторів. До них відносяться: оксид азоту (NO), ендотелін, простаноїди (простациклін і тромбоксан), ангіотензин II, тканинний активатор плазміногену (t-PA), інгібітор активатора плазміногену (PAI-1), фактор von Willebrand (vWF), молекули адгезії (ICAM-1, VCAM-1, E-селектин, P-селектин та ін.), цитокіни (IL-1, -6, -4, -10, TNF $\alpha$  та ін.), активні форми кисню та азоту [22, 46, 118, 135, 147].

Фізіологічна функція ендотеліальної клітини полягає в синтезі NO з L-аргініну за рахунок ферменту ендотеліальної NO-синтази (eNOS; NOS3), що сприяє NO-залежній релаксації судин. NOS3 локалізована на клітинній мембрані і залежить від кальцію і кальмодуліну [41, 74]. Утворюючись в пікомолекулярних концентраціях молекула NO, маючи ліпофільні властивості, легко дифундує через клітинні мембрани у міозити, де взаємодіє з гуанілатциклазою з утворенням циклічного гуанозинмонофосфату (cGMP) [55, 90]. cGMP виступає в ролі месенджера у процесах дилатації судин, через взаємодію із специфічною протеїнкіназою, що знижує рівень вільного Ca<sup>2+</sup> у міоцитах [165]. Підтримання мікроциркуляції на достатньому рівні забезпечується завдяки інгібуванню адгезії і агрегації тромбоцитів, обмеженню активації коагуляційних механізмів в каскадах взаємодій тромбомодулін/протеїн C, гепарин/антитромбін і плазміноген/плазмін та регуляцію фібринолізу за рахунок синтезу t-PA і PAI-1 [93, 124, 140].

Незв'язаний з гуанілатциклазою надлишок NO після дифузії у кровообіг інактивується гемоглобіном та/або вступає у реакцію з супероксиданіоном (O<sub>2</sub><sup>-</sup>). Останні реакції у фізіологічних умовах протікають з малою інтенсивністю і не здатні викликати цитотоксичний ефект [72].

Численні патологічні процеси, такі як: атеросклероз, запалення,



кардіоміопатія, гіпертонія тощо, супроводжуються формуванням ЕДФ [57]. Окислювальний стрес, запалення, деградація і проліферація глікокаліксу при метаболічних порушеннях є чинниками, які прискорюють розвиток ЕДФ [23, 119]. Механізм формування ЕДФ, особливо при ПВКГ починається з пошкодження міжклітинних контактів ендотеліоцитів та структури гематофтальмічного бар'єру, що призводить до посилення адгезії лейкоцитів з екстравазацією, індукції прокоагулянтів і антифібрinolітичних систем [57]. Сукупність вищенаведених місцевих патологічних процесів, на фоні подальшого пошкодження ендотелію, стає причиною їх прогресії з розвитком запалення, «цитокінового шторму», гіпоксії та порушенням мікроциркуляції [34, 106].

ЦД має опосередкований вплив на розвиток ПВКГ, що обумовлений ремоделюванням сполучної тканини головки зорового нерва з порушенням регуляції на трабекулярній сітці та lamina cribrosa. Це призводить до збільшення ВОТ та механічного навантаження на головку зорового нерва [47, 141].

При вивченні впливу куріння на розвиток ПВКГ в шести дослідженнях «випадок-контроль» був показаний позитивний його вплив на розвиток захворювання [69].

Моніторинг глаукоми, такий як HUG-5 (Health Utility for Glaucoma-5 sizes) на різних її стадіях серед чоловіків та жінок віком від 40 до 69 років показав, що виявлення генетичної схильності до цього захворювання дає нові можливості для діагностики, ранньої профілактики та лікування [80, 111].

Отже, при наявності різних етіологічних чинників, загальним проявом ПВКГ є специфічна глаукома нейропатія (ГОН) зорового нерва [97,168]. Патогенетичні механізми розвитку ГОН багато в чому схожі з захворюваннями центральної нервової системи, що пов'язані з активацією апоптозу гангліозних клітин сітківки і розвитком судинної дисрегуляції [30]. Предикторами апоптозу можуть виступати, в першу чергу, судинні та метаболічні порушення, які на тлі імунних та біохімічних зрушень стають причиною здавлення аксонів з деформацією гратчастої мембрани склери. Результатом цього є порушення

аксоплазматичного току та подальший дефіцит нейротрофічних факторів, що стає безпосередньою причиною загибелі нейронів [15,154].

Також варто відзначити інші теорії розвитку ГОН: гідромеханічну, дистрофічну (первинна склеропатія) та теорію лікворної гіпертензії [5].

Вплив оксидативного стресу на розвиток ПВКГ обумовлений перекисним окисненням ліпідів з накопиченням малонового діальдегіду та супероксидних аніонів в мітохондріях, ендоплазматичному ретикулумі, пероксисомах. Малоновий діальдегід, реагуючи з NO, перетворюються в пероксинітрит, який є високореактивною молекулою. Так, саме у пацієнтів з глаукомою повідомлялось про вищу концентрацію малонового діальдегіду у водянистій волозі ока порівняно з іншими пацієнтами, що підлягали оперативному лікуванню катаракти [53, 120, 133].

Крім того, вплив ультрафіолетового опромінення, токсинів різного походження розглядається в ролі екзогенних чинників у виникненні оксидативного стресу [50, 120, 156].

В дослідженнях [27], у пацієнтах з ПВКГ, порівняно з контрольною групою, виявлено зниження експресії таких антиоксидантів, як супероксиддисмутаза та глутатіон-пероксидаза у водянистій волозі ока. В іншому дослідженні наведені данні про істотне зниження вмісту глутатіон-пероксидази, вітамінів С та Е в крові пацієнтів з ПВКГ [126].

Важливе значення в везикулярному транспорті має цитозольний білок оптиневрин (OPTN), що розглядається як багатофункціональний адаптерний білок, має високий рівень експресії в трабекулярній мережі, циліарному тілі, сітківці, зоровому нерві. Він є фактором транскрипції та модулює експресію генів клітинного поділу, білкового синтезу, у тому числі, білків-регуляторів апоптозу, включаючи ядерний фактор каппа-бета [59, 146]. До них належать: Bdnf – мозковий нейротрофічний фактор, Ntf3 - нейротрофін-3, Snap25 -білок, асоційований із синаптосомаю 25, що представляє кальцій-залежний нейромедіатор, Nef1 - негативний регуляторний фактор-1, функцією якого є

контроль аутофагії [19, 26, 37, 112, 125].

Висока здатність OPTN до олігомеризації забезпечує регуляцію рецепторів і передачі сигналів через мембрану клітини, відіграє значну роль в імунних реакціях. OPTN виконує адаптерні функції при взаємодії з численними білками, зокрема хантингтином, Rab8, міозином VI, Tank-зв'язуючою кіназою, ядерним фактором капа-бета. Завдяки наявності убіквітин-зв'язуючого домена, OPTN виступає в ролі селективного рецептора аутофагії, а мутації в його гені пов'язані з виникненням ПВКГ [128, 173].

Основним регулятором ВОТ є білок міоцилін (MYOC), що експресується в трабекулярній сітці. Він складається з N-кінцевого та C-кінцевого доменів. Перший подібний до нем'язового міозину, а другий – до білків олфактомедину, що має більшу схильність до розвитку мутацій, які підвищують вірогідність розвитку глаукоми [97].

В нормі до половини кількості MYOC розщеплюється кальцій-залежною цистеїновою протеазою – кальпаїном II. Фізіологічними функціями MYOC є забезпечення внутрішньо- та позаклітинних протеолітичних процесів [79].

Таким чином, чітко відокремлюються фактори, що мають найбільший вплив на розвиток ПВКГ, серед яких найбільш вагомим є пошкодження ендотелію з вивільненням ендотеліальних вазоактивних поліпептидів і зниження продукції ендотеліальної NO-синтази. Сумація негативної дії цих процесів з підвищеним рівнем ВОТ обумовлює порушення дифузії, кризу мікроциркуляції, апоптозу гангліозних клітин з формуванням ГОН. Ключове місце в процесах апоптозу мають високо специфічний цитозольний білок OPTN та MYOC, як білок-регулятор ВОТ.

#### **1.4. Вплив одонуклеотидних варіацій генів-кандидатів на розвиток первинної відкритокутової глаукоми**

Відомо, що в 5% випадків глаукома є моногенним захворюванням і успадковується за Менделівськими законами [20]. Чітко встановленим можна

вважати факт, що значна частка випадків ПВКГ є генетично обумовленою та має чітку спадкову схильність, яку по різних оцінках визначають від 20% до 60% [101].

Одним із генів-кандидатів регуляції програмованої загибелі клітин, що призводить до апоптозу гангліозних клітин сітківки є ген білка-супресора пухлин *-TP53* [37,60]. Важливе місце в розвитку ПВКГ також посідає місенс-мутація *MSH2*, що призводить до дефекту репарації багатьох генів [35]. Мутації в гені *CALM2* обумовлюють порушення експресії цитоплазматичного кальцій-зв'язуючого білка, що має сигнальну функцію [86].

Ретикулон-4 виступає в ролі безпосереднього активатора проліферації та апоптозу нейроцитів та ендотеліальних клітин. Мутація в гені *RTN4* призводять до порушення цих процесів з його активацією [102]. Крім того, мутації генів впливають на функціонування дренажної системи ока, ефективність відновлення білків екстрацелюлярного матриксу та трабекулярних структур.

В літературі описаний вплив мутацій генів міоциліну (*MYOC*) та оптиневрину (*OPTN*) на розвиток ПВКГ нормального тиску [81, 82, 167]. Питома вага мутацій в гені *MYOC* складає 3-4% випадків з рівнем ВОТ більше 21 мм рт. ст, а в гені *OPTN* – близько 1% з ВОТ на рівні менше 21 мм рт. ст. [134].

Вплив мутацій в гені *MYOC* призводять до утримання білка *MYOC* всередині клітини, при цьому спостерігається зменшення відтоку водянистої вологи. Підвищення ВОТ провокує дисфункцію трабекулярної сітки та розвиток ПВКГ [142].

Мутації гена *MYOC* провокують появу мутантних або неправильно складених копій, які агрегуються в ендоплазматичній сітці і не секретуються назовні [158]. Одним із доменів *MYOC* є  $\beta$ -пропелерний ольфактомедин, який в результаті численних мутацій, стає менш стабільним і набуває здатність до цитотоксичності [63].

Мутації гену міоциліну в 430 кодоні (tyr-430-his), місенс-мутація в 357 кодоні (gly-357-val), мутація в 368 кодоні (glu-368-stop) та інші обумовлюють синтез аномального білка. Скорочений міоцилін погано розчинюється та надмірно

накопичується в трабекулярній мережі, порушує її структуру, що призведе до погіршення відтоку внутрішньоочної рідини з підвищенням ВОТ [33]. Близько 4% випадків ПВКГ були пов'язані з неправильним складанням білка MYOC та посиленням впливом на ендоплазматичний ретикулум у трабекулярній сітці [68].

Мутації в гені *OPTN* опосередковано впливають на пошкодження гангліозних клітин через порушення регуляції процесів аутофагії [153]. Мутації гену *OPTN* обумовлюють порушення аксонального транспорту, піноцитозу, процесів апоптозу гангліонарних клітин сітківки [163]. Встановлено зв'язок мутацій *OPTN* з ПВКГ, серед яких – заміна глутаміну на лізін у 50 кодоні (Glu50Lys), гуаніну на аденін в 458 кодоні (458G>A), гістидину на аспарагін у 26 кодоні (His26Asp) [Ошибка! Неизвестный аргумент ключа.]. Необхідно зазначити, що у носіїв поєднання мутацій *MYOC* та *OPTN* ризик ПВКГ багаторазово збільшений.

На короткому плечі 2-ї хромосоми виявлено низку генів-кандидатів (*MSH6*, *MSH2*, *REL*, *EPAS1*, *VRK2*, *FBXO11*, *EFEMP1*, *RTN4*, *RAB1A*, *ACTR2*, *CALM2*), які показали зв'язок з порушеннями будови трабекулярної мережі при ПВКГ та загибеллю гангліонарних клітин сітківки [5, 98].

Так, ген *REL* кодує білок-онкоген c-Rel, який відноситься до сімейства транскрипційних факторів NF-κB і завдяки наявності домен гомології приймає участь в проліферації клітин [96]. Ген *EPAS-1* кодує ендотеліальний PAS-домен, що належить до сімейства наддоменів і контролює взаємодію білків, транскрипцію та ангіогенез [42, 44]. Значення гену *VRK 2* полягає в модуляції міоген активованих протеїнкіназ [94]. Ген *FBXO11* модулює процеси убіквітинації, що є основними в процесі приєднання убіквітину до субстрату [100]. Ген *EFEMP1* кодує фібуліноподібний білок позаклітинного матриксу 1, який належить до факторів росту [148].

Вплив мутацій в гені *RAB1A* на апоптоз є опосередкованими змінами регуляції везикулярного транспорту з ендоплазматичного ретикулума на комплекс Гольджі [162]. Ген *ACTR2* кодує поверхнево розташований білок актин 2, який, зміною своєї форми, забезпечує рухливість клітини. *CALM2* є геном сімейства кальмодулінів і

кодує одноіменний кальцій-зв'язуючий білок, що має важливу роль в трансдукції сигналів та проліферації [138]. Значення гену *MSH6* полягає в репарації ДНК, що має ключову роль в процесах проліферації, зокрема при ПБКГ.

У різних популяціях показаний зв'язок чисельних (понад 80) мутацій генів цитохромів, зокрема, *CYP1B1* з розвитком ПБКГ. Є дані, що його кількісні і якісні зміни стають причиною енергетичного дисбалансу в трабекулярній сітківці та сприяють розвитку ПБКГ [137]. Крім того, утворення аномального цитохрому порушує процеси детоксикації, метаболізму біологічно активних речовин, ксенобіотиків. Так, показано, що порушення метаболізму  $17\beta$ -естрадіолу внаслідок мутації *CYP1B1* змінює експресію міоциліну [25]. Встановлено асоціацію делеції в гені глутатіон-8-трансферази (*cle1/cle1C8TT1*) з ПБКГ [159].

Широко розповсюдженою причиною аномально сформованих судин та розвитку судинної дисфункції з місцевою гіпертрофією є мутації VEGF [116].

Негативний вплив реалізується через механізм альтернативного сплайсингу пре-мРНК з формуванням множинних сплайс-ізоформ, зокрема VEGF-A, які можуть мати різні функції, включаючи ангиогенез [31].

Показано асоціацію мутацій гену *VEGFA*, зокрема *-460 T/C* з ПБКГ [169]. Також SNV генів прозапальних інтерлейкінів (особливо TNF $\alpha$ ) збільшують ризик ПБКГ. Мутації генів, що кодують матриксні металопротеїнази (ММР), також впливають на розвиток ПБКГ. ММР активуються прозапальними цитокінами (особливо TNF $\alpha$ ), факторами росту, VEGF, що призводить до ремоделювання міжклітинного матриксу. Показана патологічна роль ММР-9 у розщепленні колагену IV типу та порушення структури базальної мембрани, що сприяє розвитку ПБКГ у носіїв таких мутацій – SNV $rs1799750(-1607 1G/2G)$  *MMP1* і  $rs17576$  генотип *G/GMMP-9* [127, 157].

Мутація гену аполіпопротеїну E *-APOE (rs449647)* порушує транскрипцію передачу ліпідів та має важливу роль в розвитку нейродегенеративних захворювань [172]. Мутація гену *BDNF (rs2030324)* – мозкового нейротрофічного фактора, що контролює життєвий цикл нейронів, через зміни синаптичної

передачі сприяє розвитку ПБКГ [87]. Мутація гену *GRIN2B* (*rs3764028*) призводить до порушення кодування NR2B-субодиниці глутаматного NMDA-рецептора та передачі нервового імпульсу, що пов'язано з розвитком та прогресуванням ПБКГ, та мутація гену *HSP70-1* (*rs1043618*), що призводить до порушення згортання синтезованих білків *de novo* і транслокації білків-попередників в органели [121].

Мутації гену *OPA1*, що кодує білок динамін-подібну гуанозинтрифосфатазу, розташований у внутрішній мембрані та міжмембранному просторі мітохондрій призводить до зміни структури мітохондріальних крист, блокади мембрани мітохондрій та їх апоптозу [61]. Мутації генів мітофузину-1 і 2 (*MFN1*, *MFN2*) змінюють процеси злиття і ділення мітохондрій, тим самим сприяючи розвитку аксональної нейропатії [36, 45]. Мутації в гені *CYP11B1* та *PARL* спричиняють структурні і функціональні зміни в молекулі білка через порушення розподілу водневих зв'язків, локального електростатичного потенціалу та активності гідролаз та протеаз у ядрі та внутрішній мембрані мітохондрій [104, 113]. Мутації генів *SOD2*, *SRBD1*, *GST*, *NOS3*, *TNF $\alpha$*  і *TP53* підвищують схильність до розвитку ПБКГ [38, 80, 81].

Всі перелічені фактори, мають місце в розвитку, як ПБКГ, так й ЕДФ, що обґрунтовує обраний напрямок наукових досліджень.

В плані досліджень генетичних SNV увагу привертає SNVrs1799983 (*G894T*, *Glu298Asp*) гена *NOS3*. Його мінорна алель *T* асоційована із зниженням активності eNOS. Цей SNV гена *NOS3* локалізований на 7 хромосомі (chr7:150999023; GRCh38.p12). SNV*NOS3rs1799983* являє собою місенс-мутацію, при якій предковий триплет GAT (кодує аспарагінову кислоту) змінюється на GAG/GAA (кодує глютамінову кислоту) – 89T>A,G [71, 103]. Частота мінорної алелі складає, в середньому, 0,176 за результатами Програми 1000 Геномів Фаза 3 [149].

Іншим перспективним SNV гена *NOS3* для вивчення впливу на розвиток ПБКГ є *rs2070744* (*T-786C NOS3*) з генною локалізацією 7q36.1 (7:150992991; GRCh38). SNV локалізується у інtronі гену та є фактором ризику для розвитку коронарного

спазму і протективним для метаболічного синдрому (dbSNP Reference SNP (rs) Report; 2020). Частота мінорної алелі складає, в середньому, 0,23 за результатами Програми 1000 Геномів Фаза 3.

За даними когортного дослідження випадок-контроль А.А. Kondkar та співавт. (2020) мінорна алель *Trs1799983* була значуще зв'язана з ПБКГ у саудівських чоловіків [Ошибка! Неизвестный аргумент ключа.]. Ризик суттєво збільшувався при його поєднанні з алеллю *Crs2070744*. W. A. Etmam та співавт. (2014) показали, що генотип *CC T-786C NOS3 (rs2070744)* пов'язаний з підвищеним ризиком розвитку ПБКГ у жінок-єгиптянок, а знижений рівень NO (за вмістом нітратів/нітритів у крові) може грати роль у розвитку ПБКГ [48]. За даними дослідження J.H. Kang та співавт. (2010, 2011) жінки-носії мінорного варіанту *TSNV Glu298Asp NOS3* були в групі підвищеного ризику по ПБКГ [40]. У ншому дослідженні тих самих авторів (2011) показано, що зв'язок між артеріальною гіпертензією та ПБКГ залежав від варіантів *SNV T-786C NOS3 (rs2070744)* [176].

Результати групи дослідників з Бразилії (T. Magalhães da Silva та співавт., 2012) показали, що генотип *C/GSNVT-786C* і *Glu298Asp NOS3* показав зв'язок з ризиком ПБКГ в загальному аналізі та серед жінок, а також для пацієнтів, в яких ПБКГ розвинулася у віці старше 52 років [105]. З іншого боку, дослідження J. Weiss та співавт. (2012) показали відсутність зв'язку *SNVNOS3* з гіпер- та нормотензивною глаукомою [164].

Отже попередній аналіз літератури щодо ролі генів-кандидатів в розвитку ПБКГ показав вагомий вплив *SNVNOS3* на розвиток ЕДФ, зокрема при ПБКГ. Визначення зв'язку *SNVrs1799983* і *rs2070744* з розвитком та прогресуванням ПБКГ, клінічними проявами захворювання дозволить вдосконалити її ранню діагностику та профілактику ускладнень.

### **Висновок до розділу**

В світі налічується близько 60,5 млн. хворих на глаукому, 20% з яких мають невиліковну стадію, а часткова втрата працездатності через глаукому за останні 25



років збільшилася на 122% з піком до 60 років. Поширеність глаукоми в Україні сягає 612,7 на 100000 населення і виходить на перше місце серед інвалідизуючих захворювань по зору. Перше місце за показником незворотної втрати зору, що є причиною інвалідності займає ПБКГ, доля якої складає більш ніж 5% всіх випадків. Багато десятиліть найбільш актуальною та розповсюдженою класифікацією первинної глаукоми є класифікація А. П. Нестерова і А. Я. Буніна з урахуванням периметричних змін за стадіями глаукоми. Вона включає, як результати стандартного офтальмологічного дослідження, периметрії, пахіметрії, гоніоскопії, так й визначення кольорової гостроти зору. Наростання дегенеративних та патобіохімічних порушень при глаукомі призводять до підвищення рівня ВОТ. Найбільш вагомим фактором патогенезу є пошкодження ендотелію з вивільненням ендотеліальних вазоактивних поліпептидів і зниженням продукції ендотеліальної NO-синтази. Сумація негативної дії цих процесів з підвищеним рівнем ВОТ обумовлює порушення дифузії, кризу мікроциркуляції, апоптозу гангліозних клітин з формуванням ГОН. Генетична детермінованість виникнення та прогресування ПБКГ дає змогу виділити низку генів-кандидатів. Значний науковий інтерес має *SNVNOS3* особливо у хворих на ПБКГ через його вплив на формування ЕДФ. Визначення зв'язку *SNV rs1799983* і *rs2070744* з розвитком та прогресуванням ПБКГ, клінічними проявами захворювання дозволить вдосконалити її ранню діагностику та профілактику ускладнень

## РОЗДІЛ 2

### ДИЗАЙН ДОСЛІДЖЕННЯ.

### МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

#### 2.1. Загальна характеристика хворих та дизайн дослідження

Всього у дослідженні прийняли участь 200 осіб, з яких у 153 був діагноз ПВКГ (основна група) та 47 осіб, що не мали даної патології (група контролю). Групи були співставні за віко-статевими характеристиками ( $p > 0,05$ ).

В дане дослідження залучено дані 153 пацієнтів (306 очей) із встановленим діагнозом ПВКГ, серед яких чоловіків було 57 (37,25%), жінок – 96 (62,75%). У контрольній групі чоловіків було 22 (46,81%), жінок 25 (53,19%). Різниця розподілу пацієнтів за статтю була статистично не значущою у групах порівняння ( $p = 0,241$ ). Вік пацієнтів в основній групі складав 65,0 (13,13) років – М (SD), у групі порівняння – 61,3 (15,95) років ( $p = 0,110$ ). Тривалість захворювання складала 4,9 (5,27) років.

За стадіями ПВКГ пацієнти розподілилися наступним чином: I стадія – 11,76%, II стадія – 17,65%, III стадія – 52,94% і IV стадія – 17,65%.

*Критерії включення в дослідження:* Хворі на ПВКГ 1, 2, 3, 4 стадії, вік від 35 до 85 років, відсутність хронічної неврологічної патології.

*Критерії виключення з дослідження:* вік менше 35 та більше 85 років, наявність хронічної неврологічної патології, інсульту або інфаркту в анамнезі, в терміни до 1 року після захворювання, хронічні інфекційні захворювання, очні хвороби та травми (які можуть призвести до порушення гемодинаміки), хворі, що зазнали радіаційного впливу.

Пацієнти проходили обстеження на базі кафедри офтальмології Дніпровського державного медичного університету та Комунального підприємства «Дніпропетровської обласної клінічної офтальмологічної лікарні».

Дослідження проведено з дотриманням необхідних біоетичних норм (висновок комітету з біоетики ДЗ «Дніпропетровської медичної академії МОЗ України» № 6 від 04.10.2019). Всі обстежені давали інформовану згоду на використання результатів досліджень для наукових цілей.

За дизайном дослідження був «випадок – контроль». Пацієнтам проводили офтальмологічне дослідження, після чого забирали кров для молекулярно-генетичних досліджень в умовах маніпуляційного кабінету у кількості 3 мл з ліктьової вени натще.

## **2.2. Методи офтальмологічного обстеження пацієнтів**

Згідно до загальноприйнятого протоколу обстеження хворих із ПВКГ [54], у кожного пацієнта ретельно збирали скарги та анамнез, виконували візометрію (Цифровий фороптер HDR 7000 Huvitz; проектор тестових знаків Huvitz CCP- 3100), периметрію (Humphrey Field Analyzer 740i), рефрактометрію (авторефкератометр HRK-7000 Huvitz), пневмотонометрію (автоматичний безконтактний тонометр Huvitz HNT-7000), біомікроскопію (щілинна лампа SLM-2ER Kanghua), гоніоскопію з використанням контактної тридзеркальної лінзи Гольдмана Ocular, офтальмоскопію з використанням безконтактної лінзи 78Д, VOLK, оптичну когерентну томографію (ОКТ; Optoview RTVue RT-100; протокол Standard Baseline Glaucoma, Standard Follow Up Glaucoma).

На рис. 2.1 наведено приклад бланка пацієнта з результатами оптичної когерентної томографії диску зорового нерва та гангліозних клітин макули з визначенням основних показників.

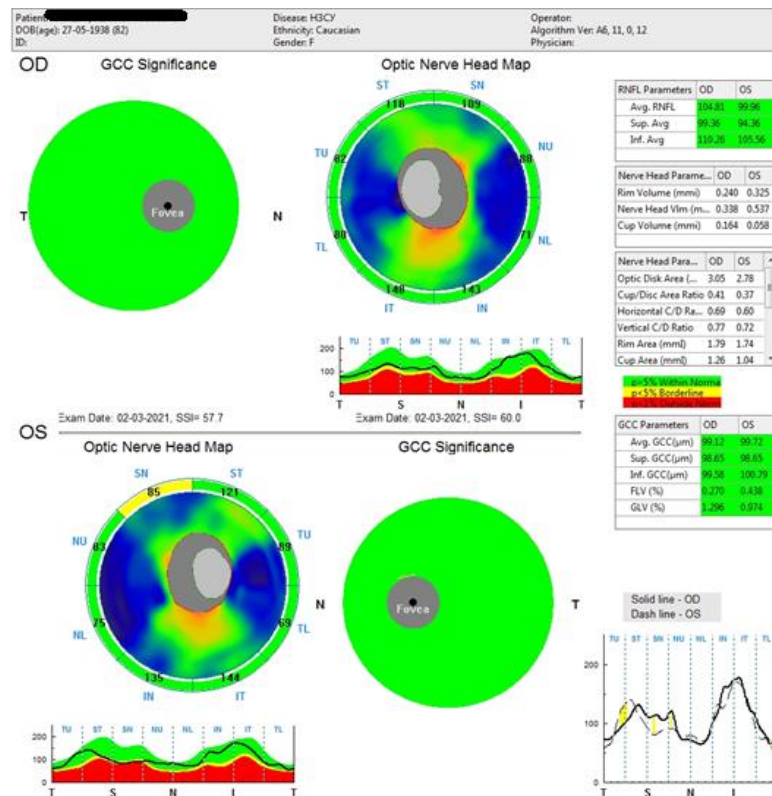


Рис. 2.1 Бланк з результатами обстеження оптичної когерентної томографії диску зорового нерва та гангліозних клітин макули пацієнтки Ч. (група контролю).

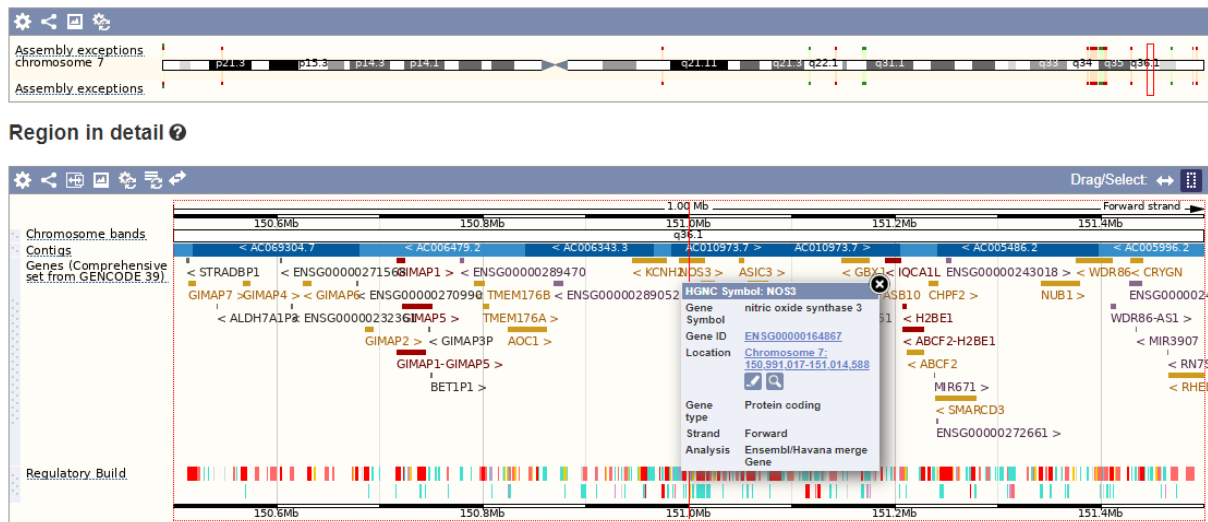
Для аналізу відбирали показники гіршого ока, визначали максимальну гостроту зору з корекцією (МГЗК), ВОТ (мм рт. ст.), результати дослідження поля зору, використовуючи значення середнього відхилення (MD, дБ) та стандартного відхилення моделі (PSD, дБ), а також показники ОКТ: товщину шарів нервових волокон сітківки (RNFL, мкм) та комплексу гангліозних клітин макули (GCC, мкм); відношення площі екскавації к площі диску зорового нерва (Cup/Disk Area Ratio).

### 2.3. Методи молекулярно-генетичних досліджень

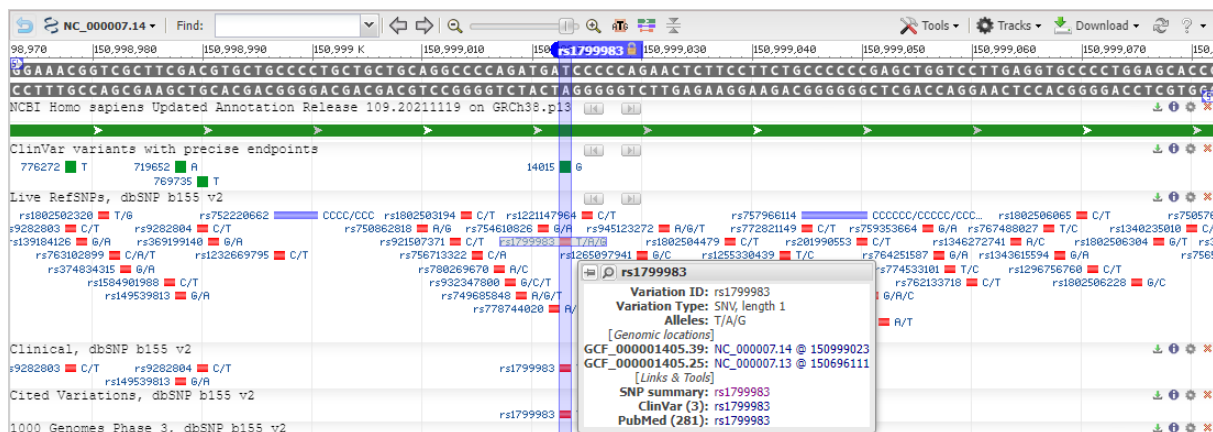
Молекулярно-генетичне дослідження проведено методом полімеразної ланцюгової реакції у реальному часі (real time PCR) у зразках цільної венозної крові, що була отримана у пацієнтів у кількості 3 мл.

Визначали SNV *rs1799983* (G894T, Glu298Asp) та *rs2070744* (T-786C) гена *NOS3*. Ген *NOS3* локалізований на 7 хромосомі (7q36.1; chr7:150,991,017-151,014,588 GRCh38/hg38) та має розмір 23,572 п.н. (рис.2.2).

## Chromosome 7: 150,998,973-150,999,073

Рис. 2.2 Генна карта гена *NOS3* (<http://www.ensembl.org>).

Ген має низку SNV, локалізація та властивості *rs1799983* наведені на рис. 2.3.

Рис. 2.3 Генна локалізація *rs1799983*  
(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs1799983>).

SNV *rs1799983* має локалізацію chr7:150999023 (GRCh38.p13) та представляє собою місенс-мутацію з заміною предкового алелю *G* на мутантний алель *T* (*G894T*), що призведе до заміни аспарагінової кислоти на глютамінову у 298 положенні білка NOS3 (Glu298Asp).

Частота мінорного алелю *Trs1799983* за різними базами даних складає:

- T=0,234735 (62132/264690, TOPMED);
- T=0,249288 (62171/249394, GnomAD\_exome);

- $T=0,246985$  (29613/119898, ExAC).

SNV *rs2070744* гена *NOS3* (рис. 2.4) має локалізацію chr7:150992991 (GRCh38.p13), локалізується у інтроні гену та представляє собою заміну предкового алелю *C* на мутантний алель *T* (*T-786C*).

Частота мінорного алелю *T* за різними базами даних складає:

- $T=0,287710$  (76154/264690, TOPMED);
- $T=0,301970$  (42286/140034, GnomAD);
- $T=0,34927$  (12128/34724, ALFA).

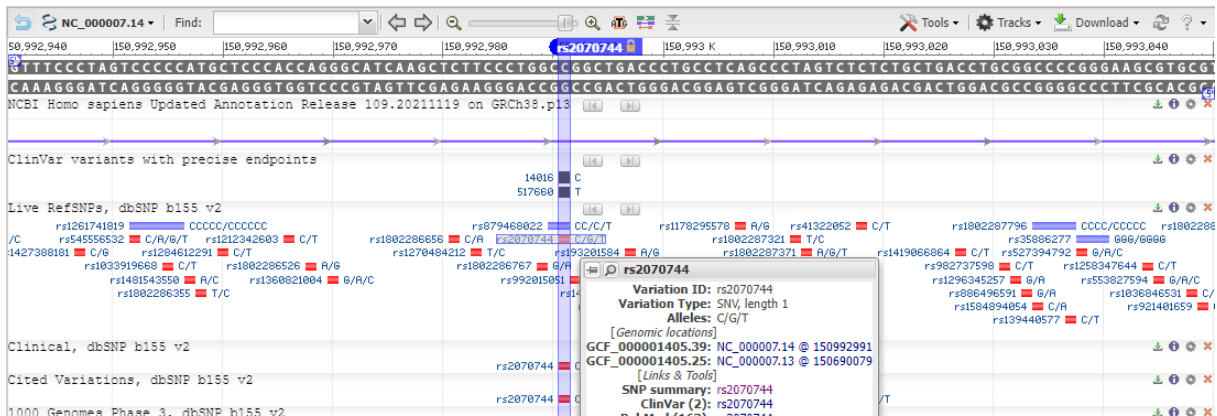


Рис. 2.4. Генна локалізація *rs2070744*

(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs2070744>).

Визначення генотипів SNV *rs1799983* (*G894T*, *Glu298Asp*) та *rs2070744* (*T-786C*) гена *NOS3* проводили методом полімеразної ланцюгової реакції у 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).

Сіквенс контекстної ділянки SNV *rs1799983* гена *NOS3*:

CCCTGCTGCTGCAGGCCCCAGATGA[G/T]CCCCCAGAACTCTTCCSTTCTGCCCC.  
 Сіквенс контекстної ділянки SNV *rs2070744* гена *NOS3*:  
 CCAGGGCATCAAGCTCTTCCCTGGC[C/T]GGCTGACCCTGCCTCAGCCCTAGTCS.

#### 2.4. Методи статистичних досліджень

Для статистичної обробки отриманих результатів використовували програму Statistica 10 (StatSoft, Inc., США, серійний номер: AGFR205F354521FA-5). Вибірки даних оцінювали за характером розподілу даних (тест Колмогорова-Смирнова). Описову статистику результатів вимірювання проводили з розрахунком середніх (M), їх стандартних відхилень (SD), похибок (m) та 95 % довірчого інтервалу (95 % ДІ). У цих випадках вибірки порівнювали за t критерієм Стьюдента для незалежних вибірок при попарних порівняннях та за допомогою ANOVA із розрахунком критерію Фішера (F) – при множинних, з подальшими післятестовими порівняннями за критерієм Шеффе.

Для вибірок, які мали характер розподілу, відмінний від нормального, для описової статистики використовували медіану (Me) та перший і третій квартилі (Q1 - Q3). У таких випадках незалежні вибірки порівнювали за критерієм Манна-Уїтні та за допомогою рангового дисперсійного аналізу Краскала-Уолліса (H – критерій).

Застосовувалися відносні величини, як екстенсивні (частки, %), так і інтенсивні – частоти (%) [1]. Для розрахунку описання частот генотипів застосовувався закон Харді – Вайнберга, згідно якого сума частот усіх алелів, як і сума частот усіх генотипів дорівнює 1 (100 %).

Категоріальні змінні порівнювали із застосуванням точного методу Фішера та критерію  $\chi^2$  Пірсона. Ступінь асоціації генотипів і алелей з ПВКГ визначали за розрахунком відношення шансів (ВШ) та 95 % ДІ.

Проводилися простий, множинний, порядковий та мультиноміальний логістичний регресійний аналіз з розрахунком коефіцієнтів псевдо-детермінації  $R^2$  (Cox and Snell, Nagelkerke, McFadden).

У моделі прогнозування швидкості прогресії ПВКГ у якості залежної змінної

використовувався показник співвідношення стадії захворювання до віку пацієнта.

Для оцінки прогностичної здатності показників та їх оптимальних точок відсікання (optimal cut-off value) проводився ROC-аналіз (ROC - Receiver Operating Characteristic curve analysis), що включав побудову та аналіз кривих операційних характеристик, визначення площі під ROC-кривою (AUC - Area under the curve) із 95 % довірчим інтервалом (95 % ДІ); показників чутливості (Se) та специфічності (Sp).

Аналіз значущості впливу офтальмологічних показників на ступень ПБКГ проводили з використанням мультиноміальної логістичної багатофакторної регресії у модулі узагальнених лінійних та нелінійних моделей (GLM) програми Statistica 10 (StatSoft, Inc., США). Як залежна використана порядкова змінна, що характеризує стадію ПБКГ. Відсутність захворювання кодували значенням 0 і приймали як опорне при виконанні аналізу. До незалежних були включені змінні, отримані в результаті офтальмологічних досліджень пацієнтів [4]. До таких було віднесено показники: MD; PSD; RNFL; GCC; CDAR. Параметри предикторів регресійних рівнянь розраховували методом максимальної правдоподібності. Діагностичну значимість показників для визначення стадії ПБКГ оцінювали за статистичною ефективністю на основі статистики Вальда (Wald-статистика), 95% ДІ та величини  $p$  – статистичної значущості відмінності від нульової гіпотези.

Для побудови моделі прогнозування ризику розвитку ПБКГ використана технологія багатофакторної логістичної регресії [1]. Ознака наявності ПБКГ була використана в якості результуючої змінної регресії. При наявності у пацієнта ПБКГ змінній привласнювали індикаторне значення 1, а при відсутності – 0. Останнє значення прийнято в якості опорного. Як факторні ознаки при побудові логістичної моделі були використані стабільні показники, які залишаються незмінними протягом життя пацієнта, а також не змінюються при прогресуванні захворювання. До таких були віднесені категоріальні показники статевої приналежності і дані генотипування SNV гену *NOS3*, що застосовувалися у вигляді бінарних змінних.

Для логістичних моделей розраховували Wald-статистику, коефіцієнти



максимальної правдоподібності ( $-2\log$ ) та хі-квадрат ( $\chi^2$ ). Про адекватність логістичних моделей судили за кривими операційних характеристик (ROC), при цьому розраховували площу під ROC-кривою – AUC. Модель вважали адекватною при статистично значущій відмінності AUC від 0,5 [1, 4].

Критичне значення рівня статистичної значущості при перевірці усіх нульових гіпотез приймалося рівним 0,05 (5 %).

## РОЗДІЛ 3

### АНАЛІЗ КЛІНІКО-ЛАБОРАТОРНИХ ТА ОФТАЛЬМОЛОГІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ

#### 3.1. Результати клінічного та офтальмологічного обстеження

За віком та статтю пацієнти з ПВКГ і контрольної групи суттєво не відрізнялися (табл. 3.1).

Таблиця 3.1

#### Загальноклінічні показники по групах пацієнтів М (SD)

Показник		Контроль	ПВКГ	р
Вік, роки		62,1 (12,5)	65,0 (13,1)	0,181
Стать	чол.	22 (46,81 %)	57 (37,25 %)	0,241
	жін.	25 (53,19 %)	96 (62,75 %)	

Примітка. р за критеріями *t* Стьюдента для віку та  $\chi^2$  – для статі

За стадіями ПВКГ пацієнти, що були залучені у дане дослідження, розподілилися наступним чином (рис. 3.1).

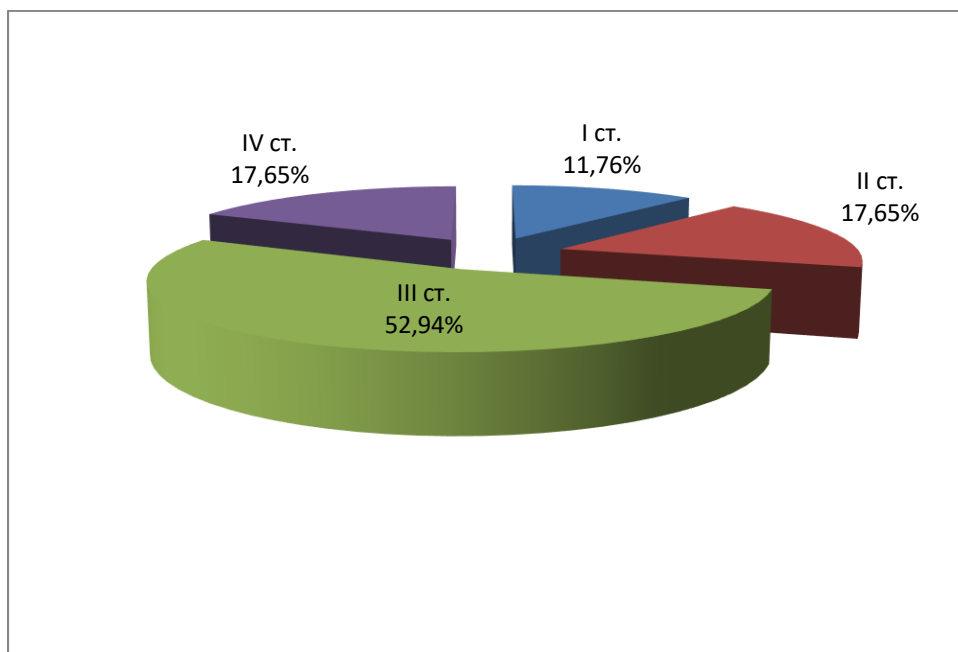


Рис. 3.1 Розподіл пацієнтів з ПВКГ (%) за стадіями

Переважна кількість осіб мали ПВКГ III стадії (52,94%) і приблизно однакова кількість пацієнтів була з іншими стадіями: 11,76% – з I стадією; по 17,65% з II і IV стадіями.

Вік пацієнтів за стадіями ПВКГ суттєво не відрізнявся (табл. 3.2).

Таблиця 3.2

**Вік та тривалість захворювання за стадіями ПВКГ М (95 % ДІ)**

Показник	Стадії ПВКГ				P
	I	II	III	IV	
Вік, років	65,2 (60,57 - 69,77)	63,9 (57,58 - 70,20)	63,4 (60,48 - 66,41)	70,9 (66,92 - 74,85)	0,078
Тривалість ПВКГ, років	1,0 (0,60 - 1,36)	2,2 (1,36 - 3,09)	6,3 (4,95 - 7,64)	5,9 (4,15 - 7,62)	<0,001
	$p_{I-II}=0,880$ $p_{I-III}=0,001$ $p_{I-IV}=0,015$		$p_{II-III}=0,004$ $p_{III-IV}=0,987$		-

*Примітка. p – статистична значущість відмінностей за критерієм Фішера F, післятестові порівняння за критерієм Шеффе*

Тривалість захворювання у осіб з ПВКГ на момент обстеження склала в середньому 4,9 (95 % ДІ 4,04 - 5,72) років.

За стадіями ПВКГ була відмічена статистично значуща тенденція до збільшення тривалості захворювання (табл. 3.2) від 1 року (95 % ДІ 0,60 – 1,36) у пацієнтів з I стадією ПВКГ до 5,9 років (95 % ДІ 4,15 – 7,62) при IV стадії ( $p<0,001$ ).

Результати офтальмологічного обстеження пацієнтів з ПВКГ у порівнянні з контрольною групою наведені у табл. 3.3.

За всіма показниками відмінності мали високу статистичну значущість ( $p\leq 0,01$ ): у пацієнтів з 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 диску зорового нерва (Cup/Disk Area Ratio), яке відбиває ступінь прогресії глаукоми, – більшим.

Таблиця 3.3

**Результати офтальмологічних досліджень у контрольній групі  
та у пацієнтів з ПВКГ М (SD)**

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

*Примітка. p за критерієм Стьюдента для незалежних вибірок*

Для порівняння за стадіями ПВКГ у пацієнтів різної статі, було проведено стратифікацію даних обстеження пацієнтів (табл. 3.4).

Таблиця 3.4

**Результати офтальмологічних досліджень при ПВКГ різних стадій в залежності  
від статі (M±m)**

Показник	Стать	Стадії ПВКГ				p <sub>F</sub>
		I	II	III	IV	
1	2	3	4	5	6	7
МГЗК	чол.	0,65±0,16	0,94±0,03	0,50±0,07	0,01±0,00	<0,001
	жін.	0,87±0,07	0,75±0,07	0,51±0,05	0,01±0,00	<0,001
	p <sub>t</sub>	0,086	0,007	0,435	0,06	-

Продовження табл. 3.4

1	2	3	4	5	6	7
BOT, мм рт. ст.	чол.	18,00±4,02	18,6±2,56	20,70±1,92	31,00±3,58	0,080
	жін.	18,33±1,74	17,0±1,99	14,20±0,85	21,00±2,22	0,005
	$p_t$	0,466	0,320	<0,001	0,016	-
MD, дБ	чол.	-(1,39±0,39)	-(11,68±2,48)	-(23,50±1,00)	-(31,05±0,16)	<0,001
	жін.	-(4,62±1,34)	-(7,83±0,40)	-(24,78±0,75)	-(31,00±0,07)	<0,001
	$p_t$	0,05	0,09	0,150	0,340	-
PSD, дБ	чол.	2,31±0,11	8,30±1,02	8,50±0,62	5,88±1,59	<0,001
	жін.	4,04±1,10	4,70±0,78	8,66±0,48	2,50±0,09	<0,001
	$p_t$	0,115	0,006	0,414	<0,001	-
RNFL, мкм	чол.	99,84±5,95	79,3±3,87	70,50±2,99	49,68±1,57	<0,001
	жін.	100,86±1,9	78,5±3,05	64,39±1,14	56,56±1,70	<0,001
	$p_t$	0,425	0,438	0,016	0,019	-
GCC, мкм	чол.	92,69±4,45	78,4±2,47	76,75±2,03	55,23±5,56	<0,001
	жін.	94,57±0,77	82,5±1,58	71,71±2,17	70,45±3,09	<0,001
	$p_t$	0,310	0,101	0,06	0,012	-
CDAR	чол.	0,46±0,03	0,65±0,04	0,79±0,03	0,87±0,02	<0,001
	жін.	0,42±0,06	0,49±0,06	0,77±0,02	0,82±0,03	<0,001
	$p_t$	0,302	0,014	0,246	0,167	-

Примітки:

CDAR – відношення площі екскавації до площі диску зорового нерва (Cup/Disk Area Ratio);

$p_t$  – статистична значущість відмінностей між чоловіками та жінками за  $t$ -критерієм Стьюдента;

$p_F$  – статистична значущість відмінностей за стадіями ПВКГ за критерієм Фішера

За всіма показниками спостерігалось суттєве їх змінення у бік погіршення у залежності від стадії ПВКГ, як у чоловіків, так і у жінок: погіршувалась гострота зору, збільшувався BOT, суттєво погіршувались показники периметричного обстеження (MD і PSD) та зменшувалась товщина шарів нервових волокон сітківки (RNFL) та комплексу гангліозних клітин макули (GCC), збільшувалось відношення площі екскавації к площі диску зорового нерва (Cup/Disk Area Ratio).

Необхідно зазначити, що була виявлена статистично суттєва різниця за статтю

пацієнтів для деяких показників. Так, дещо нижчою була гострота зору у жінок з II стадією, ніж у чоловіків з тією ж стадією ( $p=0,007$ ); VOT у жінок III і IV стадій був нижчим, ніж у чоловіків ( $p<0,02$ ); PSD у жінок з II і IV стадіями був меншим, ніж у чоловіків ( $p<0,05$ ); відношення площі екскавації до площі диску зорового нерва було нижчим у жінок з II стадією, ніж у чоловіків з тією ж стадією ( $p=0,014$ ).

Мозаїчний характер таких розбіжностей, на наш погляд, вказував на їх несистемний характер та суттєво не впливав на загальну тенденцію до погіршення вивчених показників за стадіями ПВКГ.

Більш цікавими, на наш погляд, виявилися результати аналізу значущості офтальмологічних показників для визначення стадії ПВКГ (табл. 3.5). Показники, які за результатами регресійного аналізу мали суттєвий вплив на стадію ПВКГ, мали ключове діагностичне значення та, відповідно, відображали тяжкість патологічного процесу.

Таблиця 3.5

**Вплив офтальмологічних показників на стадію ПВКГ (за результатами мультиноміального логістичного регресійного аналізу)**

Стадія	Показник	Показники регресійного аналізу					
		$\beta$	Standard error (SE)	Wald $\chi^2$	95% ДІ lower bound	95% ДІ upperbound	P
1	2	3	4	5	6	7	8
I	MD	-0,139	0,688	0,041	-1,487	1,209	0,840
	PSD	0,404	0,832	0,236	-1,227	2,034	0,627
	RNFL	-0,158	0,085	3,432	-0,326	0,009	0,064
	GCC	0,069	0,083	0,701	-0,093	0,231	0,402
	CDAR	7,355	3,132	5,515	1,216	13,493	0,019
II	MD	-4,066	2,027	4,026	-8,038	-0,094	0,045
	PSD	-3,771	2,168	3,024	-8,021	0,479	0,082
	RNFL	-0,627	0,272	5,289	-1,161	-0,093	0,021
	GCC	0,481	0,251	3,684	-0,010	0,973	0,055
	CDAR	29,748	10,746	7,664	8,687	50,810	0,006

Продовження таблиці 3.5

1	2	3	4	5	6	7	8
III	MD	-4,297	2,029	4,486	-8,274	-0,321	0,034
	PSD	-3,849	2,166	3,158	-8,093	0,396	0,076
	RNFL	-0,637	0,275	5,367	-1,176	-0,098	0,021
	GCC	0,444	0,253	3,076	-0,052	0,940	0,079
	CDAR	31,676	10,945	8,376	10,224	53,128	0,004
IV	MD	-4,591	2,035	5,091	-8,579	-0,603	0,024
	PSD	-5,153	2,230	5,340	-9,524	-0,782	0,021
	RNFL	-0,677	0,280	5,829	-1,227	-0,127	0,016
	GCC	0,321	0,258	1,546	-0,185	0,827	0,214
	CDAR	36,671	12,018	9,311	13,116	60,225	0,002

Примітки:

CDAR – відношення площі екскавації к площі диску зорового нерва (Cup/Disk Area Ratio);

$\beta$  – коефіцієнт регресії;

SE – Standard error – стандартна похибка коефіцієнту регресії;

95% ДІ – 95% довірчий інтервал для коефіцієнту регресії;

Wald – статистика Вальда;

$p$  – рівень значущості розходження з нульовою гіпотезою

На I стадію ПВКГ вплив мав тільки показник відношення площі екскавації до площі диску зорового нерва ( $p=0,019$ ). На II стадії всі показники мали тенденцію впливати на стадію ПВКГ, серед яких статистично суттєвого рівня ( $p<0,05$ ) досягли MD ( $p=0,045$ ), RNFL ( $p=0,021$ ) та відношення площі екскавації до площі диску зорового нерва ( $p=0,006$ ). Так само і на III стадії ПВКГ статистична значимість розходження з нульовою гіпотезою у всіх показників знаходилася близько до критичного рівня, однак значущою вона була для MD ( $p=0,034$ ), RNFL ( $p=0,021$ ) та відношення площі екскавації до площі диску зорового нерва ( $p=0,004$ ). На IV стадії ПВКГ всі показники, крім товщини комплексу гангліозних клітин макули (GCC), мали суттєвий вплив на стадію ПВКГ.

Необхідно зазначити, що відношення площі екскавації до площі диску

зорового нерва (Cup/Disk Area Ratio) мало найбільшу асоціацію із стадією ПВКГ, про що свідчив відповідний рівень статистичної значущості  $p$  статистики Вальд та найбільший показник  $\beta$  коефіцієнту (рис. 3.2).

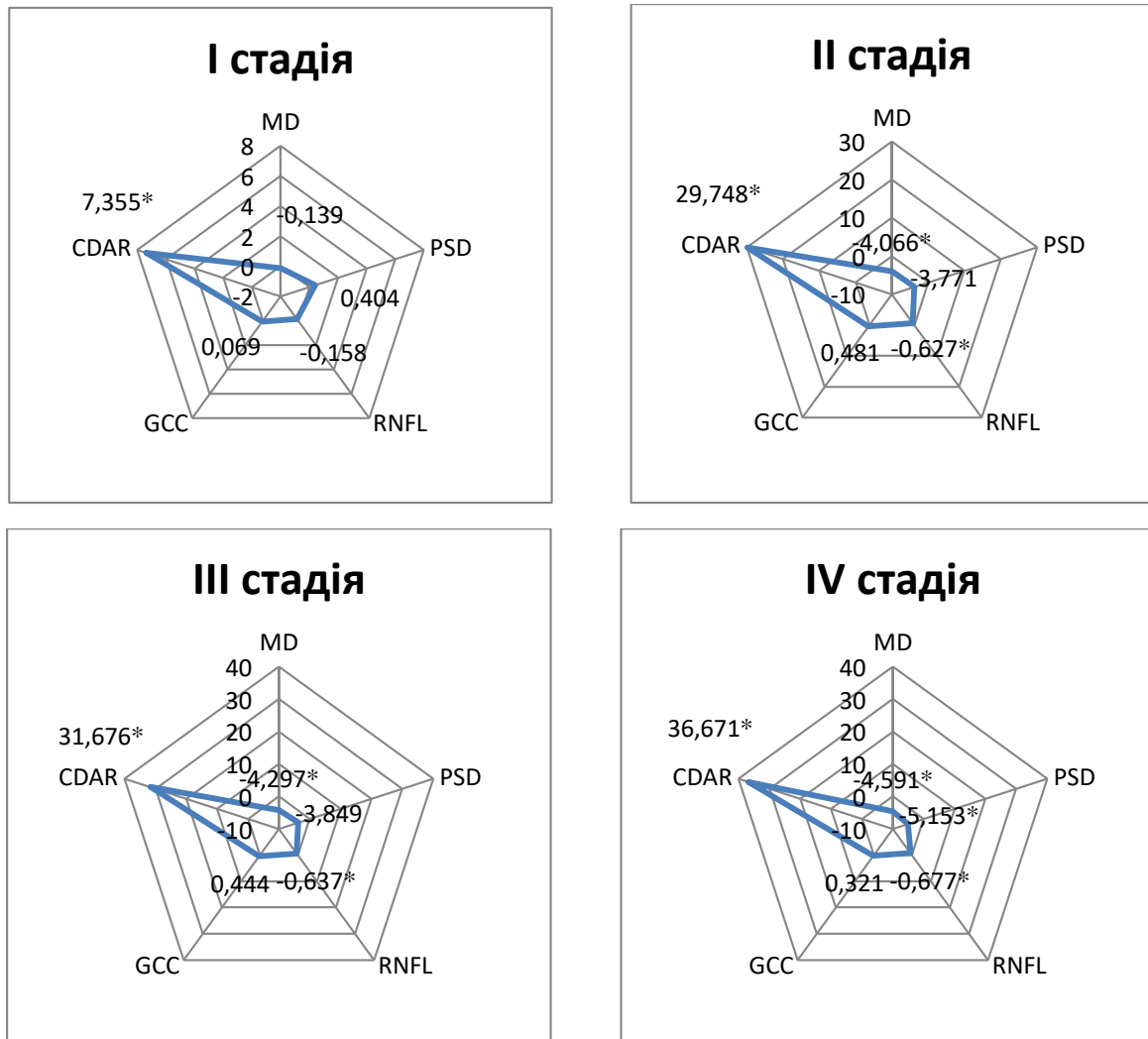


Рис. 3.2. Вплив офтальмологічних показників на стадію ПВКГ за  $\beta$  коефіцієнтами – ваговими значеннями кожного показника впливу (за результатами мультиноміального логістичного регресійного аналізу)

Примітка. \* –  $p < 0,05$

Такий вплив цього показника мав значущість навіть на I стадії ПВКГ, з чого можна заключити що саме відношення площі екскавації до площі диску зорового нерва (Cup/Disk Area Ratio) мало максимальну чутливість та специфічність для глаукоматозних змін сітківки.

Це було підтверджено за результатами ROC аналізу (табл. 3.6; рис. 3.3).



Таблиця 3.6

**Оцінка можливостей прогнозування ПБКГ початкових стадій (I та II стадій) за офтальмологічними показниками  
(операційні характеристики за даними ROC аналізу)**

Показники	AUC	SE AUC	Se	Sp	95 % ДІ AUC	P
<i>MD</i>	0,815	0,045	75,76	100,00	0,727 - 0,884	<0,001
<i>PSD</i>	0,716	0,055	63,64	100,00	0,619 - 0,800	<0,001
<i>RNFL</i>	0,846	0,041	81,54	95,56	0,762 - 0,909	<0,001
<i>GCC</i>	0,773	0,047	64,62	100,00	0,680 - 0,849	<0,001
<i>CDAR</i>	0,904	0,029	95,56	100,00	0,830 - 0,953	<0,001

*Примітки. AUC (Area Under Curve) – площа під ROC-кривою;*

*SE (Standard Error) – стандартна похибка;*

*Se (Sensitivity) – чутливість;*

*Sp (Specificity) – специфічність*

Площі під ROC-кривою усіх досліджених офтальмологічних показників більші за 0,7 ( $p < 0,001$ ), отже вони усі мають певну прогностичну цінність щодо прогнозування стадійності ПБКГ.

Найкращі операційні характеристики (найбільшу чутливість та специфічність, AUC) має CDAR, його здатність щодо прогнозу ранніх стадій ПБКГ можна оцінити як відмінну ( $Se=95,56$ ;  $Sp=100,0$ ;  $AUC=0,904$ ;  $p < 0,001$ ). Решта показників мають добрі та дуже добрі характеристики. Найгірші операційні характеристики для прогнозу ранніх стадій ПБКГ показали PSD та GCC.

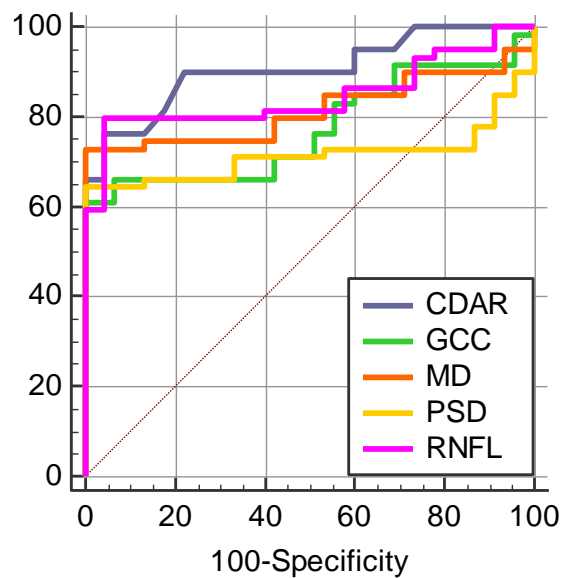


Рис. 3.3. ROC криві прогнозування прогресування ПВКГ початкових стадій (I та II стадій) за офтальмологічними показниками

### Висновок за розділом

У даному дослідженні переважна кількість пацієнтів мала ПВКГ III стадії (52,94%), приблизно однакова кількість пацієнтів була з іншими стадіями: 11,76% – з I стадією; по 17,65% з II і IV стадіями. Вік пацієнтів за стадіями ПВКГ суттєво не відрізнявся ( $p=0,078$ ). За стадіями ПВКГ була відмічена статистично суттєва тенденція до збільшення тривалості захворювання: від 1 року 95 % ДІ 0,60 – 1,36) у пацієнтів з I стадією ПВКГ до 5,9 років (95 % ДІ 4,15 – 7,62) при IV стадії ( $p<0,001$ ), в середньому –4,9 (95 % ДІ 4,04 - 5,72) років.

У порівнянні з групою контролю у пацієнтів з 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 диску зорового нерва (Cup/Disk Area Ratio) – більшим ( $p\leq 0,01$ ). Всі офтальмологічні показники закономірно погіршувалися від I до IV стадії ПВКГ, що спостерігалось як у чоловіків, так і у жінок ( $p<0,001$ ).

За даними ROC аналізу, найбільшу прогностичну здатність щодо діагностики певної стадії ПВКГ мало відношення площі екскавації до площі диску зорового нерва (Cup/Disk Area Ratio) – AUC=0,904 (95 % ДІ 0,830 - 0,953;  $p<0,001$ ), що дозволяло вважати цей показник самим чутливим (Se=95,56 %) та специфічним (Sp=100,0%) для діагностики ПВКГ всіх стадій.

Даний розділ висвітлено в матеріалах наступних публікацій [6, 7, 9 16].

## РОЗДІЛ 4

### **ЗВ'ЯЗОК ОДНОНУКЛЕОТИДНИХ ВАРІАЦІЙ rs1799983 ТА rs2070744 ГЕНА ЕНДОТЕЛІАЛЬНОЇ NO-СИНТАЗИ З ПЕРВИННОЮ ВІДКРИТОКУТОВОЮ ГЛАУКОМОЮ**

В даному розділі був проведений аналіз результатів визначення зв'язку SNV rs1799983 та rs2070744 гена NOS3 з ПВКГ, загально-клінічними показниками та результатами офтальмологічних досліджень. Аналіз включав порівняння даних, отриманих в контрольній групі (особи відповідної статі та віку, які не мали ПВКГ, n=47), з даними пацієнтів з ПВКГ (153 особи), а також порівняння показників у носіїв різних генотипів.

#### **4.1 Вплив однонуклеотидних варіацій rs1799983 (G894T, Glu298Asp) гена NOS3 на розвиток первинної відкритокутової глаукоми**

Порівняння даних, отриманих у контрольній групі (рис. 4.1), з даними Програми 1000 Genomes Project Phase 3 (<http://www.internationalgenome.org/>) показало відповідність результатів наших досліджень.

Предковий генотип GG у осіб з європейської популяції був визначений з частотою 0,443 (у наших дослідженнях – 0,426), гетерозигота GT – 0,425 (у наших дослідженнях – 0,489), мінорна гомозигота TT – 0,131 (у наших дослідженнях – 0,085). Предковий алель G був визначений з частотою 0,656 (у наших дослідженнях – 0,670), мутантний алель T – 0,344 (у наших дослідженнях – 0,330; при всіх порівняннях  $p > 0,05$ ).

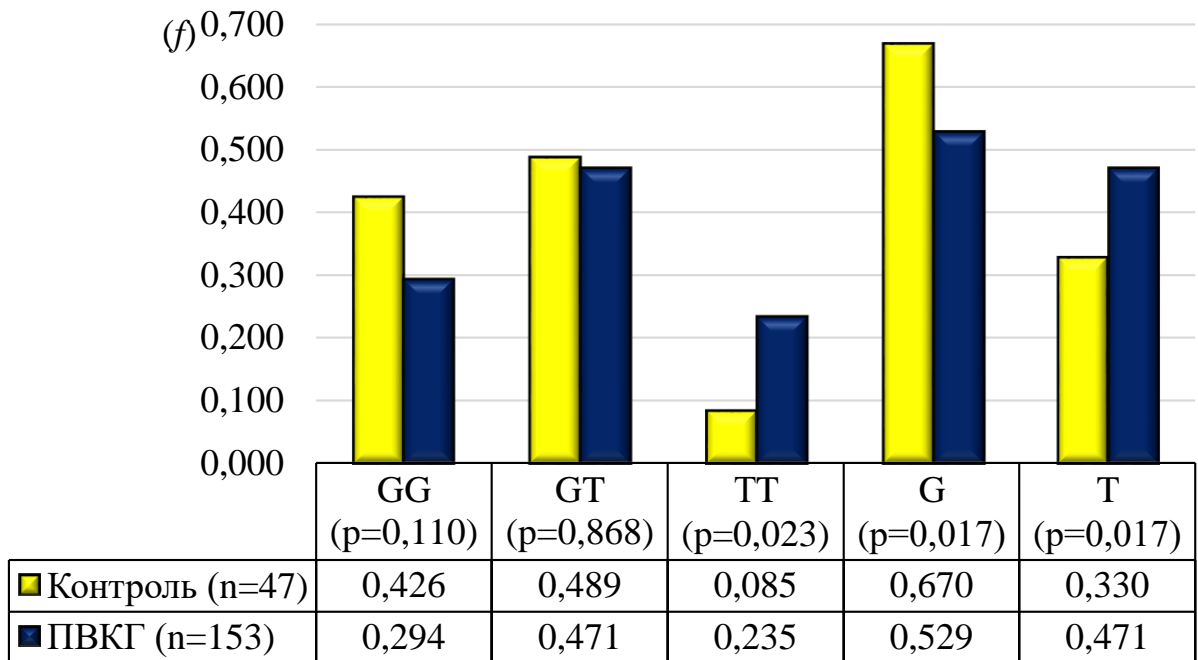


Рис. 4.1 Частота генотипів і алелей rs1799983 гена NOS3 у пацієнтів з ПВКГ та в контрольній групі ( $f$  у діапазоні від 0 до 1)

Примітки:  $p$  – статистична значущість розбіжностей частот за точним методом Фішера та критерієм  $\chi^2$  Пірсона

Тест Харді-Вайнберга для випадків (пацієнти з ПВКГ) та контролів показав випадковий характер успадкування як у пацієнтів з ПВКГ, так і в контрольній групі ( $p=0,790$  та  $p=0,764$ , відповідно).

Порівняння розподілу генотипів у пацієнтів з ПВКГ та контрольної групи показало зменшення частоти предкового гомозиготного генотипу GG ( $p=0,110$ ) та збільшення частоти мінорного генотипу TT ( $p=0,023$ ), що мало статистичну значущість тільки у останньому випадку (табл. 4.1).

Розподіл алелей показав, що у пацієнтів з ПВКГ відмічено зменшення частоти предкового алеля G та збільшення частоти мінорного алеля T ( $p=0,016$ ).

Отже, у даному дослідженні при ПВКГ було виявлено суттєве збільшення частоти мінорного генотипу TT та алелю T у порівнянні з контролем. Встановлено, що розподіл генотипів SNV rs1799983 не мав статистично значущого зв'язку з захворюванням ( $p=0,051$ ). Натомість, вплив алелей був значущим – мінорний алель T збільшував ризик розвитку ПВКГ у 1,8 рази (ВШ=1,806; 95% ДІ 1,11-2,93;  $p=0,016$ ).

Таблиця 4.1

**Частота генотипів і алелей SNV rs1799983 гена NOS3 та вплив на розвиток  
ПВКГ**

Генотипи Алелі	ПВКГ, n (f)	Контроль, n (f)	p	ВШ	95 % ДІ
<i>GG</i>	45 (0,294)	20 (0,426)	0,051	0,563	0,286 - 1,105
<i>GT</i>	72 (0,471)	23 (0,489)		0,928	0,482 - 1,784
<i>TT</i>	36 (0,235)	4 (0,085)		3,308	1,111 - 9,843
<i>G</i>	162 (0,529)	63 (0,670)	0,016	0,554	0,341 - 0,899
<i>T</i>	144 (0,471)	31 (0,330)		1,806	1,112 - 2,934

*Примітки:*

*f* – частота у діапазоні від 0 до 1;

*p* – розбіжності між алелями за критерієм  $\chi^2$  Пірсона;

*ВШ* – відношення шансів з 95% ДІ

Таким чином, наявність мінорного алелю Т є фактором ризику ПВКГ: шанси розвитку захворювання у носіїв алелю Т з української етнічної популяції за даними цього дослідження збільшено у 1,8 рази ( $p=0,016$ ). Предковий алель G має протективну роль у розвитку ПВКГ та знижує ризик у 1,8 рази ( $p=0,016$ ).

Порівняння рецесивної та домінантної моделей успадкування дозволило встановити (табл. 4.2), що вплив на ПВКГ зберігався тільки при рецесивній моделі ( $p=0,023$ ). Домінантна модель успадкування статистичної значущості не мала ( $p=0,093$ ). Шанси розвитку ПВКГ у носіїв генотипу TT був у 3,3 рази більшими (95 % ДІ 1,26 - 5,88;  $p=0,034$ ), ніж у носіїв інших генотипів ( $GG+GT$ ), що вказувало на успадкування схильності до ПВКГ за SNV rs1799983 гена NOS3 за рецесивним типом.

Отримання таких результатів вимагало докладного аналізу впливу SNV на показники, що визначали клінічні та офтальмологічні особливості перебігу ПВКГ.

Таблиця 4.2

**Зв'язок генотипів rs1799983 гена NOS3 з ПВКГ за рецесивною та домінантною моделями успадкування**

Генотипи	ПВКГ, n (f)	Контроль, n (f)	p	ВШ	95% ДІ
Рецесивна модель					
<i>GG+GT</i>	117 (0,765)	43 (0,915)	0,023	0,302	0,102 - 0,869
<i>TT</i>	36 (0,235)	4 (0,085)		3,308	1,111 - 9,843
Домінантна модель					
<i>GG</i>	45 (0,294)	20 (0,426)	0,093	0,563	0,286 - 1,145
<i>GT+TT</i>	108 (0,706)	27 (0,574)		1,778	0,905 - 3,491

*Примітки:*

*f* – частота у діапазоні від 0 до 1;

*p* – розбіжності між алелями за критерієм  $\chi^2$  Пірсона;

*ВШ* – відношення шансів з 95% ДІ

Встановлено (табл. 4.3), що пацієнти-носії мінорного генотипу *TT*, у порівнянні з носіями генотипів *GG* та *GT*, були молодшого віку (на 18,4 (95 % ДІ 13,71 – 23,09) та 19,8 років (95 % ДІ 14,85 – 24,75) відповідно;  $p < 0,001$ ) і тривалість захворювання у них була статистично суттєво меншою (на 3,1 (95 % ДІ 2,17 – 4,03) та 7,5 років (95 % ДІ 5,01 – 9,99) відповідно;  $p < 0,001$ ). Отже, за наявності ризикового генотипу *TT*, ПВКГ розвивалася у більш молодшому віці з меншою тривалістю захворювання. Розподіл генотипів SNV rs1799983 за статтю не мав статистичної значущості ( $p = 0,195$ ).

Аналогічні результати були отримані при аналізі зв'язку алельного SNV з загально-клінічними показниками (табл. 4.4). Пацієнти-носії мінорного алелю *T*, у порівнянні з носіями алелю *G*, були молодшого віку (на 9,1 років (95% ДІ 6,33 – 11,87);  $p < 0,001$ ) і мали меншу тривалість захворювання (на 3,9 років (95% ДІ 2,8 – 5,0;  $p < 0,001$ ). Відповідно, за наявності ризикового алелю *T*, ПВКГ розвивалася у молодшому віці з меншим стажем захворювання. Розподіл пацієнтів за статтю відповідно до носійства того чи іншого алелю, як і генотипу, статистичної значущості не мав ( $p = 0,132$ ).

Таблиця 4.3

**Загально-клінічні показники у пацієнтів з ПБКГ  
за генотипами rs1799983**

Показник	Генотипи rs1799983			p
	GG, n=45	GT, n=72	TT, n=36	
Вік, роки, M (SD)	68,7 (8,9)	70,1 (10,1)	50,3 (12,3)	<0,001
Тривалість захворювання, роки, M (SD)	8,7 (2,5)	4,3 (1,8)	1,2 (0,4)	<0,001
Стать, n (%)	Чол.	15 (33,3%)	24 (33,3%)	0,195
	Жін.	30 (66,7%)	48 (66,7%)	

*Примітки:*

*розбіжності між кількісними ознаками за F критерієм Фішера;*

*розбіжності за статтю за критерієм  $\chi^2$  Пірсона*

Таблиця 4.4

**Загально-клінічні показники у пацієнтів з ПБКГ за алелями rs1799983**

Показник	Алелі rs1799983		p	
	G, n=162	T, n=144		
Вік, роки, M (SD)	69,3 (9,4)	60,2 (14,9)	<0,001	
Тривалість захворювання, роки, M (SD)	6,7 (2,3)	2,8 (2,5)	<0,001	
Стать, n (%)	Чол.	54 (33,33 %)	60 (41,67 %)	0,132
	Жін.	108 (66,67 %)	84 (58,33 %)	

*Примітки:*

*розбіжності між кількісними ознаками за за t критерій Стьюдента;*

*розбіжності за статтю за критерієм  $\chi^2$  Пірсона*

Натомість, стратифікація пацієнтів за статтю (табл. 4.5 і 4.6) показала, що у жінок, на відміну від чоловіків, зберігався зв'язок алельного SNV з ПБКГ ( $p=0,043$ ): для предкового алелю G – ВШ=0,50; ВІ 0,25-0,99; для мінорного алелю T – ВШ=2,00 (95 % ДІ 1,01-3,95).



Таблиця 4.5

**Частота генотипів і алелей SNV rs1799983 гена NOS3 та вплив на розвиток  
ПВКГ у жінок**

Генотипи Алелі	ПВКГ, n (f)	Контроль, n (f)	p	ВШ	95% ДІ
<i>GG</i>	30 (0,313)	12 (0,480)	0,113	0,49	0,20 - 1,21
<i>GT</i>	48 (0,500)	12 (0,480)		1,08	0,45 - 2,61
<i>TT</i>	18 (0,187)	1 (0,400)		5,54	0,70 - 43,67
<i>G</i>	108 (0,563)	36 (0,720)	0,043	0,50	0,25 - 0,99
<i>T</i>	84 (0,437)	14 (0,280)		2,00	1,01 - 3,95

*Примітки:*

*f* – частота у діапазоні від 0 до 1;

*p* – розбіжності між алелями за критерієм  $\chi^2$  Пірсона;

*ВШ* – відношення шансів з 95% ДІ

Таблиця 4.6

**Частота генотипів і алелей SNV rs1799983 гена NOS3 та вплив на розвиток  
ПВКГ у чоловіків**

Генотипи алелі	ПВКГ, n (f)	Контроль, n (f)	p	ВШ	95% ДІ
<i>GG</i>	15 (0,263)	8 (0,364)	0,260	0,63	0,22 - 1,79
<i>GT</i>	24 (0,421)	11 (0,500)		0,73	0,27 - 1,95
<i>TT</i>	18 (0,316)	3 (0,136)		2,92	0,77 - 11,16
<i>G</i>	54 (0,474)	27 (0,614)	0,115	0,49	0,24 - 0,98
<i>T</i>	60 (0,526)	17 (0,386)		1,49	0,74 - 3,00

*Примітки:*

*f* – частота у діапазоні від 0 до 1;

*p* – розбіжності між алелями за критерієм  $\chi^2$  Пірсона;

*ВШ* – відношення шансів з 95% ДІ

Зв'язку генотипів при стратифікації за статтю встановлено не було ані для жінок ( $p=0,113$ ), ані для чоловіків ( $p=0,260$ ).

Таким чином, встановлено, що у жінок, носійок мінорного алелю Т, ризик ПВКГ був у 2,0 рази більшим ( $p<0,001$ ), у порівнянні з жінками контрольної групи.

Аналіз результатів офтальмологічного дослідження вказував на більшу тяжкість перебігу ПВКГ у носіїв мінорного генотипу ТТ (табл. 4.7) у порівнянні з

іншими генотипами.

Таблиця 4.7

**Результати офтальмологічного дослідження у пацієнтів з ПВКГ за генотипами rs1799983 (результати гіршого ока); Me (Q1 - Q3)**

Показник	Генотип rs1799983			p
	GG, n=45	GT, n=72	TT, n=36	
МГЗК, ум.од.	0,40 (0,20 – 1,0)	0,60 (0,15 – 0,80)	0,20 (0,03 – 1,0)	0,232
ВОТ, мм рт. ст.	14,0 (9,0 – 24,0)	13,5 (11,0 – 26,0)	19,0 (14,5 – 28,5)	0,013
MD, дБ	-16,18 (-24,68 – -2,18)	-24,59 (-29,93 – -9,86)	-28,16 (-31,29 – -19,8)	<0,001
PSD, дБ	4,0 (2,07 – 7,89)	7,24 (5,32 – 10,81)	8,32 (2,28 – 10,62)	0,002
RNFL, мкм	77,08 (62,41 – 100,25)	65,66 (56,98 – 74,8)	65,01 (57,71 – 67,07)	<0,001
GCC, мкм	82,73 (67,16 – 93,54)	76,51 (63,16 – 85,37)	68,27 (61,98 – 78,17)	<0,001
Cup/Disk Area Ratio	0,62 (0,46 – 0,81)	0,79 (0,65 – 0,90)	0,78 (0,69 – 0,84)	0,010

Примітка: розбіжності за H – критерієм Краскала-Уолліса

Такі пацієнти мали достеменно вищий ВОТ у гіршому оці (p=0,013) та гірші показники периметричного обстеження – MD (p<0,001); PSD (p=0,002). Також статистично суттєво меншими були показники товщини шару нервових волокон сітківки – RNFL (p<0,001) та комплексу гангліозних клітин макули GCC (p<0,001). Відношення площі екскавації до площі диску зорового нерва (Cup/Disk Area Ratio), яке відбиває ступінь прогресії глаукоми, було більшим у пацієнтів-носіїв мінорного генотипу TT (p=0,010).

Так само і у носіїв ризикового алелю T показники офтальмологічного дослідження були гіршими у порівнянні з носіями предкового алелю G (табл. 4.8).

Таблиця 4.8

**Результати офтальмологічного дослідження у пацієнтів з ПБКГ за алелями  
rs1799983 (результати гіршого ока); М (SD)**

Показник	Алелі rs1799983		P
	G, n=162	T, n=144	
МГЗК, ум.од.	0,53 (0,28)	0,46 (0,10)	0,119
ВОТ, мм рт. ст.	16,35 (4,81)	19,56 (6,42)	0,001
MD, дБ	-17,67 (4,76)	-23,42 (7,36)	<0,001
PSD, дБ	6,37 (1,81)	7,15 (2,79)	0,081
RNFL, мкм	74,34 (8,30)	66,87 (14,42)	<0,001
GCC, мкм	78,96 (14,34)	72,89 (3,18)	<0,001
Cup/Disk Area Ratio	0,69 (0,20)	0,75 (0,15)	0,012

*Примітка. розбіжності за t критерієм Стьюдента*

Носії алелю Т у порівнянні з носіями алелю G мали суттєво вищий ВОТ (на 3,21 мм рт. ст. (95 % ДІ 1,94 – 4, 48); p=0,001) та гірший показник периметричного обстеження (MD – на -5,75 дБ (95 % ДІ -7,04 – -4,28); p<0,001). Статистично суттєво меншою була товщина шару нервових волокон сітківки (RNFL – на 7,47 мкм (95 % ДІ 4,93 – 10,15); p<0,001) та комплексу гангліозних клітин макули (GCC – на 6,07 мкм (95 % ДІ 3,67 – 8,47); p<0,001). Ступінь прогресії глаукоми за відношенням площі екскавації до площі диску зорового нерва (Cup/Disk Area Ratio) було більшим у пацієнтів-носіїв ризикового алелю Т (p=0,012).

Такі результати дозволили встановити певну схильність до розвитку ПБКГ у носіїв ризикового генотипу ТТ та алелі Т, у яких ПБКГ розвивався в більш молодшому віці, при цьому ВОТ у гіршому оці був вищим, показники периметрії гірші при більш вираженому пошкодженні гангліозних клітин сітківки та прогресії глаукоматозних змін.

Таким чином, наявність мінорного алелю Т SNV rs1799983 (G894T, Glu298Asp) гена NOS3 є фактором ризику ПБКГ. Ризик розвитку захворювання у

хворих-носіїв алелю Т з української етнічної популяції, за даними цього дослідження, збільшено у 1,8 рази (ВШ=1,806; 95% ДІ 1,11-2,93;  $p=0,016$ ) у порівнянні з контрольною групою.

Носії генотипу ТТ мають у 3,3 рази більший ризик ( $p<0,001$ ) ПБКГ, ніж носії інших генотипів (GG+GT). Стратифікація за статтю показала збереження зв'язку з ПБКГ у жінок-носійок ризикового алелю Т (ВШ=2,00; ВІ 1,01-3,95;  $p=0,043$ ).

За наявності ризикового генотипу ТТ та алелю Т rs1799983, ПБКГ розвивалася у більш молодшому віці, такі особи мали вищий внутрішньоочний тиск, гірші показники периметрії (MD та PSD), меншу товщину шарів нервових волокон сітківки (RNFL) та комплексу гангліозних клітин макули (GCC), більше відношення площі екскавації до площі диску зорового нерва (Cup/Disk Area Ratio).

#### **4.2 Зв'язок первинної відкритокутової глаукоми з одонуклеотидними варіаціями rs2070744 (T-786C) гена ендотеліальної NO-синтази (NOS3)**

На першому етапі дослідження дані, що було отримано по розподілу генотипів та алелей у контрольній групі, було порівняно з відкритими даними Програми 1000 Genomes Project Phase 3 (<http://www.internationalgenome.org>) для європейської популяції. В цілому, мала місце відповідність результатів: предковий генотип CC у європейській популяції мав частоту 0,183, у наших дослідженнях – 0,191 (рис. 4.2).

Частота гетерозиготи СТ співпала, склала 0,511 і за даними Програми, і за нашими результатами. Частота гомозиготи ТТ склала 0,306 за даними Програми, у наших дослідженнях – 0,298. Предковий алель С у європейської популяції був визначений з частотою 0,438, у наших дослідженнях – 0,447; алель Т – 0,562, у наших дослідженнях – 0,553. Всі порівняння були статистично не значущі ( $p>0,05$ ).

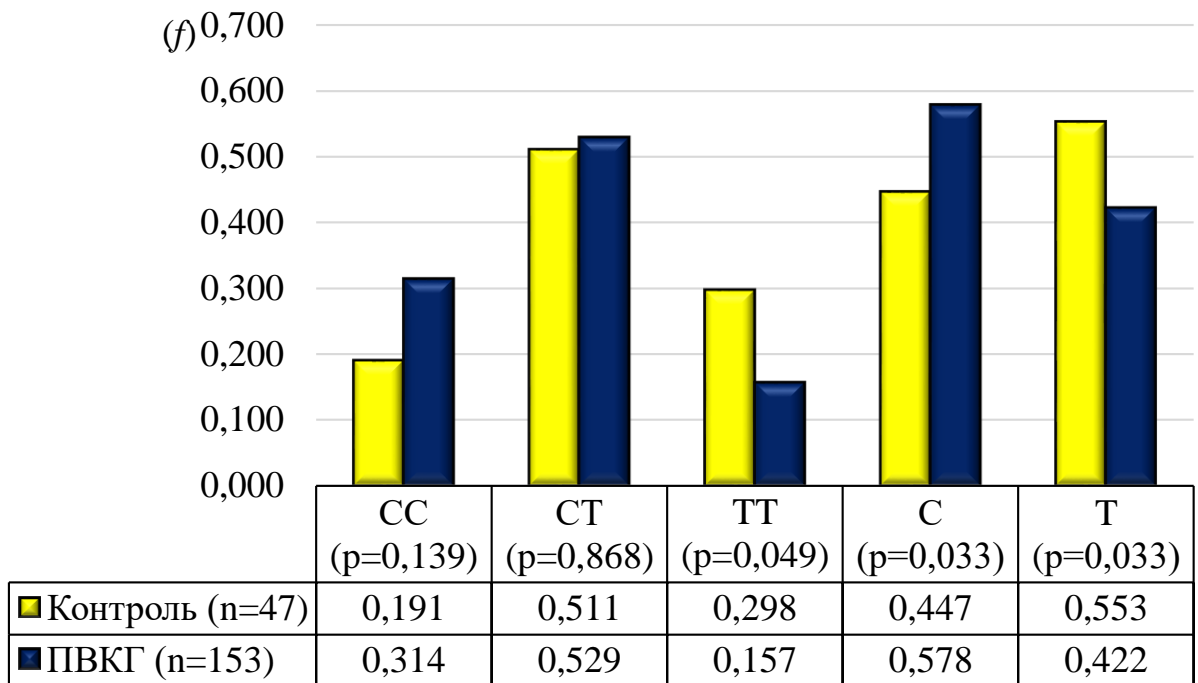


Рис. 4.2 Частота генотипів і алелей rs2070744 гена NOS3 у пацієнтів з ППКГ та в контрольній групі ( $f$  у діапазоні від 0 до 1)

Примітки:  $p$  – статистична значущість розбіжностей частот за точним методом Фішера та критерієм  $\chi^2$  Пірсона

Таблиця 4.9

**Частота генотипів і алелей SNVrs2070744 гена NOS3 та асоціація з первинною відкритокутовою глаукомою**

Генотипи Алелі	ППКГ, n (f)	Контроль, n (f)	p	ВШ	95% ДІ
CC	48 (0,314)	9 (0,191)	0,059	1,930	0,865 - 4,308
TC	81 (0,529)	24 (0,511)		1,078	0,561 - 2,074
TT	24 (0,157)	14 (0,298)		0,439	0,205 - 0,940
C	177 (0,578)	42 (0,447)	0,025	1,699	1,066 - 2,706
T	129 (0,422)	52 (0,553)		0,589	0,370 - 0,938

Примітки:

$f$  – частота у діапазоні від 0 до 1;

$p$  – розбіжності за критерієм  $\chi^2$  Пірсона;

ВШ – відношення шансів з 95% ДІ

Тест Харді-Вайнберга показав випадковий характер успадкування у пацієнтів з ПВКГ і у контрольній групі ( $p=0,571$  і  $p=0,975$ , відповідно).

За розподілом генотипів та алелей у групах пацієнтів з ПВКГ та у контролі були виявлені певні розбіжності (табл. 4.9).

У пацієнтів з ПВКГ мало місце збільшення частоти предкового гомозиготного генотипу СС ( $p=0,139$ ) та зменшення частоти мінорного генотипу ТТ ( $p=0,049$ ) у порівнянні з контрольною групою (див. рис. 4.2). Відповідно, за розподілом алелей у пацієнтів з ПВКГ у порівнянні з контролем мало місце збільшення частоти предкового алеля С та зменшення частоти алеля Т, що було статистично значущим ( $p=0,025$ ).

Таким чином, при ПВКГ було виявлено суттєве зменшення частоти мінорного генотипу ТТ та алелю Т. При цьому встановлено, що розподіл генотипів rs2070744 не мав статистично значущого зв'язку з захворюванням ( $p=0,059$ ), тоді як розподіл алелей мав таку асоціацію: предковий алель С збільшував ризик ПВКГ у 1,7 рази (ВШ=1,699; 95% ДІ 1,066-2,706;  $p=0,025$ ). Отже, алель Crs2070744 може визначати генетичну схильність до розвитку ПВКГ в українській етнічній популяції.

Мінорний алель Т зменшував ризик ПВКГ у 1,7 рази (ВШ=0,589; 95% ДІ 0,370-0,938;  $p=0,025$ ). Такий результат вказував на протективну роль SNV rs2070744 гену NOS3 у відношенні ПВКГ.

Аналіз моделей успадкування (табл. 4.10) показав статистичну значущість рецесивної (СС+СТ vs ТТ;  $p=0,032$ ), але не домінантної моделі (СТ+ТТ vs СС;  $p=0,105$ ).

Було показано, що носії предкової алелі С (генотипи СС+СТ) мали вищий ризик розвитку ПВКГ у порівнянні з гомозиготами ТТ ( $p=0,032$ ), тоді як носії мінорної гомозиготи ТТ мали у 2,3 рази менший ризик у порівнянні з носіями генотипів СТ і СС ( $p=0,032$ ).

Таблиця 4.10

**Зв'язок генотипів rs2070744 гена NOS3 з ПВКГ за рецесивною та домінантною моделями успадкування**

Генотипи	ПВКГ, n (f)	Контроль, n (f)	p	ВШ	95% ДІ
Рецесивна модель					
<i>CC+CT</i>	129 (0,843)	33 (0,702)	0,032	2,280	1,064 - 4,886
<i>TT</i>	24 (0,157)	14 (0,298)		0,439	0,205 - 1,019
Домінантна модель					
<i>CC</i>	48 (0,314)	9 (0,191)	0,105	1,930	0,865 - 4,308
<i>CT+TT</i>	105 (0,686)	38 (0,809)		0,518	0,232 - 1,125

*Примітки:*

*f* – частота у діапазоні від 0 до 1;

*p* – розбіжності між алелями за критерієм  $\chi^2$  Пірсона;

*ВШ* – відношення шансів з 95% ДІ

Виходячи з таких результатів, був проаналізований вплив SNV rs2070744 на фенотип пацієнтів з ПВКГ (табл. 4.11). Було з'ясовано, що пацієнти-носії генотипів СТ та ТТ rs2070744 у порівнянні з носіями генотипу СС були старшого віку (відповідно, на 13,9 (95 % ДІ 9,6 – 18,2) та 13,2 років (95 % ДІ 6,9 – 19,5);  $p < 0,001$ ), а тривалість захворювання у них була статистично суттєво вища (відповідно, на 7,8 (95 % ДІ 6,8 – 8,8) та 4,2 років (95 % ДІ 3,7 – 4,7);  $p < 0,001$ ).

Відповідно, можна зробити висновок, що у носіїв предкового генотипу ризику СС rs2070744 ПВКГ розвивалася у більш молодшому віці, а її перебіг був більш стрімким. Отже, SNV rs2070744 уповільнював розвиток захворювання.

При аналізі розподілу віку пацієнтів по алелям також було встановлено, що носії мінорного алелю Т були на 7,4 років (95 % ДІ 5,9 – 9,4) ( $p < 0,001$ ) старшими за носіїв предкового алелю С. Також і тривалість захворювання у носіїв Т-алелю була більшою (на 3,4 років (95 % ДІ 2,1 – 5,2);  $p < 0,001$ ).

Таблиця 4.11

**Загально-клінічні показники у пацієнтів з первинною відкритокутовою  
глаукомою за генотипами rs2070744 гена NOS3**

Показник	Генотип rs2070744			p
	CC (n=48)	CT (n=81)	TT (n=24)	
Вік, роки, М (SD)	55,6 (14,3)	69,5 (10,4)	68,8 (8,2)	<0,001
Тривалість захворювання, роки, М (SD)	1,4 (0,37)	5,6 (1,7)	9,2 (3,3)	<0,001
Стать, n (%)	Чол.	21 (43,7%)	24 (29,6%)	0,103
	Жін.	27 (56,3%)	57 (70,4%)	

*Примітки:*

*розбіжності між кількісними ознаками за F критерієм Фішера;*

*розбіжності за статтю за критерієм  $\chi^2$  Пірсона*

За статтю пацієнти з ПВКГ та контрольної групи по розподілу генотипів та алелів rs2070744 статистично значуще не відрізнялися (див. табл. 4.11 та 4.12).

Таблиця 4.12

**Загально-клінічні показники у пацієнтів з ПВКГ за алелями rs2070744**

Показник	Алелі rs2070744		p
	C, n=177	T, n=129	
Вік, роки, М (SD)	61,9 (14,4)	69,3 (9,6)	<0,001
Тривалість захворювання, роки, М (SD)	3,3 (0,3)	7,0 (1,6)	<0,001
Стать, n (%)	Чол.	66 (37,29 %)	0,988
	Жін.	111 (62,71 %)	

*Примітки:*

*розбіжності між кількісними ознаками за за t критерій Стьюдента;*

*розбіжності за статтю за критерієм  $\chi^2$  Пірсона*

Розрахунок асоціації SNVrs2070744 з ПВКГ окремо для чоловіків та жінок



значущого зв'язку не виявив (у чоловіків для генотипів  $p=0,413$ , для алелів  $p=0,159$ ; у жінок для генотипів  $p=0,122$ , для алелів  $p=0,080$ ).

Порівняння показників офтальмологічного обстеження у хворих-носіїв різних генотипів виявило певні розбіжності (табл. 4.13). В цілому, носії генотипу *TT* rs2070744 мали менш тяжкий перебіг захворювання, ніж носії інших генотипів. Так, носії генотипу *TT* rs2070744 мали кращі показники периметричного обстеження – MD ( $p<0,001$ ); PSD ( $p=0,010$ ), більшу товщину шарів нервових волокон сітківки – RNFL ( $p<0,001$ ) та комплексу гангліозних клітин макули – GCC ( $p<0,001$ ).

Цікаво, що гетерозиготи по офтальмологічним показникам займали проміжне положення між гомозиготами, що, на наш погляд, вказувало на патогенетичне значення саме алелі *Crs2070744* та підтверджувало значення рецесивної моделі успадкування схильності до ПВКГ для предкового алелю (див. табл. 4.10).

Таблиця 4.13

**Результати офтальмологічного дослідження  
за генотипами rs2070744 (результати гіршого ока); Me (Q1 - Q3)**

Показник	Генотип rs2070744			p
	<i>CC</i> ( <i>n</i> =48)	<i>TC</i> ( <i>n</i> =81)	<i>TT</i> ( <i>n</i> =24)	
МГЗК, ум.од.	0,45 (0,13 – 1,0)	0,40 (0,02 – 0,70)	0,70 (0,25 – 1,0)	0,147
ВОТ, мм рт. ст.	17,0 (12,0 – 24,5)	14,0 (10,0 – 25,0)	21,0 (11,5 – 25,5)	0,222
MD, дБ	-27,11 (-30,18 – -18,42)	-24,39 (-30,05 – -9,75)	-8,52 (-19,81 – -1,84)	<0,001
PSD, дБ	8,96 (2,32 – 10,70)	6,62 (2,62 – 9,42)	3,39 (1,85 – 6,84)	0,010
RNFL, мкм	66,45 (59,0 – 77,79)	65,11 (56,56 – 71,26)	93,31 (70,71 – 100,25)	<0,001
GCC, мкм	70,15 (63,79 – 85,91)	74,85 (63,16 – 81,97)	92,8 (82,8 – 95,95)	<0,001
Cup/Disk Area Ratio	0,75 (0,63 – 0,83)	0,79 (0,62 – 0,90)	0,64 (0,46 – 0,81)	0,222

*Примітка: розбіжності за H – критерієм Краскала-Уолліса*

Порівняння показників офтальмологічного обстеження у пацієнтів з ПВКГ, носіїв різних алелів rs2070744 відповідало розбіжностям за генотипами. Носії алелю T rs2070744 мали менш тяжкий перебіг захворювання у порівнянні з носіями алелю C (табл. 4.14): носії алелю T мали кращі показники периметричного обстеження (MD – на -4,68 дБ (95 % ДІ -6,04 – -3,32);  $p < 0,001$ ; PSD – на 1,19 дБ (95 % ДІ 0,56 – 1,82);  $p = 0,009$ ), більшу товщину шарів нервових волокон сітківки (RNFL – на 5,57 мкм (95 % ДІ 2,18 – 8,97);  $p = 0,007$ ) та комплексу гангліозних клітин макули (GCC – на 4,61 мкм (95 % ДІ 1,43 – 7,79);  $p = 0,006$ ).

Отже, не дивлячись на більший вік та тривалість захворювання, у носіїв алелі T rs2070744 розвиток ПВКГ був повільнішим, ніж у носіїв алелі C.

*Таблиця 4.14*

**Результати офтальмологічного дослідження у пацієнтів з ПВКГ за алелями rs2070744 (результати гіршого ока); M (SD)**

Показник	Алелі rs2070744		p
	C, n=177	T, n=129	
МГЗК, ум.од.	0,49 (0,14)	0,51 (0,18)	0,695
ВОТ, мм рт. ст.	18,05 (5,17)	17,60 (4,14)	0,660
MD, дБ	-22,35 (6,01)	-17,67 (5,92)	<0,001
PSD, дБ	7,23 (2,84)	6,04 (2,67)	0,009
RNFL, мкм	68,49 (15,59)	74,06 (18,31)	0,007
GCC, мкм	74,18 (13,97)	78,79 (13,91)	0,006
Cup/Disk Area Ratio	0,73 (0,18)	0,71 (0,19)	0,621

*Примітка. розбіжності за t критерієм Стьюдента*

Таким чином, встановлена генетична схильність до розвитку ПБКГ у носіїв предкового алелю С rs2070744, у яких ризик ПБКГ було збільшено у 1,7 рази (ВШ=1,699; 95% ДІ 1,066-2,706;  $p=0,025$ ). При цьому, захворювання розвивалося у молодшому віці та супроводжувалося швидким розвитком, гіршими показниками периметрії та більш вираженою дистрофією шарів сітківки, що свідчило про активніший розвиток ГОН у порівнянні з носіями інших генотипів. Також можна було встановити, що алельний SNV rs2070744 гену NOS3 мав протективний ефект у відношенні розвитку ПБКГ: носії алелю Т мали кращі показники периметрії (MD та PSD) та більшу товщину шарів нервових волокон сітківки (RNFL) і комплексу гангліозних клітин макули (GCC).

#### **4.3 Зв'язок однонуклеотидних варіацій rs1799983 та rs2070744 гена NOS3 з різними стадіями первинної відкритокутової глаукоми**

Як вже було показано, при порівнянні розподілу генотипів SNV rs1799983 (див. рис. 4.1) у пацієнтів з ПБКГ з контролем, була виявлена тенденція до зменшення частоти предкового генотипу GG (у 1,4 рази;  $p=0,110$ ) та збільшення частоти мінорної гомозиготи TT (у 2,8 рази;  $p=0,023$ ). Стратифікація пацієнтів за стадіями ПБКГ показала наявність певного перерозподілу при збільшенні тяжкості патологічного процесу – частота предкового генотипу GG достеменно зменшувалася, а частота мінорного генотипу TT – збільшувалася тільки у пацієнтів з III і IV стадіями ПБКГ (рис. 4.3).

Без стратифікації по стадіям вплив генотипів на розвиток ПБКГ статистичної значущості не мав ( $p=0,051$ ).

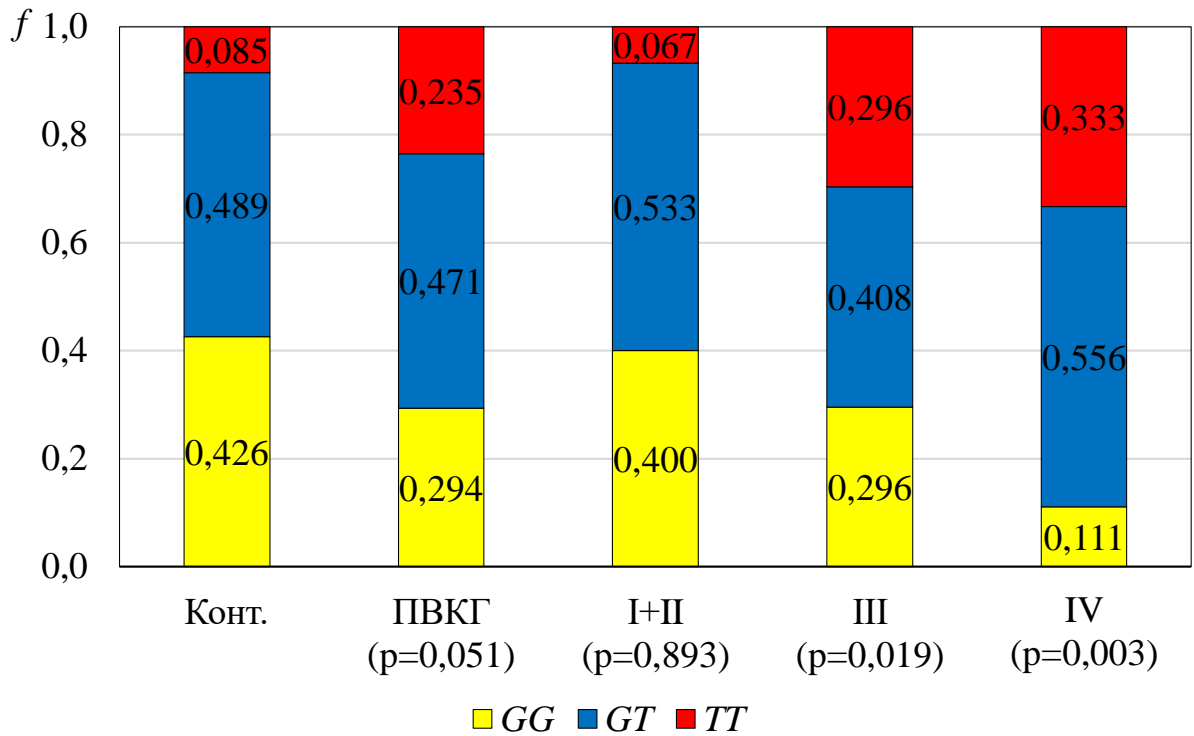


Рис. 4.3 Розподіл частот генотипів SNV rs1799983 гена NOS3 при стратифікації за стадіями ПВКГ ( $f$  у діапазоні від 0 до 1)

Примітка:  $p$  – порівняння з контролем за критерієм  $\chi^2$

Натомість, стратифікація випадків за стадіями ПВКГ показала (табл. 4.15), що вплив генотипів, у порівнянні з контролем, був статистично суттєвим для III ( $p=0,019$ ) і, більшою мірою, для IV стадії ( $p=0,003$ ), але не для початкових стадій ( $p=0,893$ ).

Таблиця 4.15

#### Розподіл генотипів rs1799983 при стратифікації по стадіям ПВКГ

Група Стадія	Генотипи, n (f)			p	
	GG	GT	TT		
Контроль	20 (0,426)	23 (0,489)	4 (0,085)	0,051	
ПВКГ	45 (0,294)	72 (0,471)	36 (0,235)		
Стадія	I+II	18 (0,400%)	24 (0,533)	3 (0,067%)	0,893
	III	24 (0,296%)	33 (0,408)	24 (0,296%)	0,019
	IV	3 (0,111%)	15 (0,556)	9 (0,333%)	0,003
$p < 0,001$				-	

*Примітки:*

*f* – частота у діапазоні від 0 до 1;

*p* – розбіжності за критерієм  $\chi^2$  Пірсона;

*VШ* – відношення шансів з 95% ДІ

Так само і порівняння розподілу алелів rs1799983 у пацієнтів з ПВКГ і в контрольній групі (див. рис. 4.1) показало статистично значуще зменшення частоти предкового алелю G та збільшення частоти мінорного алелю T ( $p=0,017$ ). Стратифікація за стадіями ПВКГ показала, що розподіл алелів при початкових стадіях (I+II) не відрізнявся від контрольного (для алелю G 0,667 проти 0,670, для алелю T – 0,333 проти 0,330;  $p=0,959$ ). При III і IV стадіях ПВКГ різниця розподілу була статистично значущою (відповідно, при III стадії: для алелю G 0,500 проти 0,670, для алелю T 0,500 проти 0,330;  $p=0,008$ ; для IV стадії: для алелю G 0,389 проти 0,670, для алелю T 0,611 проти 0,330;  $p<0,001$ ).

Вплив алелів на розподіл пацієнтів по групам (контроль і ПВКГ) мав статистичну значущість при  $p=0,016$ , тоді як стратифікації за стадіями ПВКГ показала збереження цього зв'язку для III ( $p=0,008$ ) і, більшою мірою, для IV стадій ( $p<0,001$ ) у порівнянні з контролем (табл. 4.16).

*Таблиця 4.16*

**Розподіл алелей rs1799983 при стратифікації по стадіям ПВКГ**

Група		Алелі, n (f)		p
		G	T	
Контроль		63 (0,670)	31 (0,330)	0,016
ПВКГ		162 (0,529)	144 (0,471)	
Стадія	I+II	60 (0,667)	30 (0,333)	0,959
	III	81 (0,500)	81 (0,500)	0,008
	IV	21 (0,389)	33 (0,611)	<0,001
		$p<0,001$		

*Примітки:*

*f* – частота у діапазоні від 0 до 1;

*p* – розбіжності за критерієм  $\chi^2$  Пірсона;

*VШ* – відношення шансів з 95% ДІ

Аналіз залежності офтальмологічних показників від генотипів показав, що носії генотипу TT rs1799983 (див. табл. 4.8), у порівнянні з носіями інших генотипів, мали більший VOT, гірші результати периметричного обстеження, меншу товщину шарів нервових волокон сітківки (RNFL) і комплексу гангліозних клітин макули (GCC) та більше відношення площі екскавації до площі диску зорового нерва (Cup/Disk Area Ratio).

При стратифікації за стадіям ПБКГ (табл. 4.17) було встановлено, що у пацієнтів з початковими стадіями (I+II) носіїв генотипів GT і TT PSD був меншим, ніж у носіїв предкового генотипу GG, також статистично суттєво меншими були товщина шару нервових волокон сітківки (RNFL) та комплексу гангліозних клітин макули (GCC).

Таблиця 4.17

**Результати офтальмологічного дослідження у пацієнтів на різних стадіях ПБКГ по генотипам rs1799983 (результати гіршого ока); M (SD)**

Показник	Генотипи			P
	GG	GT	TT	
I+II стадія				
PSD, дБ	1,77 (0,05)	6,84 (3,65)	11,62 (1,20)	0,005
RNFL, мкм	92,83 (5,85)	78,97 (13,33)	63,97 (3,20)	0,029
GCC, мкм	94,38 (1,53)	79,28 (7,38)	72,44 (2,08)	0,001
III стадія				
VOT, мм рт. ст.	14,75 (3,15)	14,72 (4,74)	20,50 (6,31)	0,015
MD, дБ	-20,90 (5,63)	-24,28 (5,23)	-25,26 (5,27)	0,015
RNFL, мкм	70,39 (13,55)	62,21 (7,72)	63,50 (14,07)	0,025
IV стадія				
МГЗК	0,037 (0,015)	0,008 (0,002)	0,007 (0,0015)	0,027

*Примітка. розбіжності за F критерієм Фішера*

При III стадії ПБКГ носії генотипу TT мали більший VOT та показник MD при меншій товщині шару нервових волокон сітківки (RNFL). При IV стадії вони

відрізнялися найнижчою гостротою зору. Необхідно зазначити, що деякі з цих показників у носіїв гетерозиготного генотипу GT або займали проміжне положення між гомозиготами, або фактично не відрізнялися від носіїв генотипу ризику TT. Це, на нашу думку, підкреслювало патологічну роль мінорного алелю T та його вплив на фенотип ПВКГ.

Розподіл генотипів SNV rs2070744 у пацієнтів з ПВКГ показав тенденцію до збільшення частоти предкового генотипу CC (у 1,6 рази;  $p=0,139$ ) та зменшення частоти мінорної гомозиготи TT (у 1,9 рази;  $p=0,049$ ) у порівнянні з контрольною групою (див. рис. 4.2). Стратифікація пацієнтів за стадіями ПВКГ показала наявність перерозподілу частоти генотипів при збільшенні тяжкості патологічного процесу. Частота предкового генотипу CC мала тенденцію до збільшення, що набувало статистичної значущості тільки при IV стадії ПВКГ. Частота мінорного генотипу TT зменшувалася, а серед пацієнтів з IV стадією ПВКГ загалом носіїв цього генотипу виявлено не було (рис. 4.4).

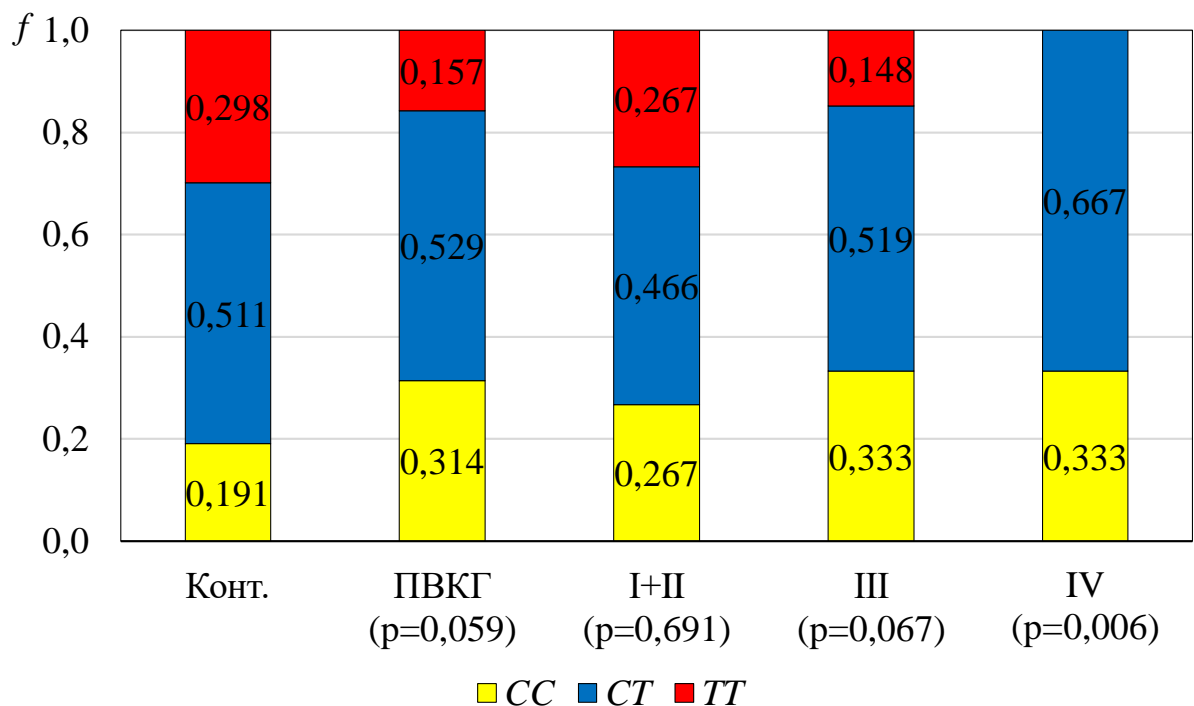


Рис. 4.4 Розподіл частот генотипів ( $f$ ) SNVrs2070744 гена NOS3 при стратифікації за стадіями ПВКГ ( $f$  у діапазоні від 0 до 1)

Примітка:  $p$  – порівняння з контролем за критерієм  $\chi^2$

Вплив генотипів на розвиток ПБКГ статистичної значущості не мав ( $p=0,059$ ), тоді як стратифікація за стадіями показала (табл. 4.18), що вплив генотипів, у порівнянні з контролем, був достеменним тільки для IV стадії ( $p=0,006$ ).

Таблиця 4.18

**Розподіл генотипів rs2070744 по групах пацієнтів  
і при стратифікації по стадіям ПБКГ**

Група		Генотипи; n (f)			p
		CC	CT	TT	
Контроль		9 (0,191)	24 (0,511)	14 (0,298)	0,059
ПБКГ		48 (0,314)	81 (0,529)	24 (0,157)	
Стадія	I+II	12 (0,267)	21 (0,466)	12 (0,267)	0,691
	III	27 (0,333)	42 (0,519)	12 (0,148)	0,067
	IV	9 (0,333)	18 (0,667)	0 (0)	0,006
$p=0,001$					

*Примітки:*

*f* – частота у діапазоні від 0 до 1;

*p* – розбіжності за критерієм  $\chi^2$  Пірсона;

*VIII* – відношення шансів з 95% ДІ

Порівняння розподілу алелей rs2070744 у пацієнтів з ПБКГ та контрольної групи (див. рис. 4.2) показало статистично значуще збільшення частоти предкового алелю С та зменшення частоти мінорного алелю Т ( $p=0,033$ ). Стратифікація за стадіями ПБКГ показала, що розподіл алелів при початкових стадіях (I+II) не відрізнявся від контрольного (для алелю С – 0,333 проти 0,447, для алелю Т – 0,667 проти 0,553;  $p=0,242$ ). Натомість, при III і IV стадіях ПБКГ різниця розподілу алелів була статистично значущою (відповідно, при III стадії: для алелю С – 0,593 проти 0,447, для алелю Т – 0,407 проти 0,553;  $p=0,024$ ; для IV стадії: для алелю С – 0,667 проти 0,447, для алелю Т – 0,333 проти 0,553;  $p=0,010$ ).



Вплив алелів на розвиток ПБКГ мав статистичну значущість при  $p=0,025$ . При стратифікації за стадіями (табл. 4.19) вплив розподілу алелів зберігав статистичну значущість для III ( $p=0,024$ ) і IV стадій ( $p=0,010$ ).

Таблиця 4.19

**Розподіл алелей rs2070744 при стратифікації  
по стадіям ПБКГ**

Група		Алелі; n (f)		p
		C	T	
Контроль		42 (0,447)	52 (0,553)	0,025
ПБКГ		177 (0,578)	129 (0,422)	
Стадія	I+II	12 (0,333)	24 (0,667)	0,242
	III	96 (0,593)	66 (0,407)	0,024
	IV	36 (0,667)	18 (0,333)	0,010
		p=0,012		

*Примітки:*

*f* – частота у діапазоні від 0 до 1;

*p* – розбіжності за критерієм  $\chi^2$  Пірсона;

*VIII* – відношення шансів з 95% ДІ

Аналіз залежності фенотипу ПБКГ від генотипів rs2070744 (див. табл. 4.14) показав, що носії генотипу CC, у порівнянні з носіями генотипу TT, мали гірші результати периметричного обстеження та меншу товщину шарів нервових волокон сітківки (RNFL) і комплексу гангліозних клітин макули (GCC). При стратифікації за стадіями ця закономірність цілком була підтверджена для початкових стадій ПБКГ (табл. 4.20), які мали достеменно гірші показники периметричного обстеження (MD та PSD) і меншу товщину RNFL і GCC.

В принципі, аналогічна ситуація спостерігалася і при III і IV стадіях ПБКГ.

Таблиця 4.20

**Результати офтальмологічного дослідження у пацієнтів на різних стадіях ПБКГ по генотипам rs2070744 (результати гіршого ока); М (SD)**

Показник	Генотип			P
	CC	CT	TT	
I+II стадія				
MD, дБ	-16,93 (5,12)	-7,40 (1,30)	-1,96 (0,09)	<0,001
PSD, дБ	10,07 (2,13)	5,87 (1,72)	1,77 (0,15)	<0,001
RNFL, мкм	70,68 (15,68)	80,95 (10,70)	92,83 (5,86)	0,029
GCC, мкм	74,25 (9,00)	80,93 (4,82)	94,38 (1,53)	<0,001
III стадія				
MD, дБ	-25,21 (4,96)	-23,52 (5,44)	-20,08 (6,24)	0,028
RNFL, мкм	70,09 (13,34)	62,05 (6,83)	77,79 (17,22)	<0,001
GCC, мкм	76,01 (17,00)	69,36 (9,19)	85,09 (6,77)	<0,001
IV стадія				
MD, дБ	-31,33 (0,08)	-30,89 (0,45)	0	0,009

*Примітка. розбіжності за F критерієм Фішера та t-критерієм Стьюдента*

Таким чином, стратифікація за стадіями ПБКГ повністю підтвердила виявлену залежність офтальмологічних показників від генотипів обох SNV – гірші показники були визначені для носіїв генотипів TT rs1799983 і CC rs2070744. Також і порівняння офтальмологічних показників підтвердило отримані результати – гірші показники були визначені для носіїв алелей T rs1799983 і C rs2070744 (ризикові гомозиготи та гетерозиготи).

Також, для обох досліджених SNV стратифікація за стадіями ПБКГ виявила збереження достеменного зв'язку з ПБКГ для III та IV стадій. На наш погляд, це могло відображати їх більший вплив на прогресування захворювання, ніж на її виникнення.

### **Висновок за розділом**

При ПВКГ встановлена тенденція до зменшення частоти предкового генотипу GG (у 1,4 рази;  $p=0,110$ ) та збільшення частоти мінорної гомозиготи TT (у 2,8 рази;  $p=0,023$ ) SNV rs1799983 гена NOS3 при порівнянні з контролем. Також при ПВКГ було визначено зменшення частоти алелю G і збільшення частоти алелю T ( $p=0,017$ ) у порівнянні з контролем та статистично значущий зв'язок розподілу алелів з ПВКГ ( $p=0,016$ ). Вплив генотипів на розподіл пацієнтів був статистично значущим для III і IV стадій ( $p<0,02$ ).

При ПВКГ встановлена тенденція до збільшення частоти предкового генотипу CC (у 1,6 рази;  $p=0,139$ ) та зменшення частоти мінорної гомозиготи TT (у 1,9 рази;  $p=0,049$ ) SNV rs2070744 гена NOS3 при порівнянні з контролем. Також при ПВКГ було визначено збільшення частоти алелю C та зменшення частоти алелю T ( $p=0,033$ ) у порівнянні з контролем та достеменний зв'язок розподілу алелів з ПВКГ ( $p=0,025$ ). Вплив генотипів на розподіл пацієнтів був статистично значущим тільки для IV стадії ( $p=0,006$ ).

Носії ризикового генотипу TT SNV rs1799983 гена NOS3, у порівнянні з носіями інших генотипів, мали більший VOT, гірші результати периметрії, меншу товщину RNFL і GCC та більше відношення Cup/Disk Area Ratio. Носії генотипу CC SNV rs2070744 гена NOS3, у порівнянні з носіями генотипу TT, мали гірші результати периметричного обстеження та меншу товщину RNFL і GCC.

Даний розділ висвітлено в матеріалах наступних публікацій [6, 7,115].

## РОЗДІЛ 5

### ПРОГНОЗ РОЗВИТКУ ТА ПРОГРЕСУВАННЯ ПЕРВИННОЇ ВІДКРИТОКУТОВОЇ ГЛАУКОМИ

#### 5.1. Прогнозування виникнення первинної відкритокутової глаукоми у залежності від однонуклеотидних варіацій гена ендотеліальної NO-синтази (NOS3)

Результати попередніх етапів дослідження дали підставу для розробки моделі прогнозування виникнення первинної відкритокутової глаукоми, яку було проведено на підставі логістичного регресійного аналізу.

Статистична значущість незалежних змінних, що було включено до логістичного регресійного аналізу, наведено у табл. 5.1.

Таблиця 5.1

#### Модель прогнозування ймовірності розвитку ПВКГ у залежності від однонуклеотидних варіацій гена ендотеліальної NO-синтази (NOS3)

Незалежні змінні	$\beta$	$\pm SE$	95% ДІ	Wald $\chi^2$	p
Вільний член	-418,700	121,564	-643,542 – -183,391)	8,73	0,003
1NOS3	1,568	0,647	0,300-2,837	5,87	0,015
2NOS3	2,527	0,680	1,195-3,859	13,82	<0,001
Стать (1 – жінка, 0 – чоловік)	0,443	0,244	-0,661-0,866	3,31	0,069

Примітки:

$\beta$  – коефіцієнт регресії;

SE – Standard error – стандартна похибка коефіцієнту регресії;

95% ДІ – 95% довірчий інтервал для коефіцієнту регресії;

Wald – статистика Вальда;

p – рівень значущості розходження з нульовою гіпотезою

Грунтуючись на результатах аналізу Wald-статистики та інтервальних характеристик  $\beta$ -коефіцієнтів, розходження яких з нульовою гіпотезою було

статистично значущим, в якості предикторів для регресійної моделі прогнозу ПБКГ були відібрані такі змінні: SNV rs1799983 гена NOS3 (індикаторне значення 1NOS3) і SNV rs2070744 гена NOS3 (індикаторне значення 2NOS3).

У якості математичного виразу розробленої логістичної моделі може бути використана формула в такій редакції:

$$P(\text{ПБКГ}) = 1 / (1 + e^{-(-418,7 + 1,568 \times 1\text{NOS3} + 2,527 \times 2\text{NOS3})}) \quad (5.1),$$

де:  $P(\text{ПБКГ})$  – ймовірність розвитку ПБКГ у діапазоні від 0 (відсутність ПБКГ) до 1 (наявність ПБКГ);

*1NOS3* – індикаторне значення для SNV rs1799983 гена NOS3 (сполучення усіх можливих варіантів кодування у бінарному вигляді: GG = 1; GT = 0; TT = 0 і т.д.);

*2NOS3* – індикаторне значення для SNV rs2070744 гена NOS3 (сполучення усіх можливих варіантів кодування у бінарному вигляді: TT = TC = 0; CC = 0 і т.д.);

Стать – у вигляді бінарної змінної (1 – жінка, 0 – чоловік).

Розрахунок питомої ваги предикторів за ступенем їх впливу на залежну змінну (в залежності від значення бета-ваги та за розрахунком псевдо-коефіцієнтів детермінації R<sup>2</sup>) дозволив розташувати їх у ряд по спадаючій наступним чином: більший вплив чинив генотип «2NOS3» (72,2 %) і менший – генотип «1NOS3» (38,5 %).

При цьому значення результуючої змінної регресії було вище у пацієнтів при наявності в їх генотипах алелей ризику: для rs2070744 гена NOS3 алель С і для rs1799983 гена NOS3 алель Т.

Показники, що характеризували загальну ефективність моделі за відповідністю розрахованих даних фактичним, свідчили про задовільну якість математичного прогнозу:  $-2\log(\text{Likelihood})=202,59$ ;  $\chi^2=28,91$ ;  $p<0,001$ .

Для оцінки операційних властивостей розробленої моделі виконали ROC аналіз (рис. 5.1).

У розробленій логістичній моделі площа під ROC-кривою склала  $AUC=0,733\pm 0,039$  (95% ДІ 0,691-0,818;  $p<0,001$ ), що характеризує якість прогностичної моделі, як добру.

Беручи до уваги задовільні операційні характеристики моделі в цілому, була зроблена спроба знаходження оптимальної точки відсікання значень  $P_{(ПВКГ)}$  (формула 5.1), при якій результати класифікації прогнозу будуть найкращими для даної моделі. Результати пошуку відображені на рисунку 5.2.

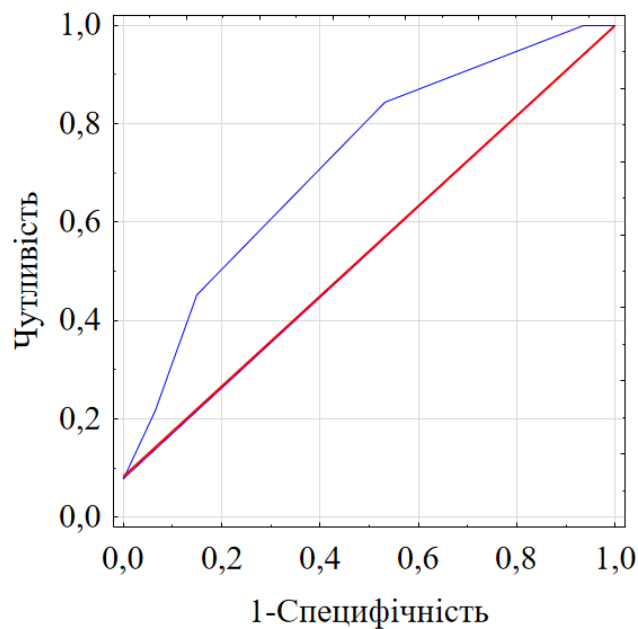


Рис. 5.1 ROC-діаграма моделі прогнозу ймовірності розвитку ПВКГ

Примітка. Діагональна лінія відповідає  $AUC=0,5$  при якій  $P_{(ПВКГ)}=0$

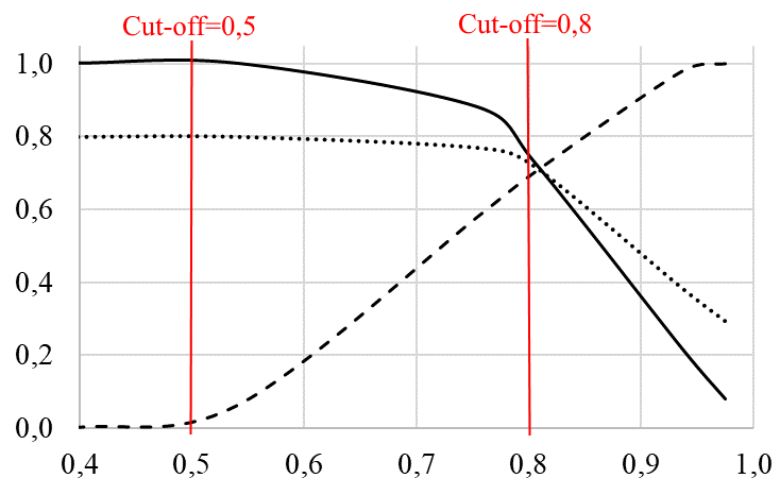


Рис.5.2 Діаграма залежності чутливості, специфічності та точності від ймовірності розвитку ПВКГ

*Примітки. Безперервною лінією зображена діаграма чутливості, пунктиром – специфічності, точковим пунктиром – точності*

*За вертикальною віссю відкладені частоти, за горизонтальною – значення ймовірності*

*Вертикальна лінія з позначкою Cut-off=0,5 відповідає стандартній точці відсікання, лінія з позначкою Cut-off=0,8 – оптимальній точці відсікання*

Результати оцінки дискримінаційної здатності моделі представлені в таблиці класифікації (табл. 5.2).

При аналізі результатів класифікації в стандартній точці поділу позитивних і негативних результатів прогнозу (Cut-off=0,5) було встановлено, що частка пацієнтів з позитивним прогнозом розвитку ПВКГ збігалася з реальним у 91,5% (прогностична цінність позитивного результату). У той же час, безпомилковий негативний прогноз відсутності ПВКГ був можливий лише в 6,38% випадків (прогностична цінність негативного результату). Це, навіть при відносно високій загальній точності прогнозу (71,5%; ВШ=0,73; 95 % ДІ 0,20-2,69;  $p=0,641$ ), не може відповідати клінічним вимогам.

*Таблиця 5.2*

**Класифікація прогнозованих та фактичних даних за приналежністю до категорій ймовірності та оцінки ризику ПВКГ**

Cut-off	Фактичні		Прогноз (n)		Показники (%)		
	Категорія	n	ПВКГ+	ПВКГ–	Se	Sp	Точність
0,5	ПВКГ+	153	140	13	91,5	6,38	71,5
	ПВКГ–	47	44	3			
0,8	ПВКГ+	153	111	42	72,5	70,2	72,0
	ПВКГ–	47	14	33			

*Примітки:*

*Cut-off=0,5 – стандартна точка відсікання значень  $P(\text{ПВКГ})$ ;*

*Cut-off=0,8 – оптимальна точка відсікання.*

Аналіз частотно-ймовірнісної діаграми дозволив визначити в якості оптимального порогу відсікання позитивних і негативних результатів прогнозу Cut-off=0,8. При цьому, виявлення пацієнтів з позитивним прогнозом ПВКГ (прогностична цінність позитивного результату) виявилось меншим (72,5%) від

фактичного значення, але прогностичну цінність негативного результату ПВКГ вдалося підвищити до 70,2%. Загальна точність цієї моделі склала 72,0% (ВШ 6,23; ВІ 3,03-12,78;  $p < 0,001$ ), що свідчило про задовільні дискримінаційні властивості моделі.

Далі був проведений аналіз розподілу пацієнтів з ПВКГ в залежності від комбінації генотипів SNV rs1799983 і rs2070744 гена NOS3 та розрахованої ймовірності ризику розвитку ПВКГ (формула 5.1) у порівнянні з контрольною групою (табл. 5.3).

Таблиця 5.3

**Розподіл пацієнтів з ПВКГ та контрольної групи  
у залежності від комбінації генотипів SNV  
rs1799983 і rs2070744 гена NOS3, n (%)**

Комбінації генотипів (rs1799983-rs2070744)	$P_{(ПВКГ)}$	ПВКГ (n=153)	Контроль (n=47)	p	ВШ	95 % ДІ
<i>GG-CC</i>	0,487	0	7 (14,89%)	-	-	-
<i>GG-CT</i>	0,070	21 (13,72%)	10 (21,28%)	0,249	0,59	0,25-1,36
<i>GG-TT</i>	0,006	24 (15,69%)	8 (17,02%)	0,822	0,91	0,38-2,18
<i>GT-CC</i>	0,820	25 (16,34%)	2 (4,25%)	0,048	4,39	1,00-19,30
<i>GT-CT</i>	0,267	47 (30,72%)	15 (31,91%)	0,859	0,95	0,47-1,91
<i>GT-TT</i>	0,028	0	0	-	-	-
<i>TT-CC</i>	0,956	36 (23,53%)	1 (2,13%)	<0,001	14,15	1,88-106,28
<i>TT-CT</i>	0,636	0	4 (8,51%)	-	-	-
<i>TT-TT</i>	0,122	0	0	-	-	-



*Примітки:*

$P_{(ПВКГ)}$  – ймовірність розвитку ПВКГ, що розраховано за формулою 5.1 ПВКГ у діапазоні від 0 (відсутність ПВКГ) до 1 (наявність ПВКГ);

$p$  – статистична значущість порівнянь розподілу генотипів за точним методом Фішера

Фактичний розподіл пацієнтів з ПВКГ і контрольної групи підтвердив розрахункові дані по межовому значенню ймовірності ризику розвитку ПВКГ (Cut-off=0,8).

При комбінації генотипів GT-CC та TT-CC значення ймовірності розвитку ПВКГ (формула 5.1) перевищувало межове значення (Cut-off=0,8). При цьому комбінації генотипів GT-CC збільшували ризик розвитку ПВКГ з величиною ВШ=4,39 (95% ДІ 1,00-19,30;  $p=0,048$ ), а комбінації генотипів TT-CC підвищували ризик ПВКГ з величиною ВШ=14,15 (95% ДІ 1,88-106,28;  $p<0,001$ ).

Таким чином, логістичний регресійний аналіз підтвердив вплив SNV rs1799983 та rs2070744 гена NOS3 на розвиток ПВКГ. Розрахунок їх питомої ваги за ступенем впливу на ймовірність розвитку захворювання виявив, що більший вплив чинив rs2070744 – 72,2% і менший rs1799983 – 38,5%. Була розрахована регресійна модель ризику ПВКГ залежно від генотипів SNV rs1799983 та rs2070744 гена NOS3 із задовільною якістю математичного прогнозу ( $-2\log=202,59$ ;  $\chi^2=28,91$ ;  $p<0,001$ ). Згідно цієї моделі, у носіїв комбінації генотипів GT-CC та TT-CC rs1799983 і rs2070744 значення ймовірності розвитку ПВКГ перевищувало межове значення (Cut-off=0,8), відповідно, ВШ=4,39 (95% ДІ 1,00-19,30;  $p=0,048$ ) і ВШ=14,15 (95% ДІ 1,88-106,28;  $p<0,001$ ).

## **5.2 Прогнозування швидкості прогресії первинної відкритокутової глаукоми у залежності від статі та однонуклеотидних варіацій гена ендотеліальної NO-синтази (NOS3)**

Швидкість прогресії ПВКГ ( $V_{ПВКГ}$ ), що була розрахована як відношення стадії захворювання до віку пацієнта (стадія/рік), змінювалася від 0,012 до 0,089 стадії/рік з медіаною 0,047 стадії/рік (0,013-0,081).

Стратифікація за стадіями ПВКГ та генотипами гену NOS3, показала, що

$V_{\text{ПВКГ}}$  була більшою за наявності у комбінації генотипів алелів ризику (табл. 5.4).

Таблиця 5.4

**Швидкість прогресії ПВКГ ( $V_{\text{ПВКГ}}$ ) у носіїв різних комбінації генотипів  
та за стадіями ПВКГ (стадій/рік; Me; Q1-Q3)**

Комбінації генотипів rs1799983- rs2070744	Стадія ПВКГ				p
	I	II	III	IV	
<i>GG-CT</i>	-	0,027 (0,026-0,029)	0,037 (0,036-0,037)	-	p<0,001
<i>GG-TT</i>	0,016 (0,013-0,017)	0,026 (0,026-0,026)	-	-	p<0,001
<i>GT-CC</i>	-	-	-	0,053 (0,052-0,054)	-
<i>GT-CT</i>	-	0,043 (0,041-0,046)	0,043 (0,042-0,044)	0,049 (0,049-0,049)	p=0,030
<i>TT-CC</i>	-	0,055 (0,055-0,055)	0,070 (0,061-0,079)	0,057 (0,057-0,073)	p=0,002
<i>p*</i>	-	p<0,001	p<0,001	p<0,001	-

*Примітки:*

*p* – розбіжності між стадіями за *H* критерієм Краскала-Уолліса;

*p\** – розбіжності між комбінаціями генотипів за *H* критерієм Краскала-Уолліса;

*Носіїв комбінації генотипів GG-CC, GT-TT, TT-CT та TT-TT серед пацієнтів з ПВКГ у даному дослідженні виявлено не було*

Як було раніше встановлено, до таких відносилися за SNV rs1799983 – алель Т, а за SNV rs2070744 – алель С. Відповідно, найбільша  $V_{\text{ПВКГ}}$  була характерна для комбінації генотипів TT-CC, GT-CC та GT-CT (p<0,001).

Це давало підставу вважати, що у носіїв ризикових комбінації генотипів була наявна схильність до розвитку ПВКГ високих стадій у більш ранньому віці.

Стратифікація за статтю показала значущу статистичну різницю  $V_{\text{ПВКГ}}$  за всіма комбінаціями генотипів, які були наявні у чоловіків та жінок (табл. 5.5). Це більшою мірою стосувалося носіїв-гомозигот за ризиковими алелями (TT-CC), в яких  $V_{\text{ПВКГ}}$  у жінок перевищувала таку у чоловіків у 1,4 рази (p<0,001).

Таблиця 5.5

**Швидкість прогресії ПБКГ ( $V_{\text{ПБКГ}}$ ) у чоловіків і жінок,  
носіїв різних комбінації генотипів (стадій/рік; Me; Q1-Q3)**

Комбінації генотипів rs1799983- rs2070744	Стать		p
	Чоловіки	Жінки	
<i>GG-CT</i>	0,027 (0,027-0,027)	0,036 (0,030-0,037)	p<0,001
<i>GG-TT</i>	0,013 (0,013-0,013)	0,017 (0,017-0,026)	p<0,001
<i>GT-CC</i>	-	0,053 (0,052-0,054)	-
<i>GT-CT</i>	0,040 (0,040-0,042)	0,047 (0,044-0,048)	p<0,001
<i>TT-CC</i>	0,057 (0,056-0,061)	0,079 (0,071-0,081)	p<0,001
<i>p*</i>	p<0,001	p<0,001	-

*Примітки:*

*p* – розбіжності за статтю за критерієм Мана-Уїтні

*p\** – розбіжності між комбінаціями генотипів за *H* критерієм Краскала-Уолліса

Модель прогнозу швидкості прогресії ПБКГ розроблялася за допомогою порядкової регресії. Статистична значущість незалежних змінних, включених в регресійний аналіз при побудові моделі прогнозу  $V_{\text{ПБКГ}}$ , наведена в табл. 5.6.

Таблиця 5.6

**Модель прогнозу швидкості прогресії ПБКГ ( $V_{\text{ПБКГ}}$ )**

Незалежні змінні	$\beta$	$\pm SE$	95% ДІ	Wald $\chi^2$	p
Вільний член	-3,398	0,106	- 3,608 – x3,191	-32,21	<0,001
1NOS3	0,015	0,001	0,013 -0,016	15,40	<0,001
2NOS3	0,010	0,001	0,008-0,012	10,20	<0,001
Стать	0,009	0,001	0,008 -0,011	11,41	<0,001

*Примітки:*

$\beta$  – коефіцієнт регресії;

*SE* – Standard error – стандартна похибка коефіцієнту регресії;

95% ДІ – 95% довірчий інтервал для коефіцієнту регресії;

Wald – статистика Вальда;

*p* – рівень значущості розходження з нульовою гіпотезою

Аналіз критеріїв статистичної значущості дозволив охарактеризувати відібрані предиктори: 1NOS3 ( $p < 0,001$ ; 95% ДІ 0,013 -0,016); 2NOS3 ( $p < 0,001$ ; 95% ДІ 0,008-0,012) та стать ( $p < 0,001$ ; 95% ДІ 0,008 -0,011). Відібрані незалежні предиктори мали асоціацію зі швидкістю прогресії ПВКГ.

Для кількісної оцінки зв'язку предикторів зі швидкістю прогресії ПВКГ був проведений розрахунок коефіцієнтів псевдо  $R^2$  (Pseudo R-Square) за методом Нагелькерке (Nagelkerke), що характеризували відсоткову частку дисперсії, яка пояснюється за допомогою порядкової регресії.

Було встановлено, що найбільший вплив на  $V_{\text{ПВКГ}}$  мала змінна 1NOS3 ( $R^2=0,784$ ), приблизно в однаковій мірі були пов'язані з  $V_{\text{ПВКГ}}$  змінні 2NOS3 і стать ( $R^2=0,683$  і  $R^2=0,641$ , відповідно). Для всіх показників відмінність з нульовою гіпотезою була встановлена з достовірністю  $p < 0,001$ .

Таким чином, предиктори швидкості прогресії ПВКГ можуть бути розташовані в наступний ряд по їх значущості: 1NOS3 > 2NOS3 > стать.

Розрахунок показників, що характеризують відповідність даних прогнозу фактичним, показав високу обчислювальну здатність розробленої моделі ( $p < 0,001$ ).

Аналіз розрахункових даних встановив, що  $V_{\text{ПВКГ}}$  змінювалася у пацієнтів від 0,015 до 0,074 стадій/рік з медіаною 0,049 (95% ДІ 0,015-0,075). На рис. 5.3 представлено візуальне відображення фактичних і розрахункових даних швидкості прогресії ПВКГ.

Порівняння фактичних і розрахункових значень швидкості прогресії ПВКГ не виявило значущих відмінностей між ними (табл. 5.7).

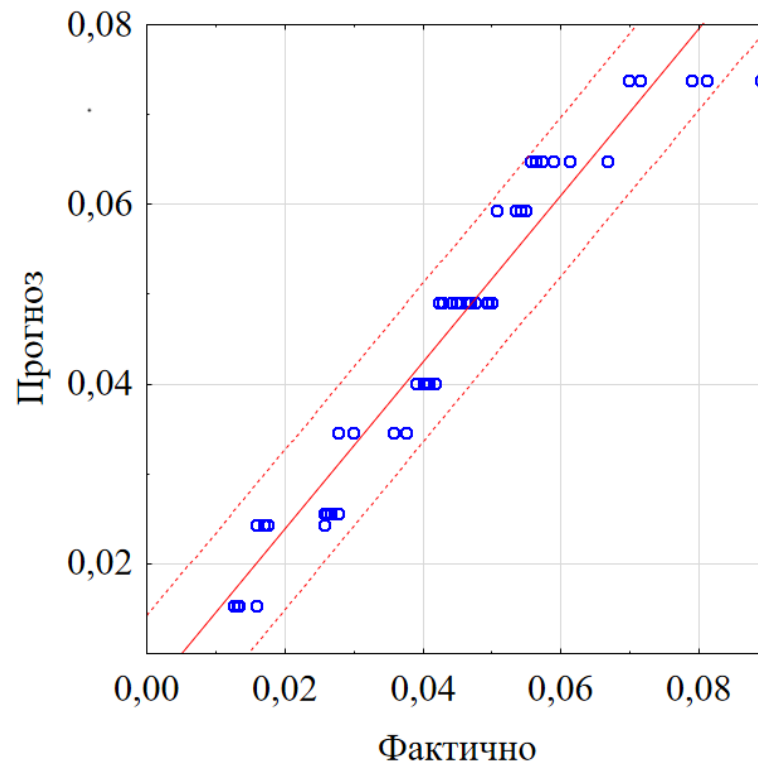


Рис. 5.3 Прогнозована (суцільна пряма лінія) і фактична (кружки) швидкість прогресії ПВКГ (стадій/рік)

Примітка. Пунктиром зазначений 95% ДІ для прогнозу

Таблиця 5.7

#### Фактичні і розрахункові дані швидкості прогресії ПВКГ (стадій/рік)

Показники	Фактичні	Прогнозовані
Me	0,047	0,048
Q1-Q3	0,036-0,055	0,035-0,055
Мінімум-Максимум	0,012-0,089	0,014-0,075
95% ДІ	0,013-0,081	0,015-0,074
Прогностична здатність за ROC аналізом	AUC=0,953 95 % ДІ 0,912 - 0,979 p<0,001	

Виходячи з даних описової статистики результатів прогнозу, можна визначити категорії, що характеризували генетично обумовлену швидкість прогресії ПВКГ, наступним чином: менше 0,036 стадій/рік – повільне прогресування; від 0,036 до

0,055 стадії/рік – помірно прогресування і більш 0,055 стадії/рік – швидке прогресування ПБКГ.

Слід зазначити, що стать впливала на розрахункову  $V_{\text{ПБКГ}}$  також і як на фактичну (див. табл. 5.6). За всіма варіантами комбінації генотипів SNV rs1799983 і rs2070744 гена NOS3  $V_{\text{ПБКГ}}$  у жінок була вищою (табл. 5.8). Відповідно змінювався й розподіл категорій, що характеризували генетично обумовлену швидкість прогресії ПБКГ.

У зв'язку з виявленими відмінностями за швидкістю прогресії ПБКГ у осіб різної статі, був проведений теоретичний розрахунок «спадково зумовленого» віку пацієнтів, в якому слід очікувати ту чи іншу стадію ПБКГ. За умовами побудови моделі мова йшла тільки про схильність за дослідженими SNV гена NOS3 (rs1799983 і rs2070744), а, отже, фактичний вік розвитку ПБКГ міг відрізнятися від прогнозованого. У той же час, розраховані значення кількісно характеризували певну генетичну схильність, що, на наш погляд, мало й практичну цінність.

Таблиця 5.8

**Розрахункові показники швидкості прогресії ПБКГ ( $V_{\text{ПБКГ}}$ ) у залежності від комбінації генотипів та статі**

Комбінації генотипів rs1799983- rs2070744	Чоловіки	Жінки
<i>GG-TT</i>	0,015	0,024
<i>GG-CT</i>	0,026	0,035
<i>GT-TT</i>	0,030	0,039
<i>GG-CC</i>	0,036	0,045
<i>GT-CT</i>	0,040	0,049
<i>TT-TT</i>	0,044	0,053
<i>GT-CC</i>	0,050	0,059
<i>TT-CT</i>	0,055	0,064
<i>TT-CC</i>	0,065	0,074

Примітка: Фоном виділені розрахункові категорії швидкості прогресії ПБКГ: білий – повільна, світло-сірий – помірна і темно-сірий – швидка прогресія захворювання

Діагностичні можливості запропонованого метода узагальнені у табл. 5.9. За наявністю алелів ризику розрахунковий вік виникнення ПБКГ зменшувався, що логічно узгоджувалося з встановленою раніше більшою прогресією ПБКГ у таких осіб.

Найбільший вік виникнення ПБКГ прогнозувався для комбінації генотипів, який мав неризикові алелі SNV rs1799983 і rs2070744 гена NOS3 (GG-TT). За наявності одного з ризикових алелів – Т rs1799983 або С rs2070744 (комбінації генотипів GG-CT, GT-TT, GG-CC) вік розвитку 1-ї стадії, тобто – виникнення ПБКГ, зменшувався (до 22-39 років), але вік розвитку 3-ї та 4-ї стадій прогнозувався дуже високим (понад 84 роки). За наявності двох ризикових алелів (решта генотипів) суттєво зменшувалися і вік виникнення, і вік розвитку ПБКГ високих стадій, що особливо було притаманно носіям комбінації генотипів TT-CC.

Таблиця 5.9

**Розрахунковий вік (років) розвитку ПБКГ за стадіями залежно від комбінації генотипів SNV rs1799983 і rs 2070744 гена NOS3**

Комбінації генотипів rs1799983-rs2070744	Стадія ПБКГ							
	I		II		III		IV	
	Чол.	Жін.	Чол.	Жін.	Чол.	Жін.	Чол.	Жін.
1	2	3	4	5	6	7	8	9
<i>GG-TT</i>	65	41	>100	82	>100	>100	>100	>100
<i>GG-CT</i>	39	29	78	58	>100	87	>100	>100
<i>GT-TT</i>	34	26	67	52	>100	77	>100	>100
<i>GG-CC</i>	28	22	56	45	84	67	>100	89
<i>GT-CT</i>	25	20	50	41	75	61	100	81
<i>TT-TT</i>	23	19	45	38	68	56	90	75
<i>GT-CC</i>	20	17	40	34	60	51	79	67
<i>TT-CT</i>	18	16	37	31	55	47	73	63
<i>TT-CC</i>	15	14	31	27	46	41	62	54

Необхідно зазначити, що загальна тенденція більшої швидкості прогресії ПБКГ у жінок зберігалася й у цьому разі. Серед носіїв однакового генотипу

прогнозований вік розвитку ПВКГ за стадіями у жінок був завжди меншим, ніж у чоловіків (див. табл. 5.9).

Для перевірки відповідності фактичних та прогнозованих значень віку виникнення ПВКГ було проведено їх порівняння (рис. 5.4) для пацієнтів з I-ю стадією. Таке порівняння не виявило значущих відмінностей між ними ( $p=0,083$ ), що доводило адекватність побудованої моделі.

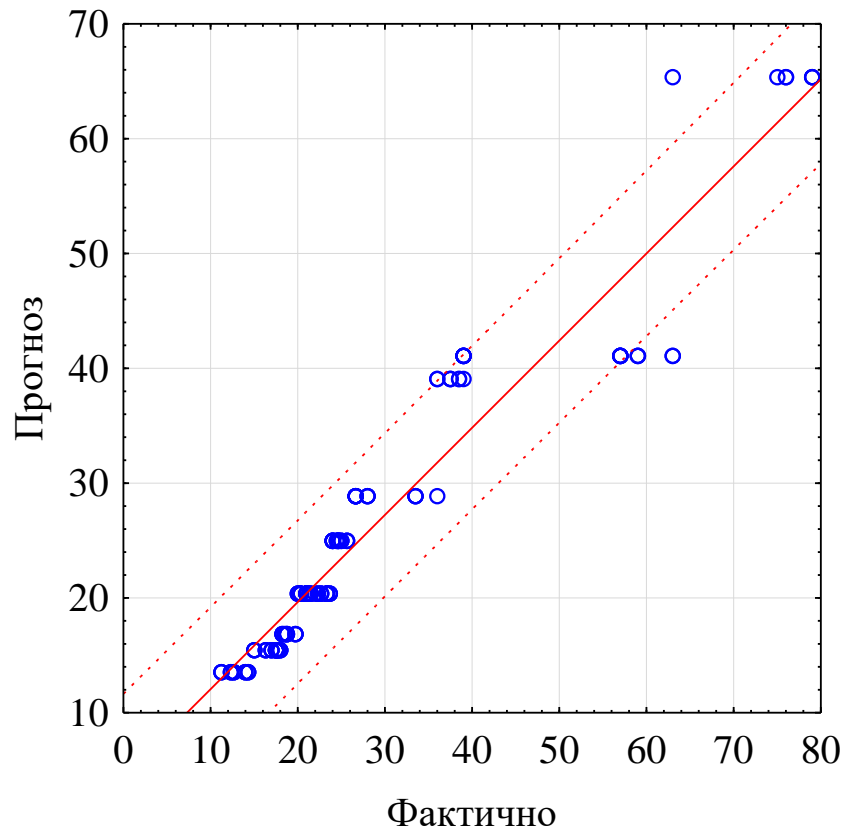


Рис. 5.4 Прогнозований (суцільна пряма лінія) і фактичний (кружки) вік розвитку I-ї стадії ПВКГ.

*Примітка. Пунктиром зображений 95% ДІ для прогнозу.*

Таким чином, можна вважати встановленим фактом зв'язок з ПВКГ ризикових генотипів rs1799983 і rs2070744, що у даному розділі підтверджено їх позитивним впливом на виникнення та швидкість прогресії ПВКГ. Останнє більшою мірою було притаманне жінкам, у порівнянні з чоловіками.



### Висновок за розділом

Регресійний аналіз підтвердив вплив SNV rs1799983 та rs2070744 гена NOS3 на розвиток ПБКГ. Згідно розрахованої моделі, носії комбінації генотипів GT-CC та TT-CC (rs1799983-rs2070744) мали суттєво збільшений ризик ПБКГ: ВШ=4,39 (95% ДІ 1,00-19,30;  $p=0,048$ ) і ВШ=14,15 (95% ДІ 1,88-106,28;  $p<0,001$ ), відповідно. Також і швидкість прогресії ПБКГ була більшою при наявності у генотипі SNV гена NOS3 алелів ризику: Т rs1799983 та С rs2070744 (комбінації генотипів TT-CC, GT-CC та GT-CT). Крім того, швидкість прогресії ПБКГ була більшою у жінок, ніж у чоловіків за кожною з можливих комбінації генотипів. Максимальна різниця була відмічена для носіїв комбінації генотипів TT-CC, в яких швидкість прогресії ПБКГ у жінок перевищувала таку у чоловіків у 1,4 рази ( $p<0,001$ ).

На підставі визначення генотипів rs1799983 і rs2070744 гена NOS3 та з урахуванням статі була побудована порядкова регресійна модель швидкості прогресії ПБКГ із задовільними показниками прогнозу (AUC=0,953; 95 % ДІ 0,912 - 0,979;  $p<0,001$ ). Був проведений розрахунок «спадково зумовленого» віку пацієнтів, в якому слід очікувати ту чи іншу стадію ПБКГ. За наявності одного з ризикових алелів (комбінації генотипів GG-CT, GT-TT, GG-CC) вік виникнення ПБКГ, зменшувався (до 22-39 років), але вік розвитку III-ї та IV-ї стадій прогнозувався дуже високим (понад 84 роки). За наявності двох ризикових алелів (решта комбінації генотипів) суттєво зменшувалися і вік виникнення, і вік розвитку ПБКГ високих стадій, що особливо було притаманно носіям комбінації генотипів TT-CC.

Даний розділ висвітлено в матеріалах наступних публікацій [8, 67].

## РОЗДІЛ 6

### АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

ПВКГ за даними Американської оптометричної асоціації є найбільш розповсюдженим видом глаукоми (до 72-96%), особливістю якої є безсимптомність розвитку з поступовим зниженням периферичного зору [54]. Причиною такого патологічного стану є пошкодження зорового нерва, неефективність дренажної системи ока з накопиченням рідини та підвищенням внутрішньоочного тиску [152].

Глобальною програмою ВООЗ по виявленню проблем зору та запобіганню сліпоти в період з 2014 по 2019 р.р. була «VISION 2020: The Right to Sight». Результати цього проекту показали, що для діагностики глаукоми на ранніх доклінічних стадіях необхідно розширення діапазону діагностики з впровадженням нових методів, у тому числі, – молекулярно-генетичних [29]. Чітко встановленим можна вважати факт, що значна частка випадків ПВКГ є генетично обумовленою та має чітку спадкову схильність, яку визначають від 20% до 60% [20, 101].

Ще в 1994 році Йозеф Фламер описав первинну дизрегуляцію судин як стан, що тимчасово порушує адаптацію кровообігу до потреб тканин [51]. На сьогодні чітко встановлений вплив на розвиток ПВКГ ендотеліальних вазоактивних факторів: оксиду азоту, ендотеліну-1, простагліцину, фактору некрозу пухлин (TNF- $\alpha$ ), циклооксигенази 2 та металопротеїнази-9 (ММР-9) через здатність провокувати вазоконстрикцію та ішемію зорового нерва [64]. В патогенезі розвитку ГОН при ПВКГ особлива роль належить розвитку ЕДФ [110].

Ендотелій – біологічно активний моноцитарний шар на кордоні крові і судинної стінки, який виконує безліч функцій, включаючи регуляцію тону судинної стінки, її проникності, реологічних властивостей крові і гемостазу, клітинної адгезії, проліферації клітин судин, активації тромбоцитів, фібринолізу і запальних реакцій [90, 155]. Ці функції ендотелію реалізуються через продукцію

регуляторних медіаторів, серед яких провідну роль має оксид азоту (NO) [118]. Ендотелій синтезує NO з L-аргініну із залученням ферменту ендотеліальної NO-синтази (eNOS; NOS3), яка локалізована на клітинній мембрані і залежить від кальцію і кальмодуліну [41].

Механізми формування ЕДФ починаються з пошкодження міжклітинних контактів ендотеліоцитів та структури гематофтальмічного бар'єру, що призводить до посилення адгезії лейкоцитів з екстравазацією, індукції прокоагулянтів і антифібрінолітичних систем [57]. Сукупність цих місцевих патологічних процесів на тлі подальшого пошкодження ендотелію стає причиною прогресії ЕДФ з поглибленням гіпоксії, запалення, порушення мікроциркуляції [110].

В плані досліджень генетичної складової патогенезу ПВКГ увагу привертають SNV, зокрема, rs1799983 (G894T, Glu298Asp) гена NOS3. Наявність генотипу TT асоційовано із зниженням активності eNOS.

Результати групи дослідників з Бразилії (Т. Magalhães da Silva та співавт., 2012) показали, що rs1799983 мав значну асоціацію з ПВКГ, причому з ризиком захворювання у чоловіків був пов'язаний алель Т (ВШ=1,77; 95% ДІ 1,07-2,94;  $p=0,025$ ) [105]. За даними дослідження J.H. Kang та співавт. (2011) жінки-носії алелю Т SNV Glu298Asp NOS3 були в групі підвищеного ризику по ПВКГ [75, 76]. З іншого боку, дослідження J. Weiss та співавт. (2012) показали відсутність зв'язку SNV NOS3 з гіпер- та нормотензивною глаукомою [164].

Отже, дані літератури можна вважати досить суперечливими. У нашому дослідженні встановлений вплив SNV rs1799983 (Glu298Asp) гена NOS3, а стратифікація за статтю показала збереження асоціації з захворюванням для жінок – у жінок-носіїв ризикового алелю Т ризик ПВКГ було збільшено у 2,00 рази ( $p=0,043$ ).

За даними когортного дослідження випадок-контроль А.А. Kondkar та співавт. (2020) мінорна алель Т rs1799983 була значуще зв'язана з ПВКГ у саудівських чоловіків ( $p=0,025$ ; ВШ=1,77; 95% ДІ 1,07-2,94) [84]. При цьому SNV rs1799983 не показав зв'язку з проявами ПВКГ, такими як VOT і Cup/Disk Area Ratio. За нашими

даними значення BOT і Cup/Disk Area Ratio були вищими у хворих-носіїв мінорного генотипу TT.

Аналіз 2016 року, проведений за результатами систематичного пошуку літератури в базах даних MEDLINE, EMBASE та ISI Web of Science, дозволив відібрати 31 повідомлення, з яких п'ять були придатні для мета-аналізу [170]. Узагальнення результатів показало, що генотип GG rs1799983 гена NOS3 був пов'язаний зі зниженням ризику ПБКГ, що при стратифікації за статтю зберігалось тільки для жіночої групи. У нашому дослідженні також показаний протективний вплив предкового алелю G – у його носіїв ризик ПБКГ був зниженим у 1,8 рази (ВШ=0,554; 95% ДІ 0,341-0,899), а у жінок-носіїв предкового алелю G ризик ПБКГ було знижено у два рази ( $p=0,043$ ; ВШ=0,50; ДІ 0,25-0,99).

Для пояснення механізмів впливу SNV rs1799983 гена NOS3 на розвиток ПБКГ важливе значення має встановлення, з одного боку, послаблення активності NOS3 і, відповідно, – утворення оксиду азоту у носіїв мінорної алелі T [103]. З іншого боку, W.A. Emtam та співавт. (2014) у дослідженні випадок-контроль у 160 пацієнтів з ПБКГ показали, що знижений рівень оксиду азоту (за вмістом нітратів/нітритів у крові) може грати роль у розвитку ПБКГ [48]. Але зв'язку частот генотипів та алелів SNV Glu298Asp з ПБКГ цим авторам встановити не вдалося.

У останньому мета-аналізі N. Salari та співавт. (2021) підтверджена важлива роль оксиду азоту у виникненні пошкодження очного нерва та впливу поліморфних ділянок гена NOS3, що й може обумовлювати взаємозв'язок SNV rs1799983 з ризиком ПБКГ [130]. Однак, автори наполягають на продовженні таких досліджень у різних популяціях.

Таким чином, результати даного фрагменту дослідження підтвердили встановлений і в інших популяціях, зв'язок SNV rs1799983 гена NOS3 з ПБКГ. Основним механізмом реалізації впливу SNV можна вважати зниження активності ендотеліальної NO-синтази (NOS3) внаслідок місенс-мутації гену NOS3 (G894T) та вмісту оксиду азоту у носіїв мінорної алелі T з можливим розвитком ендотеліальної дисфункції, що складає умови для прогресування судинних та ішемічних

пошкоджень сітківки.

Цікавими знахідками нашого дослідження можна вважати встановлення розвитку ПВКГ у більш молодому віці у носіїв генотипу ТТ, а також чітку залежність фенотипу ПВКГ – достеменно вищий ВОТ, гірші показники периметричного обстеження (MD та PSD), менша товщина шарів нервових волокон сітківки (RNFL) і комплексу гангліозних клітин макули (GCC) і більше відношення площі екскавації до площі диску зорового нерва (Cup/Disk Area Ratio) у пацієнтів-носіїв мінорного генотипу ТТ у порівнянні з носіями інших генотипів.

Відкритим для подальших досліджень можна вважати питання про зв'язок SNV rs1799983 гена NOS3 з ПВКГ у хворих різної статі. Було відмічено зв'язок мінорного варіанту TTSNV Glu298Asp NOS3 з ПВКГ для жінок [75, 76].

У зв'язку з цим, нами окремо був проаналізований розподіл генотипів цього SNV за статтю, статистичної значущості при цьому виявлено не було ( $p=0,195$ ). Але, при стратифікації за статтю було встановлено, що у жінок була наявною асоціація алельного SNV з ПВКГ: для алеля G ВШ=0,50; 95 % ДІ 0,25-0,99, для алеля T ВШ=2,00; 95 % ДІ 1,01-3,95 ( $p=0,043$ ). Це вказувало на більшу значущість SNV rs1799983 для розвитку ПВКГ у жінок, в порівнянні з чоловіками. На наш погляд, це спостереження має бути підтверджено при обстеженні більш великих груп пацієнтів.

Перспективним SNV для вивчення впливу на розвиток ПВКГ є rs2070744 (T-786C) гена NOS3. W. A. Emap та співавт. (2014) показали, що генотип CC T-786C NOS3 (rs2070744) пов'язаний з підвищеним ризиком розвитку ПВКГ у жінок-егіптянок [48]. Значення судинної патології у виникненні ПВКГ підтверджено і у дослідженнях J.H. Kang та співавт. (2011), які показали, що зв'язок між артеріальною гіпертензією та ПВКГ залежав від варіантів SNV T-786C NOS3 (rs2070744) [77].

У даному дослідженні була встановлена генетична схильність до розвитку ПВКГ у носіїв предкового алелю C rs2070744, у яких ризик ПВКГ було збільшено у 1,7 рази (ВШ=1,699; 95% ДІ 1,066-2,706;  $p=0,025$ ). При цьому, захворювання

розвивалося у молодшому віці та супроводжувалося швидким розвитком, гіршими показниками периметрії та більш вираженою дистрофією шарів сітківки, що свідчило про активніший розвиток ГОН у порівнянні з носіями інших генотипів.

Отже, алельний SNV rs2070744 гену NOS3 мав протективний ефект у відношенні розвитку ПБКГ.

Необхідно зазначити, що асоціація SNV rs2070744 гену NOS3 була показана і для інших популяцій. Так, у єгипетських пацієнтів (76 чоловіків та 84 жінки; віковий діапазон 41-75 років) з ПБКГ були суттєво пов'язані генотип ССТ-786С (ВШ=2,54; 95% ДІ 1,26-5,13;  $p=0,007$ ) та алель С (ВШ=1,86; 95% ДІ 1,29-2,69;  $p<0,001$ ) [48]. У популяції бразильських хворих SNV T-786С NOS3 мав асоціацію з ПБКГ, що більшою мірою проявлялося у жінок [105]. Дослідження зв'язку генних SNV гена NOS3 у пацієнтів із ПБКГ саудівського походження (94 чоловіки та 79 жінок) показало, що SNV rs2070744 у чоловіків мав тенденцію ( $p=0,054$ ) до підвищення ризику захворювання, незалежно від віку, статі та куріння [84].

За даними мета-аналізу 2016 року [170], серед SNV гена NOS3 з ПБКГ мали зв'язок rs2070744 та rs1799983. Стратифікований аналіз на основі етнічної приналежності показав, що асоціація rs2070744 з ПБКГ залишалася лише у кавказців. Останнє могло пояснювати зазначений результат відсутності асоціації у азіатів [84], та, з іншого боку, узгоджувалося з нашими результатами.

Щодо статевих відмінностей, то дані літератури різняться. Більшість повідомлень, у тому числі мета-аналізи останніх років, свідчать, що зв'язок SNV гена NOS3 з ПБКГ підтверджений в жіночій групі, але не в чоловічій [48, 105, 170]. Показано, що після стратифікації за статтю генотип СС і алель С rs2070744 були достовірно пов'язані з ПБКГ тільки у жінок (ВШ=3,06; 95% ДІ 1,07-8,74;  $p=0,03$  для генотипу СС і ВШ=2,09; 95% ДІ 1,24-3,53;  $p=0,005$  для алелі С).

У роботах J.H. Kang та співавт. (2010; 2011), показано, що вплив SNV гена NOS3 на виникнення ПБКГ залежав від репродуктивного стану жінки [76, 77]. Серед жінок у менопаузі генотип ТТ T-786С (rs2070744) був обернено асоційованим з ПБКГ (ВШ=0,41; 95% ДІ 0,22-0,76). Крім того, встановлений зв'язок між

артеріальною гіпертонією та ПБКГ, що залежало від SNV T-786C: порівняно з гомозиготами TT без гіпертонії, гомозиготи TT з гіпертонією мали значно вищий ризик ПБКГ (ВШ=1,45; 95% ДІ 1,01-2,08), а серед носіїв алелі С гіпертонія не асоціювалася з ПБКГ ( $p=0,007$ ). Це вказувало на ймовірний зв'язок SNV rs2070744 гену NOS3 з такою патологією судин як артеріальна гіпертензія, та могло обумовлювати відомий зв'язок останньої з ПБКГ [108].

У наших дослідженнях не було встановлено достеменного зв'язку SNV rs2070744 з ПБКГ при розподілі за статтю, але у жінок мала місце тенденція до асоціації з захворюванням при  $p=0,080$ , що диктувало необхідність продовження. У останньому мета-аналізі, який охоплював 9 досліджень SNV rs2070744 з обсягом вибірки 1631 хворий та 2405 контролів, був підтверджений його вплив на розвиток ПБКГ, однак, автори зазначають, що це питання потребує подальшого уточнення у різних популяціях [130].

Поряд з тим, існують дослідження, в яких не встановлено прямого зв'язку SNV гена NOS3 з ПБКГ [71, 85, 164]. Натомість, необхідно зазначити, що авторами були виявлені певні зв'язки з фенотипом ПБКГ: з низьким артеріальним тиском [85] або з геморагіями у диск зорового нерва при нормотензивній глаукомі [71]. Відповідно до таких результатів, необхідним є продовження досліджень у різних популяціях та встановлення зв'язку SNV гену NOS3 не тільки з наявністю захворювання, але і з його проявами, і ступенем прогресування.

Щодо аналізу комбінації генотипів SNV rs1799983 і rs2070744 гена NOS3 можна зазначити наступне. У дослідження випадок-контроль (90 пацієнтів з ПБКГ і 127 контролів) показано, що SNV T-786C і Glu298Asp гена eNOS були пов'язані з ПБКГ [105]. Генотип CG T-786C і Glu298Asp показав прикордонний зв'язок з ризиком ПБКГ в загальному аналізі (ВШ 1,76; 95% ДІ 0,98-3,14;  $p=0,055$ ), серед жінок (ВШ 2,02; 95% ДІ 0,98-4,16;  $p=0,052$ ) і для пацієнтів у віці більше 52 років (ВШ 3,48; 95% ДІ 1,54-7,84;  $p=0,002$ ).

Ми отримали схожий результат – у загальному аналізі комбінації генотипів GT-CC мав позитивний зв'язок з ПБКГ (ВШ 4,39; 95% ДІ 1,00-19,30;  $p=0,048$ ).

У чоловіків-носіїв генотипу СТ rs2070744 і rs1799983 був значуще підвищений ризик ПВКГ (ВШ 2,60; 95% ДІ 1,16-5,82;  $p=0,016$ ) [84]. У нашому дослідженні також носії цього генотипу мали суттєво збільшений ризик розвитку ПВКГ (ВШ 14,15; 95% ДІ 1,88-106,28;  $p<0,001$ ).

За даними мета-аналізу, генотипи ТТ rs2070744 і GG rs1799983 пов'язані із зниженням ризику ПВКГ, що більш притаманне жінкам [170]. У нашому дослідженні також показана протективна роль комбінації генотипів GG-ТТ rs1799983 і rs2070744, яка мала найнижчу ймовірність розвитку ПВКГ ( $P(\text{ПВКГ})=0,006$ ; (див. табл. в розділі 4).

Обстеження хворих на ПВКГ (76 чоловіків та 84 жінки віком від 41 до 75 років) показало асоціацію з захворюванням для rs2070744 генотипу СС (ВШ=2,54; 95% ДІ 1,26-5,13;  $p=0,007$ ), що при стратифікації за статтю зберігалось для жінок [48]. На відміну від інших досліджень, зв'язку ПВКГ з rs1799983 у цьому дослідженні показано не було. Натомість, був встановлений нижчий загальний вміст нітратів/нітритів (NOx) у плазмі крові хворих на ПВКГ, що підтверджувало значення ендотеліальної дисфункції для розвитку захворювання.

Значення SNV rs2070744 і rs1799983 гена NOS3 для розвитку ПВКГ підтвердив мета-аналіз 2021 року, який охоплював пошукові системи SID, MagIran, IranMedex, IranDoc, ScienceDirect, Embase, Scopus, PubMed, Web of Science і Google Scholar без обмеження за часом до травня 2020 року [130]. За результатами 16 досліджень (1631 хворий з ПВКГ та 2405 контролів для rs2070744 і 1456 хворих та 2240 контролів для rs1799983) встановлено збільшення ризику ПВКГ у носіїв генотипів ССrs2070744 (сумарне ВШ 1,14) і ТТrs1799983 (сумарне ВШ 1,31), що цілком збігається з результатами нашого дослідження.

Отже, результати проведеного дослідження узгоджуються з тими, що отримано для інших популяцій хворих та доводять значення генотипів ризику (ТТ rs1799983 та СС rs2070744) для розвитку ПВКГ. Крім того, нами показано, що суттєве збільшення ризику ПВКГ існує для носіїв комбінації генотипів GT-СС (ВШ=4,39) та ТТ-СС (ВШ=14,15). Останнє більшою мірою було притаманне жінкам,



у порівнянні з чоловіками.

При аналізі швидкості прогресії ПВКГ, мінімальне її значення було встановлено для комбінації генотипів rs1799983-rs2070744 GG-TT. Саме цей генотип за даними мета-аналізу був пов'язаний із зниженням ризику ПВКГ, що також було більш притаманним жінкам [170].

На відміну від існуючих літературних даних, нами був показаний зв'язок статі та комбінації генотипів rs1799983i rs2070744 гена NOS3 не тільки з виникненням, але й з швидкістю прогресії ПВКГ, що було реалізовано у прогностичній моделі захворювання. Окремо для чоловіків та жінок, носіїв різних генотипів, була розрахована швидкість прогресії та ймовірний вік розвитку ПВКГ за стадіями.

Таким чином, у даній роботі показаний протективний ефект SNV rs2070744 гена NOS3 для виникнення ПВКГ. Причому, можна вважати, що такий ефект більшою мірою реалізується у жінок, що залежить від репродуктивного статусу та наявності судинної патології. Останнє дає змогу припустити, що SNV rs2070744, через вплив на розвиток ЕДФ, оказує вплив й на виникнення ПВКГ. При цьому збільшення ризику мають жінки-носії предкової алелі С (більшою мірою носії гомозиготи CC). Роль SNV rs2070744 гена NOS3у даному дослідженні підтверджена кращими показниками периметричного обстеження та менш вираженою дегенерацією шарів сітківки у пацієнтів-носіїв мінорного генотипу TT.

## ВИСНОВКИ

1. В світі налічується близько 60,5 млн. хворих на глаукому, 20 % з яких мають невиліковну стадію. Часткова втрата працездатності через глаукому за останні 25 років збільшилася на 122 %. Поширеність глаукоми в Україні сягає 612,7 на 100 000 населення і виходить на перше місце серед інвалідизуючих захворювань по зору. Найчастішою причиною незворотної втрати зору є ПВКГ, доля якої складає більш ніж 5 %. Найбільш вагомим патогенетичним чинником ПВКГ є пошкодження ендотелію з вивільненням ендотеліальних вазоактивних поліпептидів і зниженням продукції ендотеліальної NO-синтази. Вивчення генетичної детермінованості виникнення та прогресування ПВКГ, зокрема, SNV rs1799983 і rs2070744 гена NOS3 дозволить вдосконалити її ранню діагностику та профілактику ускладнень.
2. Переважна кількість обстежених пацієнтів мала ПВКГ III стадії (52,94 %), приблизно однакова кількість пацієнтів була з іншими стадіями: 11,76% – з I стадією; по 17,65% з II і IV стадіями. За стадіями ПВКГ була відмічена статистично значуща тенденція до збільшення тривалості захворювання: від 1 року (95 % ДІ 0,60 – 1,36) при I стадії ПВКГ до 5,9 років (95 % ДІ 4,15 – 7,62) при IV (p<0,001). Всі офтальмологічні показники закономірно погіршувалися від I до IV стадії (p<0,001). За даними ROC аналізу, найбільшу прогностичну здатність щодо діагностики певної стадії ПВКГ мало відношення площі екскавації до площі диску зорового нерва (Cup/Disk Area Ratio) – AUC=0,904 (95 % ДІ 0,830 - 0,953; p<0,001), що дозволяло вважати цей показник найбільш чутливим (Se=95,56 %) та специфічним (Sp=100,0%) для діагностики ПВКГ всіх стадій.
3. Наявність мінорного алелю TSNV rs1799983 (G894T, Glu298Asp) гена NOS3 було фактором ризику ПВКГ (ВШ=1,806; 95 % ДІ 1,11-2,93; p=0,016). Носії генотипу ТТ мали у 3,3 рази (p<0,001) більший ризик ПВКГ, ніж носії

інших генотипів (GG+GT). Стратифікація за статтю показала збереження зв'язку з ПВКГ у жінок-носіюк ризикового алелю Т (ВШ=2,00; 95 % ДІ 1,01-3,95;  $p=0,043$ ).

4. За наявністю ризикового генотипу ТТ та алелю Т rs1799983, ПВКГ розвивалася у більш молодому віці, такі особи мали вищий внутрішньоочний тиск, гірші показники периметрії (MD та PSD), меншу товщину шарів нервових волокон сітківки (RNFL) та комплексу гангліозних клітин макули (GCC), більше відношення площі екскавації до площі диску зорового нерва (Cup/Disk Area Ratio).

5. Встановлена генетична схильність до розвитку ПВКГ у носіїв предкового алелю С rs2070744 (ВШ=1,699; 95% ДІ 1,066-2,706;  $p=0,025$ ), у яких захворювання розвивалося у молодшому віці та супроводжувалося швидким розвитком, гіршими показниками периметрії та більш вираженою дистрофією шарів сітківки порівняно з носіями інших генотипів.

6. SNV rs2070744 гену NOS3 мав протективний ефект у відношенні розвитку ПВКГ (для алелю Т: ВШ=0,589; 95% ДІ 0,370-0,938;  $p=0,025$ ). Носії алелю Т мали кращі показники периметрії (MD та PSD) та більшу товщину шарів нервових волокон сітківки (RNFL) і комплексу гангліозних клітин макули (GCC).

7. Стратифікація за стадіями ПВКГ підтвердила залежність офтальмологічних показників від генотипів обох SNV – гірші показники були визначені для носіїв генотипів ТТ rs1799983 і СС rs2070744, що зберігалось для III та IV стадій.

8. За даними логістичного регресійного аналізу носії комбінації генотипів rs1799983-rs2070744 GT-CC та ТТ-CC мали суттєво збільшений ризик ПВКГ: ВШ=4,39 (95% ДІ 1,00-19,30;  $p=0,048$ ) і ВШ=14,15 (95% ДІ 1,88-106,28;  $p<0,001$ ), відповідно. Швидкість прогресії ПВКГ була більшою у носіїв комбінації генотипів ТТ-CC, GT-CC та GT-CT. За кожною з цих комбінацій генотипів швидкість прогресії ПВКГ була більшою у жінок, ніж у чоловіків.

9. Розроблена формула ймовірності розвитку ПВКГ та формула прогнозування швидкості прогресії ПВКГ.
10. Впровадження в практичну діяльність отриманих результатів здійснювалося в КП «Дніпропетровська обласна клінічна офтальмологічна лікарня», КП «Запорізька обласна клінічна лікарня» ЗОР, КНП «Міська клінічна лікарня №14 ім. проф. Л.Л. Гіршмана» ХМР, ТОВ Медичний центр «ОЧІ КЛІНІК», ТОВ «Офтальмолоджи Груп».

## ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. На підставі визначення генотипів rs1799983 і rs2070744 гена NOS3 та з урахуванням статі побудована порядкова регресійна модель швидкості прогресії ПВКГ із задовільними показниками прогнозу (AUC=0,953; 95 % ДІ 0,912 - 0,979;  $p < 0,001$ ).

2. Проведено розрахунок «спадково зумовленого» віку пацієнтів, в якому слід очікувати ту чи іншу стадію ПВКГ. За наявності одного з ризикових алелів (комбінації генотипів GG-CT, GT-TT, GG-CC) вік виникнення ПВКГ зменшувався (до 22-39 років), але вік розвитку 3-ї та 4-ї стадій прогнозувався дуже високим (понад 84 роки). За наявності двох ризикових алелів суттєво зменшувалися і вік виникнення, і вік розвитку ПВКГ високих стадій, що особливо було притаманно носіям комбінації генотипів TT-CC.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Антомонов МЮ. Математическая обработка и анализ медико-биологических данных. К.: Изд-во „Малый друк”.2006:558.
2. Веселовська ЗФ, Хоммер А, Бездітко ПА, Безкоровайна ІМ, Недзвецька ГІ, Дрожжина НС та ін. Глаукома та хвороба сухого ока: сучасні можливості тепічного лікування. Офтальмологія. 2019;8(453):32-5.
3. Вітовська О. Рання діагностика глаукоми може вберегти вас від сліпоти. [Інтернет]. 06.03.2020 року [цитовано: 28.02.21]. Доступно на: <https://moz.gov.ua/article/news/>
4. Гур'янов ВГ, Лях ЮЄ, Парій ВД, Короткий ОВ, Чалий ОВ, Чалий КО, Цехмістер ЯВ. Посібник з біостатистики. Аналіз результатів медичних досліджень у пакеті EZR (R–statistics). Київ: Вістка. 2018:208.
5. Елисеєва НВ, Чурносів МІ. Етиопатогенез первинної відкритоугольної глаукоми. Вестник офтальмології. 2020;136(3):79-86. doi: 10.17116/oftalma202013603179.
6. Ісаєв ОА. Зв'язок поліморфізму rs1799983 і rs2070744 гена NOS3 з первинною відкритокутовою глаукомою. «Архів офтальмології України» Том 10, №1, 2022 р. 10-16 стор. DOI: <https://doi.org/10.22141/2309-8147.10.1.2022.286>
7. O. A. Isaiev, V. M. Serdiuk. Association of primary open-angle glaucoma with endothelial NO-synthase (NOS3) rs2070744 (T-786C) in a Ukrainian population. J.ophthalmol.(Ukraine).2022;3:3-9. <http://doi.org/10.31288/oftalmolzh2022339>.
8. О.А. Ісаєв, В.М. Сердюк. Прогнозування швидкості прогресії первинної відкритокутової глаукоми у залежності від статі та поліморфізму гена ендотеліальної NO-синтази (NOS3). Медичні перспективи. 2022. Т. 27, № 4. С. 159-168. <https://doi.org/10.26641/2307-0404.2022.4.271215>
9. Исаев АА, Сердюк ВН, Устименко СБ. Распространенность и эпидемиология первичной открытоугольной глаукомы. Офтальмология.

Восточная Европа. 2021;11(3):343-54. <https://doi.org/10.34883/PI.2021.11.3.033>

10. МКХ-10-АМ. Міжнародна статистична класифікація хвороб та споріднених проблем охорони здоров'я. Десятий перегляд. Австралійська модифікація. 2017:293-4. [Інтернет]. [цитовано: 28.02.21]. Доступно на: [https://nszu.gov.ua/storage/files/Klasyfikator\\_xvorob\\_ta\\_sporidnenykh\\_problem\\_oxorony\\_zdorovya\\_NK\\_0252019](https://nszu.gov.ua/storage/files/Klasyfikator_xvorob_ta_sporidnenykh_problem_oxorony_zdorovya_NK_0252019).

11. Моїсеєнко РО, Голубчиков МВ, Михальчук ВМ, Риков СО. Офтальмологічна допомога в Україні за 2014 – 2017 роки. Київ: «POLIUM». 2008:225-35.

12. Нестеров АП. Первинна відкритокутова глаукома: патогенез і принцип лікування. Російський медичний журнал «Клінічна офтальмологія». 2000;1:4. [Інтернет]. [цитовано: 28.02.21]. Доступно на: [https://www.rmj.ru/articles/oftalmologiya/Pervichnaya\\_otkrytougolynaya\\_glaukoma\\_patogenez\\_i\\_principy\\_lecheniya/](https://www.rmj.ru/articles/oftalmologiya/Pervichnaya_otkrytougolynaya_glaukoma_patogenez_i_principy_lecheniya/)

13. Нестеров АП. Глаукома. Москва: ООО «Медицинское информационное агентство». 2014:360.

14. Риков СО, Медведовська НВ, Троянов ДП. Сучасний стан та динаміка поширеності глаукоми серед дорослого населення України. Україна. Здоров'я нації. 2012;2(22):119-21.

15. Сердюк АВ, Могілевський СЮ. Прогресування глаукомної оптичної нейропатії після різних видів антиглаукоматозних операцій. Вісник проблем біології і медицини. 2019;4,2(154):195-9. doi: 10.29254/2077-4214-2019-4-2-154-195-199

16. Сердюк ВМ, Ісаєв ОА, Устименко СБ, Сердюк АВ. Генетичні предиктори судинної регуляції прогресування глаукомної оптичної нейропатії у пацієнтів з первинною відкритокутовою глаукомою. Український журнал «Офтальмологія». 2021;3(14). <https://doi.org/10.30702/Ophthalmology27082021-14.3.43-50/3-06-07>

17. Уніфікований клінічний протокол медичної допомоги. Глаукома

первинна відкритокутова, 2011 [Internet]. [цитовано: 28.02.21]. Доступно на: [https://www.dec.gov.ua/wp-content/uploads/2019/11/816dod2\\_1.pdf](https://www.dec.gov.ua/wp-content/uploads/2019/11/816dod2_1.pdf)

18. Хиць А. Первинна відкритокутова глаукома: огляд літератури. Український медичний часопис Online. 2020. [Інтернет]. [цитовано: 28.02.21]. Доступно на: <https://www.umj.com.ua/article/172596/pervinna-vidkritokutova-glaukoma-oglyad-literaturi>

19. Черненко МЄ, Волошин-Гапонов ІК. Нейротрофічний фактор BDNF при нейродегенеративних захворюваннях. Експериментальна і клінічна медицина. №3(84);2019:67-73. doi: 10.35339/ekm.2019.84.03.11

20. Эфендиева МХ, Будзинская МВ, Кадышев ВВ, Зинченко РА, Савочкина ОА, Пупышева АД. Молекулярно-генетические аспекты возрастной макулярной дегенерации и глаукомы. Вестник офтальмологии. 2019;135(3):121-7. doi: 10.17116/oftalma2019135031121

21. Agrawal P, Bradshaw SE. Systematic literature review of clinical and economic outcomes of micro-invasive glaucoma surgery (MIGS) in primary open-angle glaucoma. *Ophthalmol Ther*. 2018;7(1):49-73. doi: 10.1007/s40123-018-0131-0

22. Akwii RG, Sajib MS, Zahra FT, Mikelis CM. Role of angiopoietin-2 in vascular physiology and pathophysiology. *Cells*. 2019;8(5):471. doi: 10.3390/cells8050471.

23. Ali H. SCUBE2, vascular endothelium, and vascular complications: A systematic review. *Biomed Pharmacother*. 2020;127:110129. doi: 10.1016/j.biopha.2020.110129.

24. Allison K, Patel D, Alabi O. Epidemiology of glaucoma: the past, present, and predictions for the future. *Cureus*. 2020;12(11):e11686. doi: 10.7759/cureus.11686.

25. Alsubait A, Aldossary W, Rashid M, Algamdi A, Alrfaei BM. CYP1B1 gene: implications in glaucoma and cancer. *J Cancer*. 2020;11(16):4652-61. doi: 10.7150/jca.42669.

26. Aygun N. Biological and genetic features of neuroblastoma and their clinical



importance. *Curr Pediatr Rev.* 2018;14(2):73-90. doi: 10.2174/1573396314666180129101627.

27. Bagnis A, Izzotti A, Centofanti M, Saccà SC. Aqueous humor oxidative stress proteomic levels in primary open angle glaucoma. *Exp Eye Res.* 2012;103:55-62. doi: 10.1016/j.exer.2012.07.011.

28. Bertaud S, Aragno V, Baudouin C, Labbé A. Le glaucome primitif à angle ouvert [Primary open-angle glaucoma]. *Rev Med Interne.* 2019;40(7):445-52. French. doi: 10.1016/j.revmed.2018.12.001.

29. Bourne RR. Vision 2020: where are we? *Curr Opin Ophthalmol.* 2020;31(2):81-4. doi: 10.1097/ICU.0000000000000647.

30. Bourouki E, Oikonomou E, Moschos M, Siasos G, Siasou G, Gouliopoulos N et al. Pseudoexfoliative glaucoma, endothelial dysfunction, and arterial stiffness: the role of circulating apoptotic endothelial microparticles. *J Glaucoma.* 2019;28(8):749-55. doi: 10.1097/IJG.0000000000001303.

31. Bowler E, Oltean S. Alternative splicing in angiogenesis. *Int J Mol Sci.* 2019;20(9):2067. doi: 10.3390/ijms20092067.

32. Bracha P, Moore NA, Ciulla TA, WuDunn D, Cantor LB. 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.

33. Buffault J, Labbé A, Hamard P, Brignole-Baudouin F, Baudouin C. The trabecular meshwork: structure, function and clinical implications. A review of the literature. *J Fr Ophtalmol.* 2020;43(7):e217-e30. doi: 10.1016/j.jfo.2020.05.002.

34. Burgos-Blasco B, Vidal-Villegas B, Saenz-Frances F, Morales-Fernandez L, Perucho-Gonzalez L, Garcia-Feijoo J et al. Tear and aqueous humour cytokine profile in primary open-angle glaucoma. *Acta Ophthalmol.* 2020;98(6):e768-72. doi: 10.1111/aos.14374.

35. Cerretelli G, Ager A, Arends MJ, Frayling IM. Molecular pathology of Lynch syndrome. *J Pathol.* 2020;250(5):518-31. doi: 10.1002/path.5422.

36. Chandhok G, Lazarou M, Neumann B. Structure, function, and regulation of mitofusin-2 in health and disease. *Biol Rev Camb Philos Soc.* 2018;93(2):933-49. doi: 10.1111/brv.12378.
37. Chitranshi N, Dheer Y, Abbasi M, You Y, Graham SL, Gupta V. Glaucoma pathogenesis and neurotrophins: focus on the molecular and genetic basis for therapeutic prospects. *Curr Neuropharmacol.* 2018;16(7):1018-35. doi: 10.2174/1570159X16666180419121247.
38. Choquet H, Paylakhi S, Kneeland SC, Thai KK, Hoffmann TJ, Yin J et al. A multiethnic genome-wide association study of primary open-angle glaucoma identifies novel risk loci. *Nat Commun.* 2018;9(1):2278. doi: 10.1038/s41467-018-04555-4.
39. Cieza A, Keel S, Kocur I, Mccoy M, Mariotti SP. World report on vision. Geneva: World Health Organization; 2019. [Internet]. Available from: [https://www.who.int/health-topics/blindness-and-vision-loss#tab=tab\\_1](https://www.who.int/health-topics/blindness-and-vision-loss#tab=tab_1)
40. Cozma A, Fodor A, Orasan OH, Vulturar R, Samplelean D, Negrean V et al. Pharmacogenetic implications of eNOS polymorphisms (Glu298Asp, T786C, 4b/4a) in cardiovascular drug therapy. *In Vivo.* 2019;33(4):1051-58. doi: 10.21873/invivo.11573.
41. Cyr AR, Huckaby LV, Shiva SS, Zuckerbraun BS. Nitric oxide and endothelial dysfunction. *Crit Care Clin.* 2020;36(2):307-321. doi: 10.1016/j.ccc.2019.12.009.
42. Dai C, Chen X, Li J, Comish P, Kang R, Tang D. Transcription factors in ferroptotic cell death. *Cancer Gene Ther.* 2020;27(9):645-56. doi: 10.1038/s41417-020-0170-2.
43. Delgado MF, Abdelrahman AM, Terahi M, Miro Quesada Woll JJ, Gil-Carrasco F, Cook C, Benharbit M, Boisseau S, Chung E, Hadjiat Y, Gomes JA. Management of glaucoma in developing countries: challenges and opportunities for improvement. *clinicoecon outcomes res.* 2019;11:591-604. doi: 10.2147/CEOR.S218277.
44. Dong Z, Zhou H, Tao P. Combining protein sequence, structure, and

dynamics: a novel approach for functional evolution analysis of PAS domain superfamily. *Protein Sci.* 2018;27(2):421-430. doi: 10.1002/pro.3329.

45. Dorn GW. Mitofusin 2 dysfunction and disease in mice and men. *Front Physiol.* 2020;11:782. doi: 10.3389/fphys.2020.00782.

46. Doucette LP, Walter MA. Prostaglandins in the eye: function, expression, and roles in glaucoma. *Ophthalmic Genet.* 2017;38(2):108-16. doi: 10.3109/13816810.2016.1164193.

47. Elgohary AM, Elbedewy HA, Saad HA, Eid TM. Pattern electroretinogram changes in patients with primary open-angle glaucoma in correlation with visual field and optical coherence tomography changes. *Eur J Ophthalmol.* 2020;30(6):1362-9. doi: 10.1177/1120672119872606.

48. Emam WA, Zidan HE, Abdulhalim BE, Dabour SA, Ghali MA, Kamal AT. Endothelial nitric oxide synthase polymorphisms and susceptibility to high-tension primary open-angle glaucoma in an Egyptian cohort. *Mol Vis.* 2014;20:804-11. PMID: 24940036; PMCID: PMC4057245.

49. Evangelho K, Mogilevskaya M, Losada-Barragan M, Vargas-Sanchez JK. 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.

50. Fernández-Araque A, Giaquinta AA, Laudo Pardo C, Rojo Aragüés A. Los antioxidantes en el proceso de patologías oculares [The antioxidants in the process of ocular pathology]. *Nutr Hosp.* 2017;34(2):469-78. [Spanish]. doi: 10.20960/nh.420.

51. Flammer J. The vascular concept of glaucoma. *Surv Ophthalmol.* 1994;38 Suppl:S3-6. doi: 10.1016/0039-6257(94)90041-8.

52. Flaxman SR, Bourne RR, Resnikoff S, Ackland P, Braithwaite T, Cicinelli MV et al. Vision loss expert group of the global burden of disease study. Global causes of blindness and distance vision impairment 1990-2020: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Glob Health.* 2017;5(12):e1221-e34. doi: 10.1016/S2214-109X(17)30393-5.

53. Gericke A, Wolff I, Musayeva A, Zadeh JK, Manicam C, Pfeiffer N et al. Retinal arteriole reactivity in mice lacking the endothelial nitric oxide synthase (eNOS) gene. *Exp Eye Res.* 2019;181:150-6. doi: 10.1016/j.exer.2019.01.022.
54. Glaucoma. American Optometric Association. 2020 [Internet]. Available from: <https://www.aoa.org/healthy-eyes/eye-and-visionconditions/glaucoma?sso=y>.
55. Godo S, Shimokawa H. Endothelial functions. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2017;37(9):e108-e14. doi: 10.1161/ATVBAHA.117.309813.
56. Gomes BF, Souza R, Valadão T, Kara-Junior N, Moraes HV, Santhiago MR. Is there an association between glaucoma and capillaroscopy in patients with systemic sclerosis? *Int Ophthalmol.* 2018;38(1):251-6. doi: 10.1007/s10792-017-0454-1.
57. Grandl G, Wolfrum C. Hemostasis, endothelial stress, inflammation, and the metabolic syndrome. *Semin Immunopathol.* 2018;40(2):215-24. doi: 10.1007/s00281-017-0666-5.
58. Grzybowski A, Och M, Kanclerz P, Leffler C, Moraes CG. Primary open angle glaucoma and vascular risk factors: a review of population based studies from 1990 to 2019. *J Clin Med.* 2020;9(3):761. doi: 10.3390/jcm9030761.
59. Guo Q, Wang J, Weng Q. The diverse role of optineurin in pathogenesis of disease. *Biochem Pharmacol.* 2020;180:114157. doi: 10.1016/j.bcp.2020.114157.
60. Gupta S, Chatterjee S, Chandra A, Maurya OP, Mishra RN, Mukherjee A et al. TP53 codon 72 polymorphism and the risk of glaucoma in a north Indian cohort: A genetic association study. *Ophthalmic Genet.* 2018;39(2):228-35. doi: 10.1080/13816810.2017.1413661.
61. Ham M, Han J, Osann K, Smith M, Kimonis V. Meta-analysis of genotype-phenotype analysis of OPA1 mutations in autosomal dominant optic atrophy. *Mitochondrion.* 2019;46:262-9. doi: 10.1016/j.mito.2018.07.006.
62. Hark, Waisbourd M, Myers JS, Henderer J, Crews JE, Saaddine JB et al. Improving access to eye care among persons at high-risk of glaucoma in philadelphia--design and methodology: The Philadelphia glaucoma detection and treatment project. *Ophthalmic Epidemiol.* 2016;23(2):122-30. doi: 10.3109/09286586.2015.1099683.

63. Hill SE, Kwon MS, Martin MD, Suntharalingam A, Hazel A, Dickey CA et al. Stable calcium-free myocilin olfactomedin domain variants reveal challenges in differentiating between benign and glaucoma-causing mutations. *J Biol Chem.* 2019;294(34):12717-28. doi: 10.1074/jbc.RA119.009419.
64. Hoguet A, Chen PP, Junk AK, Mruthyunjaya P, Nouri-Mahdavi K, Radhakrishnan S 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;126(4):611-22. doi: 10.1016/j.ophtha.2018.11.019.
65. Huang JY, Su CC, Wang TH, Tsai IJ. Migraine and increased risk of developing open angle glaucoma: a population-based cohort study. *BMC Ophthalmol.* 2019;19(1):50. doi: 10.1186/s12886-019-1062-9.
66. Hymes J. Glaucoma. American Optometric Association. 2020 [Internet]. Available from: <https://www.aoa.org/healthy-eyes/eye-and-visionconditions/glaucoma?sso=y>.
67. Oleksii Isaiev, Valerii Serdiuk, Denys Ziablitsev. Predicting the occurrence of primary open-angle glaucoma depending on genetic polymorphism endothelial NO synthase (NOS3) gene. *Wiadomości Lekarskie, VOLUME LXXV, ISSUE 12, DECEMBER 2022.* DOI: 10.36740/WLek202212133
68. Jain A, Zode G, Kasetti RB, Ran FA, Yan W, Sharma TP et al. CRISPR-Cas9-based treatment of myocilin-associated glaucoma. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2017;114(42):11199-204. doi: 10.1073/pnas.1706193114.
69. Jain V, Jain M, Abdull MM, Bastawrous A. The association between cigarette smoking and primary open-angle glaucoma: a systematic review. *Int Ophthalmol.* 2017;37(1):291-301. doi: 10.1007/s10792-016-0245-0.
70. Jammal AA, Ogata NG, Daga FB, Abe RY, Costa VP, Medeiros FA. What is the amount of visual field loss associated with disability in glaucoma? *Am J Ophthalmol.* 2019;197:45-52. doi: 10.1016/j.ajo.2018.09.002.
71. Jeoung JW, Kim DM, Oh S, Lee JS, Park SS, Kim JY. The relation between

endothelial nitric oxide synthase polymorphisms and normal tension glaucoma. *J Glaucoma*. 2017;26(11):1030-35. doi: 10.1097/IJG.0000000000000751.

72. Jia G, Aroor AR, Jia C, Sowers JR. Endothelial cell senescence in aging-related vascular dysfunction. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*. 2019;1865(7):1802-9. doi: 10.1016/j.bbadis.2018.08.008.

73. Jonas JB, Aung T, Bourne RR, Bron AM, Ritch R, Panda-Jonas S. Glaucoma. *Lancet*. 2017;390(10108):2183-93. doi: 10.1016/S0140-6736(17)31469-1.

74. Joris V, Gomez EL, Menchi L, Lobysheva I, Di Mauro V, Esfahani H et al. MicroRNA-199a-3p and microRNA-199a-5p take part to a redundant network of regulation of the NOS (NO Synthase)/NO pathway in the endothelium. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2018;38(10):2345-57. doi: 10.1161/ATVBAHA.118.311145.

75. Kang JH, Wiggs JL, Haines J, Abdrabou W, Pasquale LR. Reproductive factors and NOS3 variant interactions in primary open-angle glaucoma. *Mol Vis*. 2011;17:2544-51.

76. Kang JH, Wiggs JL, Rosner BA, Haines J, Abdrabou W, Pasquale LR. 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.

77. Kang JH, Wiggs JL, Rosner BA, Hankinson SE, Abdrabou W, Fan BJ, Haines J, Pasquale LR. Endothelial nitric oxide synthase gene variants and primary open-angle glaucoma: interactions with sex and postmenopausal hormone use. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2010 Feb;51(2):971-9. doi: 10.1167/iovs.09-4266.

78. Kapetanakis VV, Chan MP, Foster PJ, Cook DG, Owen CG, Rudnicka AR. Global variations and time trends in the prevalence of primary open angle glaucoma (POAG): a systematic review and meta-analysis. *Br J Ophthalmol*. 2016;100(1):86-93. doi: 10.1136/bjophthalmol-2015-307223.

79. Kasetti RB, Phan TN, Millar JC, Zode GS. Expression of mutant myocilin induces abnormal intracellular accumulation of selected extracellular matrix proteins in the trabecular meshwork. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2016;57(14):6058-69. doi:

10.1167/iovs.16-19610.

80. Kennedy K, Podbielski D, Nanji K, Muratov S, Ahmed I, Xie F. Disease-specific preference-based measure of glaucoma health states: HUG-5 psychometric validation. *J Glaucoma*. 2019;28(7):593-600. doi: 10.1097/IJG.0000000000001267.

81. Khawaja AP, Cooke Bailey JN, Wareham NJ, Scott RA, Simcoe M, Igo RP Jr et al. UK biobank eye and vision consortium; NEIGHBORHOOD consortium. Genome-wide analyses identify 68 new loci associated with intraocular pressure and improve risk prediction for primary open-angle glaucoma. *Nat Genet*. 2018;50(6):778-82. doi: 10.1038/s41588-018-0126-8.

82. Khawaja AP, Viswanathan AC. Are we ready for genetic testing for primary open-angle glaucoma? *Eye (Lond)*. 2018;32(5):877-83. doi: 10.1038/s41433-017-0011-1.

83. Koh V, Tham YC, Tan NY, Yu M, Thakur S, Teo ZL et al. Six-year incidence and risk factors of primary glaucoma in the singapore indian eye study. *Ophthalmol Glaucoma*. 2020:S2589-4196(20)30240-4. doi: 10.1016/j.ogla.2020.09.004.

84. Kondkar AA, Azad TA, Sultan T, Osman EA, Almobarak FA, Al-Obeidan SA. 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.org/10.1371/journal.pone.0227417.

85. Kosior-Jarecka E, Łukasik U, Wróbel-Dudzińska D, Kocki J, Bartosińska J, Witczak A, Chodorowska G, Mosiewicz J, Żarnowski T. Risk Factors for Normal and High-Tension Glaucoma in Poland in Connection with Polymorphisms of the Endothelial Nitric Oxide Synthase Gene. *PLoS One*. 2016 Jan 25;11(1):e0147540. doi: 10.1371/journal.pone.0147540.

86. Kotta MC, Sala L, Ghidoni A, Badone B, Ronchi C, Parati G et al. Calmodulinopathy: a novel, life-threatening clinical entity affecting the young. *Front Cardiovasc Med*. 2018;5:175. doi: 10.3389/fcvm.2018.00175.

87. Kowiański P, Lietzau G, Czuba E, Waśkow M, Steliga A, Moryś J. BDNF: a

key factor with multipotent impact on brain signaling and synaptic plasticity. *Cell Mol Neurobiol.* 2018;38(3):579-93. doi: 10.1007/s10571-017-0510-4.

88. Krasieńska B, Karolczak-Kulesza M, Krasieński Z, Pawlaczyk-Gabriel K, Niklas A, Głuszek J et al. A marked fall in nocturnal blood pressure is associated with the stage of primary open-angle glaucoma in patients with arterial hypertension. *Blood Press.* 2011;20:171–81. doi: 10.3109/08037051.2010.538964.

89. Kroeger H, Chiang WC, Felden J, Nguyen A, Lin JH. ER stress and unfolded protein response in ocular health and disease. *FEBS J.* 2019;286(2):399-412. doi: 10.1111/febs.14522.

90. Krüger-Genge A, Blocki A, Franke RP, Jung F. Vascular endothelial cell biology: an update. *Int J Mol Sci.* 2019;20(18):4411. doi: 10.3390/ijms20184411.

91. Kyari F, Adekoya B, Abdull MM, Mohammed AS, Garba F. The current status of glaucoma and glaucoma care in sub-saharan africa. *Asia Pac J Ophthalmol (Phila).* 2018;7(6):375-86. doi: 10.22608/APO.2018392.

92. Lee JY, Akiyama G, Saraswathy S, Xie X, Pan X, Hong YK et al. Aqueous humour outflow imaging: seeing is believing. *Eye (Lond).* 2021;35(1):202-15. doi: 10.1038/s41433-020-01215-0.

93. Leo F, Hutzler B, Ruddiman CA, Isakson BE, Cortese-Krott MM. Cellular microdomains for nitric oxide signaling in endothelium and red blood cells. *Nitric Oxide.* 2020;96:44-53. doi: 10.1016/j.niox.2020.01.002

94. Li M, Yue W. VRK2, a candidate gene for psychiatric and neurological disorders. *Mol Neuropsychiatry.* 2018;4(3):119-33. doi: 10.1159/000493941.

95. Li R, Wang X, Wei Y, Fang Y, Tian T, Li M et al. Structure-function relationship between Bruch's membrane opening-minimum rim width and perimetry in open-angle glaucoma subtypes. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2020;258(3):595-605. doi: 10.1007/s00417-019-04557-y.

96. Li T, Li X, Zamani A, Wang W, Lee C-N, Li Mi et al. c-Rel is a myeloid checkpoint for cancer immunotherapy. *Nat Cancer.* 2020;1:507-17 doi.org/10.1038/s43018-020-0061-3



97. Lieberman RL. How does a protein's structure spell the difference between health and disease? Our journey to understand glaucoma-associated myocilin. *PLoS Biol.* 2019;17(4):e3000237. doi: 10.1371/journal.pbio.3000237.
98. Lin Z, Huang S, Sun J, Xie B, Zhong Y. Associations between TLR4 polymorphisms and open angle glaucoma: a meta-analysis. *Biomed Res Int.* 2019;2019:6707650. doi: 10.1155/2019/6707650.
99. Ling JD, Bell NP. Role of cataract surgery in the management of glaucoma. *Int Ophthalmol Clin.* 2018;58(3):87-100. doi: 10.1097/IIO.0000000000000234.
100. Liu Q, Aminu B, Roscow O, Zhang W. Targeting the ubiquitin signaling cascade in tumor microenvironment for cancer therapy. *Int J Mol Sci.* 2021;22(2):791. doi: 10.3390/ijms22020791.
101. Liu Y, Allingham RR. Major review: Molecular genetics of primary open-angle glaucoma. *Exp Eye Res.* 2017;160:62-84. doi: 10.1016/j.exer.2017.05.002.
102. Long SL, Li YK, Xie YJ, Long ZF, Shi JF, Mo ZC. Neurite outgrowth inhibitor b receptor: a versatile receptor with multiple functions and actions. *DNA Cell Biol.* 2017;36(12):1142-50. doi: 10.1089/dna.2017.3813.
103. 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):361-71. doi: 10.1136/postgradmedj-2019-136396.
104. Lysyk L, Brassard R, Touret N, Lemieux MJ. PARL protease: a glimpse at intramembrane proteolysis in the inner mitochondrial membrane. *J Mol Biol.* 2020;432(18):5052-62. doi: 10.1016/j.jmb.2020.04.006.
105. Magalhães da Silva T, Rocha AV, Lacchini R, Marques CR, Silva ES, Tanus-Santos JE 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.
106. Marchio P, Guerra-Ojeda S, Vila JM, Aldasoro M, Victor VM, Mauricio MD. Targeting early atherosclerosis: a focus on oxidative stress and inflammation. *Oxid*

Med Cell Longev. 2019;2019:8563845. doi: 10.1155/2019/8563845.

107. McGinley P, Ansari E, Sandhu H, Dixon T. The cost burden of falls in people with glaucoma in National Health Service Hospital Trusts in the UK. *J Med Econ.* 2020;23(1):106-12. doi: 10.1080/13696998.2019.1646262.

108. McMonnies CW. Glaucoma history and risk factors. *J Optom.* 2017;10(2):71-8. <https://doi.org/10.1016/j.optom.2016.02.003>.

109. Melgarejo JD, Lee JH, Petitto M, Yépez JB, Murati FA, Jin Z et al. Glaucomatous optic neuropathy associated with nocturnal dip in blood pressure: findings from the maracaibo aging study. *Ophthalmology.* 2018;125:807–14. doi: 10.1016/j.ophttha.2017.11.029

110. Mudassar IB, Yew KK, Thambiraja R, Sulong S, Ghulam RA, Ahmad TL. Microvascular endothelial function and primary open angle glaucoma. *Ther Adv Ophthalmol.* 2019;11:2515841419868100. doi: 10.1177/2515841419868100.

111. Muratov S, Podbielski DW, Kennedy K, Jack SM, Pemberton J, Ahmed IIK et al. Preference-based glaucoma-specific health-related quality of life instrument: development of the health utility for glaucoma. *J Glaucoma.* 2018;27(7):585-91. doi: 10.1097/IJG.0000000000000984.

112. Noor A, Zahid S. A review of the role of synaptosomal-associated protein 25 (SNAP-25) in neurological disorders. *Int J Neurosci.* 2017;127(9):805-11. doi: 10.1080/00207454.2016.1248240.

113. Ou Z, Liu G, Liu W, Deng Y, Zheng L, Zhang S et al. Bioinformatics analysis of CYP1B1 mutation hotspots in Chinese primary congenital glaucoma patients. *Biosci Rep.* 2018;38(4):20180056. doi: 10.1042/BSR20180056.

114. Ouchi J, Kunikata H, Omodaka K, Sato H, Sato H, Ito A et al. Color visual acuity in preperimetric glaucoma and open-angle glaucoma. *PLoS One.* 2019;14(4):e0215290. doi: 10.1371/journal.pone.0215290.

115. Pallikaris., V.M. Serdiuk., S.B. Ustyenko., O.A. Isaiev. Influence of rs1799983 (G894T, Glu298Asp) NOS3 on the primary open-angle glaucoma development. *Medicini perspektivi.* 2022;27(1):117-123.

<https://doi.org/10.26641/2307-0404.2022.1.254376>.

116. Pang C, Lim CS, Brookes J, Tsui J, Hamilton G. Emerging importance of molecular pathogenesis of vascular malformations in clinical practice and classifications. *Vasc Med*. 2020;25(4):364-77. doi: 10.1177/1358863X20918941.

117. Parkkari M, Taipale J, Uusitalo H. Comparing glaucoma medications and general demographics in a sample of glaucoma patients treated in private practice with nationwide registry data in Finland. *Acta Ophthalmol*. 2019. doi: 10.1111/aos.14338.

118. Picciano AL, Crane BR. A nitric oxide synthase-like protein from *Synechococcus* produces NO/NO<sub>3</sub><sup>-</sup> from l-arginine and NADPH in a tetrahydrobiopterin- and Ca<sup>2+</sup>-dependent manner. *J Biol Chem*. 2019;294(27):10708-19. doi: 10.1074/jbc.RA119.008399.

119. Pillinger NL, Kam P. Endothelial glycocalyx: basic science and clinical implications. *Anaesth Intensive Care*. 2017;45(3):295-307. doi: 10.1177/0310057X1704500305.

120. Pinazo-Duran MD, Shoaie-Nia K, Zanon-Moreno V, Sanz-Gonzalez SM, Del Castillo JB, Garcia-Medina JJ. Strategies to reduce oxidative stress in glaucoma patients. *Curr Neuropharmacol*. 2018;16(7):903-18. doi: 10.2174/1570159X15666170705101910.

121. Platzer K, Yuan H, Schütz H, Winschel A, Chen W, Hu C et al. GRIN2B encephalopathy: novel findings on phenotype, variant clustering, functional consequences and treatment aspects. *J Med Genet*. 2017;54(7):460-70. doi: 10.1136/jmedgenet-2016-104509.

122. Quigley HA, Broman AT. The number of people with glaucoma worldwide in 2010 and 2020. *Br J Ophthalmol*. 2006;90(3):262-7. doi: 10.1136/bjo.2005.081224. PMID: 16488940; PMCID: PMC1856963.

123. Rebolleda G, Pérez-Sarriegui A, Díez-Álvarez L, De Juan V, Muñoz-Negrete FJ. Lamina cribrosa position and Bruch's membrane opening differences between anterior ischemic optic neuropathy and open-angle glaucoma. *Eur J Ophthalmol*. 2019;29(2):202-9. doi: 10.1177/1120672118782101.

124. Reina-Torres E, De Ieso ML, Pasquale LR, Madekurozwa M, van Batenburg-Sherwood J, Overby DR et al. The vital role for nitric oxide in intraocular pressure homeostasis. *Prog Retin Eye Res.* 2020;100922. doi: 10.1016/j.preteyeres.2020.100922.
125. Rocco ML, Soligo M, Manni L, Aloe L. Nerve growth factor: early studies and recent clinical trials. *Curr Neuropharmacol.* 2018;16(10):1455-65. doi: 10.2174/1570159X16666180412092859.
126. Rokicki W, Zalejska-Fiolka J, Pojda-Wilczek D, Kabiesz A, Majewski W. Oxidative stress in the red blood cells of patients with primary open-angle glaucoma. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2016;62(4):369-78. doi: 10.3233/CH-152029.
127. Rozpędek-Kamińska W, Wojtczak R, Szaflik JP, Szaflik J, Majsterek I. The genetic and endoplasmic reticulum-mediated molecular mechanisms of primary open-angle glaucoma. *Int J Mol Sci.* 2020;21(11):4171. doi: 10.3390/ijms21114171.
128. Ryan TA, Tumbarello DA. Optineurin: a coordinator of membrane-associated cargo trafficking and autophagy. *Front Immunol.* 2018;9:1024. doi: 10.3389/fimmu.2018.01024.
129. Saginbaev UR, Rukavishnikova SA, Potemkin VV, Pushkin AS, Akhmedov TA. [Laboratory predictors of glaucoma in patients with middle and old age - a tool to improve the quality of life (literature review)]. *Adv Gerontol.* 2020;33(2):339-45. [Russian]. PMID: 32593250.
130. Salari N, Bokae 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 Aug;41(8):2747-63. doi: 10.1007/s10792-021-01832-y.
131. Schuster AK, Erb C, Hoffmann EM, Dietlein T, Pfeiffer N. The diagnosis and treatment of glaucoma. *Dtsch Arztebl Int.* 2020;117(13):225-34. doi: 10.3238/arztebl.2020.0225.
132. Schuster AK, Wagner FM, Pfeiffer N, Hoffmann EM. Risikofaktoren für das Offenwinkelglaukom und Empfehlungen zur Glaukomfrüherkennung [Risk factors for

open-angle glaucoma and recommendations for glaucoma screening]. *Ophthalmologie*. 2020;117(11):1149-60. German. doi: 10.1007/s00347-020-01251-x.

133. Schwab C, Paar M, Fengler VH, Lindner E, Haas A, Ivastinovic D et al. Vitreous albumin redox state in open-angle glaucoma patients and controls: a pilot study. *Int Ophthalmol*. 2020;40(4):999-1006. doi: 10.1007/s10792-019-01268-5

134. Sears NC, Boese EA, Miller MA, Fingert JH. Mendelian genes in primary open angle glaucoma. *Exp Eye Res*. 2019;186:107702. doi: 10.1016/j.exer.2019.107702.

135. Seki VB, Souza GR, Messias A, Casarini DE, Paula JS. Aqueous humor renin, angiotensin I, and angiotensin II activity in primary open-angle glaucoma. *Arq Bras Oftalmol*. 2020;83(4):318-22. doi: 10.5935/0004-2749.20200052.

136. Seo SB, Cho HK. Deep learning classification of early normal-tension glaucoma and glaucoma suspects using Bruch's membrane opening-minimum rim width and RNFL. *Sci Rep*. 2020;10(1):19042. doi: 10.1038/s41598-020-76154-7.

137. Shah BR, Xu W, Mraz J. Cytochrome P450 1B1: role in health and disease and effect of nutrition on its expression. *RSC Advances*. 2019;9:21050–62. doi: 10.1039/C9RA03674A.

138. Sharma RK, Parameswaran S. Calmodulin-binding proteins: A journey of 40 years. *Cell Calcium*. 2018;75:89-100. doi: 10.1016/j.ceca.2018.09.002.

139. Shih V, Parekh M, Multani JK, McGuinness CB, Chen CC, Campbell JH et al. Clinical and economic burden of glaucoma by disease severity: a us claims-based analysis. *Ophthalmol Glaucoma*. 2020.S2589-4196(20):30325-2. doi: 10.1016/j.ogla.2020.12.007.

140. Shimokawa H, Godo S. Nitric oxide and endothelium-dependent hyperpolarization mediated by hydrogen peroxide in health and disease. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2020;127(2):92-101. doi: 10.1111/bcpt.13377.

141. Song BJ, Aiello LP, Pasquale LR. Presence and risk factors for glaucoma in patients with diabetes. *Curr Diab Rep*. 2016;16(12):124. doi: 10.1007/s11892-016-0815-6.

142. Song MM, Lei Y, Wu JH, Sun XH. [The progress of studies on aqueous humor dynamics abnormality induced by trabecular meshwork and Schlemm canal endothelial cell senescence and its relation with glaucoma]. *Zhonghua Yan Ke Za Zhi*. 2017;53(11):868-73. Chinese. doi: 10.3760/cma.j.issn.0412-4081.2017.11.014.
143. Song P, Wang J, Bucan K, Theodoratou E, Rudan I, Chan KY. National and subnational prevalence and burden of glaucoma in China: a systematic analysis. *J Glob Health*. 2017;7(2):020705. doi: 10.7189/jogh.07.020705.
144. Sotimehin AE, Yonge AV, Mihailovic A, West SK, Friedman DS, Gitlin LN et al. Locations, circumstances, and outcomes of falls in patients with glaucoma. *Am J Ophthalmol*. 2018;192:131-41. doi: 10.1016/j.ajo.2018.04.024.
145. Stahon KE, Bastian C, Griffith S, Kidd GJ, Brunet S, Baltan S. Age-related changes in axonal and mitochondrial ultrastructure and function in white matter. *J Neurosci*. 2016;36(39):9990-10001. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1316-16.2016.
146. Swarup G, Sayyad Z. Altered functions and interactions of glaucoma-associated mutants of optineurin. *Front Immunol*. 2018;9:1287. doi: 10.3389/fimmu.2018.01287.
147. Swire M, Kotelevtsev Y, Webb DJ, Lyons DA, Ffrench-Constant C. Endothelin signalling mediates experience-dependent myelination in the CNS. *Elife*. 2019;8:e49493. doi: 10.7554/eLife.49493.
148. Tavares CB, Gomes-Braga FD, Sousa EB, Brito JN, Melo MA, Campelo V et al. Association between single nucleotide polymorphisms and glioma risk: a systematic literature review. *Cancer Invest*. 2020;38(3):169-83. doi: 10.1080/07357907.2020.1719502.
149. Telenti A, Pierce LC, Biggs WH, di Iulio J, Wong EH, Fabani MM et al. Ten thousand human genomes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*:2016;113(42):11901-6; doi: 10.1073/pnas.1613365113
150. Terminology and Guidelines for Glaucoma. 4th Edition. European Glaucoma Society. Available on: [www.eugs.org](http://www.eugs.org)
151. Tham, Li X, Wong TY, Quigley HA, Aung T, Cheng CY. Global prevalence

of glaucoma and projections of glaucoma burden through 2040: a systematic review and meta-analysis. *Ophthalmology*. 2014;121(11):2081-90. doi: 10.1016/j.ophtha.2014.05.013.

152. Torres LA, Hatanaka M. Correlating structural and functional damage in glaucoma. *J Glaucoma*. 2019;28(12):1079-85. doi: 10.1097/IJG.0000000000001346.

153. Toth RP, Atkin JD. Dysfunction of optineurin in amyotrophic lateral sclerosis and glaucoma. *Front Immunol*. 2018;9:1017. doi: 10.3389/fimmu.2018.01017.

154. Trivli A, Koliarakis I, Terzidou C, Goulielmos GN, Siganos CS, Spandidos DA et al. Normal-tension glaucoma: pathogenesis and genetics. *Exp Ther Med*. 2019;17(1):563-74. doi: 10.3892/etm.2018.7011.

155. Vargas-Valderrama A, Messina A, Mitjavila-Garcia MT, Guenou H. The endothelium, a key actor in organ development and hPSC-derived organoid vascularization. *J Biomed Sci*. 2020;27(1):67. doi: 10.1186/s12929-020-00661-y.

156. Vernazza S, Tirendi S, Bassi AM, Traverso CE, Saccà SC. Neuroinflammation in primary open-angle glaucoma. *J Clin Med*. 2020;9(10):3172. doi: 10.3390/jcm9103172.

157. Wang H, Deng Y, Wan L, Huang L. A comprehensive map of disease networks and molecular drug discoveries for glaucoma. *Sci Rep*. 2020;10(1):9719. doi: 10.1038/s41598-020-66350-w.

158. Wang H, Li M, Zhang Z, Xue H, Chen X, Ji Y. Physiological function of myocilin and its role in the pathogenesis of glaucoma in the trabecular meshwork (Review). *Int J Mol Med*. 2019;43(2):671-81. doi: 10.3892/ijmm.2018.3992.

159. Wang HW, Sun P, Chen Y, Jiang LP, Wu HP, Zhang W et al. Research progress on human genes involved in the pathogenesis of glaucoma (Review). *Mol Med Rep*. 2018;18(1):656-74. doi: 10.3892/mmr.2018.9071.

160. Wang W, He M, Li Z, Huang W. Epidemiological variations and trends in health burden of glaucoma worldwide. *Acta Ophthalmol*. 2019;97(3):e349-e355. doi: 10.1111/aos.14044.

161. Wareham LK, Calkins DJ. The neurovascular unit in glaucomatous

neurodegeneration. *Front Cell Dev Biol.* 2020;8:452. doi: 10.3389/fcell.2020.00452.

162. Webster CP, Smith EF, Grierson AJ, De Vos KJ. C9orf72 plays a central role in Rab GTPase-dependent regulation of autophagy. *Small GTPases.* 2018;9(5):399-408. doi: 10.1080/21541248.2016.1240495.

163. Weil R, Laplantine E, Curic S, Génin P. Role of optineurin in the mitochondrial dysfunction: potential implications in neurodegenerative diseases and cancer. *Front Immunol.* 2018;9:1243. doi: 10.3389/fimmu.2018.01243.

164. Weiss J, Fränkl SA, Flammer J, Grieshaber MC, Hollo G, Teuchner B 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;18:2174-81.

165. Wettschureck N, Strilic B, Offermanns S. Passing the vascular barrier: endothelial signaling processes controlling extravasation. *Physiol Rev.* 2019;99(3):1467-1525. doi: 10.1152/physrev.00037.2018.

166. Wiącek MP, Modrzejewska M, Zaborski D. Age-related changes in retrobulbar circulation: a literature review. *Int Ophthalmol.* 2020;40(2):493-501. doi: 10.1007/s10792-019-01176-8.

167. Wiggs JL, Pasquale LR. Genetics of glaucoma. *Hum Mol Genet.* 2017;26(R1):R21-R27. doi: 10.1093/hmg/ddx184.

168. Wostyn P. Glaucoma as a dangerous interplay between ocular fluid and cerebrospinal fluid. *Med Hypotheses.* 2019;127:97-9. doi: 10.1016/j.mehy.2019.04.008.

169. Wu Q, Sun X, Zheng G. VEGF overexpression is associated with optic nerve involvement and differentiation of retinoblastoma: a PRISMA-compliant meta-analysis. *Medicine (Baltimore).* 2018;97(51):e13753. doi:10.1097/MD.00000000000013753

170. 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.



171. Yilmaz KC, Sur Gungor S, Ciftci O, Akman A, Muderrisoglu H. Relationship between primary open angle glaucoma and blood pressure. *Acta Cardiol.* 2020;75(1):54-8. doi: 10.1080/00015385.2018.1549004.
172. Yin Y, Wang Z. ApoE and Neurodegenerative Diseases in Aging. *Adv Exp Med Biol.* 2018;1086:77-92. doi: 10.1007/978-981-13-1117-8\_5.
173. Ying H, Yue BY. Optineurin: The autophagy connection. *Exp Eye Res.* 2016;144:73-80. doi: 10.1016/j.exer.2015.06.029.
174. Yoshikawa T, Obayashi K, Miyata K, Saeki K, Ogata N. Increased nighttime blood pressure in patients with glaucoma: cross-sectional analysis of the LIGHT study. *Ophthalmology.* 2019;126:1366–71. doi: 10.1016/j.optha.2019.05.019
175. Youngblood H, Hauser MA, Liu Y. Update on the genetics of primary open-angle glaucoma. *Exp Eye Res.* 2019;188:107795. doi: 10.1016/j.exer.2019.107795.
176. Zhao X, Li Q, Yu F, Lin L, Yin W, Li J et al. Gene polymorphism associated with endothelial nitric oxide synthase (4VNTR, G894T, C786T) and unexplained recurrent spontaneous abortion risk: a meta-analysis. *Medicine (Baltimore).* 2019;98(4):e14175. doi: 10.1097/MD.00000000000014175.
177. Zhou K, Shang X, Wang XY, Wang XJ, Cheng HH, Hu HS et al. [Risk factors for visual field loss progression in patients with primary open-angle glaucoma in Wenzhou area]. *Zhonghua Yan Ke Za Zhi.* 2019;55(10):777-84. Chinese. doi: 10.3760/cma.j.issn.0412-4081.2019.10.009.

## ДОДАТКИ

### Додаток № 1. Акти впровадження результатів роботи в науковий обіг та практичну діяльність



«Затверджую»

В. О. ректора Дніпровського  
державного медичного університету  
МОЗ України  
академік НАМН України  
д.мед.н., професор Тетяна ПЕРЦЕВА

«  » 2023р.

#### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

*Пропозиція для впровадження:* прогнозування прогресування стадій первинної відкритокутової глаукоми залежно від впливу поліморфізмів rs1799983 та rs2070744 гена ендотеліальної NO-синтази (NOS3).

*Установа-розробник, автор:* Дніпровський державний медичний університет МОЗ України (вул. Володимира Вернадського, 9, м. Дніпро, Україна, 49044), кафедра офтальмології, Ісаєв Олексій Андрійович.

*Джерело інформації:* О. А. Isaiev, V. M. Serdiuk. Association of primary open-angle glaucoma with endothelial NO-synthase (NOS3) rs2070744 (T-786C) in a Ukrainian population. J.ophthalmol.(Ukraine).2022;3:3-9.

О. А. Ісаєв. Зв'язок поліморфізму rs1799983 і rs2070744 гена NOS3 з первинною відкритокутовою глаукомою. «Архів офтальмології України» Том 10, №1, 2022 р. 10-16 стор.

Pallikaris Ioannis MD, PhD.Prof., Serdiuk Valerii. MD, DMSci. Prof., Ustymenko Svitlana., Isaiev Oleksii. Influence of rs1799983 (G894T, Glu298Asp) NOS3 on the primary open-angle glaucoma development. Medicini perspektivi Scientific journal of Dnipro state medical university. 2022 Volume XXVII No. 1, 2022, 117-123 pages.

*Базова установа, яка проводить впровадження:* Дніпровський державний медичний університет МОЗ України.

*Форми впровадження:* матеріали використовуються в навчальному процесі кафедри – лекційному курсі та при проведенні практичних занять, в лікувально-діагностичній роботі.

*Термін впровадження:* з 2022 навчального року.

*Зауваження та пропозиції:* На підставі визначення генотипів rs1799983 і rs2070744 гена NOS3 та з урахуванням статі побудована регресійна модель швидкості прогресії ПВКГ.

Рекомендовано до включення в програму лекцій студентів та лікарів-інтернів.

Завідувач кафедри офтальмології  
д.мед.н. професор

Валерій СЕРДЮК

## Продовження додатку 1

«Затверджую»

Перший проректор  
Національного університету  
охорони здоров'я України  
імені П.Л.Шупика  
член-кореспондент НАМН України  
професор Юрій ВДОВИЧЕНКО



» \_\_\_\_\_ 2023р.

### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

*Пропозиція для впровадження:* прогнозування прогресування стадій первинної відкритокутової глаукоми залежно від впливу поліморфізмів rs1799983 та rs2070744 гена ендотеліальної NO-синтази (NOS3).

*Установа-розробник, автор:* Дніпровський державний медичний університет МОЗ України (вул. Володимира Вернадського, 9, м. Дніпро, Україна, 49044), кафедра офтальмології, Ісаєв Олексій Андрійович.

*Джерело інформації:* O. A. Isaiev, V. M. Serdiuk. Association of primary open-angle glaucoma with endothelial NO-synthase (NOS3) rs2070744 (T-786C) in a Ukrainian population. J.ophthalmol.(Ukraine).2022;3:3-9.

O. A. Isaiev. Зв'язок поліморфізму rs1799983 і rs2070744 гена NOS3 з первинною відкритокутовою глаукомою. «Архів офтальмології України» Том 10, №1, 2022 р. 10-16 стор.

Pallikaris Ioannis MD, PhD.Prof., Serdiuk Valerii. MD, DMSci. Prof., Ustymenko Svitlana., Isaiev Oleksii. Influence of rs1799983 (G894T, Glu298Asp) NOS3 on the primary open-angle glaucoma development. Medicni perspektivi Scientific journal of Dnipro state medical university. 2022 Volume XXVII No. 1, 2022, 117-123 pages.

*Базова установа, яка проводить впровадження:* Національний університет охорони здоров'я України імені П.Л. Шупика МОЗ України

*Форми впровадження:* матеріали використовуються в навчальному процесі кафедри – лекційному курсі та при проведенні практичних занять, в лікувально-діагностичній роботі.

*Термін впровадження:* з 2022 навчального року.

*Зауваження та пропозиції:* На підставі визначення генотипів rs1799983 і rs2070744 гена NOS3 та з урахуванням статі побудована регресійна модель швидкості прогресії ПВКГ.

Рекомендовано до включення в програму лекцій підвищення кваліфікації лікарів.

Завідувач кафедри офтальмології  
чл.-кор. НАМН України,  
д.мед.н. професор

Сергій РИКОВ

## Продовження додатку 1

«Затверджую»

Проректор з науково-педагогічної роботи Харківського національного медичного університету МОЗ України д.мед.н. професор Марковський В.Д.

« \_\_\_\_\_ » 2023р.



### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

*Пропозиція для впровадження:* прогнозування прогресування стадій первинної відкритокутової глаукоми залежно від впливу поліморфізмів rs1799983 та rs2070744 гена ендотеліальної NO-синтази (NOS3).

*Установа-розробник, автор:* Дніпровський державний медичний університет МОЗ України (вул. Володимира Вернадського, 9, м. Дніпро, Україна, 49044), кафедра офтальмології, Ісаєв Олексій Андрійович.

*Джерело інформації:* O. A. Isaiev, V. M. Serdiuk. Association of primary open-angle glaucoma with endothelial NO-synthase (NOS3) rs2070744 (T-786C) in a Ukrainian population. J.ophthalmol.(Ukraine).2022;3:3-9.

O. A. Isaiev. Зв'язок поліморфізму rs1799983 і rs2070744 гена NOS3 з первинною відкритокутовою глаукомою. «Архів офтальмології України» Том 10, №1, 2022 р. 10-16 стор.

Pallikaris Ioannis MD, PhD.Prof., Serdiuk Valerii. MD, DMSci. Prof., Ustymenko Svitlana., Isaiev Oleksii. Influence of rs1799983 (G894T, Glu298Asp) NOS3 on the primary open-angle glaucoma development. Medicni perspektivi Scientific journal of Dnipro state medical university. 2022 Volume XXVII No. 1, 2022, 117-123 pages.

*Базова установа, яка проводить впровадження:* Харківський національний медичний університет МОЗ України

*Форми впровадження:* матеріали використовуються в навчальному процесі кафедри – лекційному курсі та при проведенні практичних занять, в лікувально-діагностичній роботі.

*Термін впровадження:* з 2022 навчального року.

*Зауваження та пропозиції:* На підставі визначення генотипів rs1799983 і rs2070744 гена NOS3 та з урахуванням статі побудована регресійна модель швидкості прогресії ПБКГ.

Рекомендовано до включення в програму лекцій студентів та лікарів-інтернів.

Завідувач кафедри офтальмології  
д.мед.н. професор

Павло БЕЗДІТКО

**«Затверджую»**

В.о ректора, голові комісії з  
реорганізації ДЗ «Запорізької  
медичної академії післядипломної  
освіти» МОЗ України  
к.фарм.н., доцент Алексєєв О.Г.



\_\_\_\_\_ 2023р.

### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

*Пропозиція для впровадження:* прогнозування прогресування стадій первинної відкритокутової глаукоми залежно від впливу поліморфізмів rs1799983 та rs2070744 гена ендотеліальної NO-синтази (NOS3).

*Установа-розробник, автор:* Дніпровський державний медичний університет МОЗ України (вул. Володимира Вернадського, 9, м. Дніпро, Україна, 49044), кафедра офтальмології, Ісаєв Олексій Андрійович.

*Джерело інформації:* О. А. Isaiev, V. M. Serdiuk. Association of primary open-angle glaucoma with endothelial NO-synthase (NOS3) rs2070744 (T-786C) in a Ukrainian population. J.ophthalmol.(Ukraine).2022;3:3-9.

О. А. Ісаєв. Зв'язок поліморфізму rs1799983 і rs2070744 гена NOS3 з первинною відкритокутовою глаукомою. «Архів офтальмології України» Том 10, №1, 2022 р. 10-16 стор.

Pallikaris Ioannis MD, PhD.Prof., Serdiuk Valerii. MD, DMSci. Prof., Ustylenko Svitlana., Isaiev Oleksii. Influence of rs1799983 (G894T, Glu298Asp) NOS3 on the primary open-angle glaucoma development. Medicni perspektivi Scientific journal of Dnipro state medical university. 2022 Volume XXVII No. 1, 2022, 117-123 pages.

*Базова установа, яка проводить впровадження:* ДЗ «Запорізька медична академія післядипломної освіти» МОЗ України.

*Форми впровадження:* матеріали використовуються в навчальному процесі кафедри – лекційному курсі та при проведенні практичних занять, в лікувально-діагностичній роботі.

*Термін впровадження:* з 2022 навчального року.

*Зауваження та пропозиції:* На підставі визначення генотипів rs1799983 і rs2070744 гена NOS3 та з урахуванням статі побудована регресійна модель швидкості прогресії ПВКГ.

Рекомендовано до включення в програму лекцій підвищення кваліфікації лікарів.

Завідувач кафедри очних хвороб  
д.мед.н. професор

Ніна ЛУЦЕНКО



### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

*Пропозиція для впровадження:* прогнозування прогресування стадій первинної відкритокутової глаукоми залежно від впливу поліморфізмів rs1799983 та rs2070744 гена ендотеліальної NO-синтази (NOS3).

*Установа-розробник, автор:* Дніпровський державний медичний університет МОЗ України (вул. Володимира Вернадського, 9, м. Дніпро, Україна, 49044), кафедра офтальмології, Ісаєв Олексій Андрійович.

*Джерело інформації:* O. A. Isaiev, V. M. Serdiuk. Association of primary open-angle glaucoma with endothelial NO-synthase (NOS3) rs2070744 (T-786C) in a Ukrainian population. J.ophthalmol.(Ukraine).2022;3:3-9.

О. А. Ісаєв. Зв'язок поліморфізму rs1799983 і rs2070744 гена NOS3 з первинною відкритокутовою глаукомою. «Архів офтальмології України» Том 10, №1, 2022 р. 10-16 стор.

Pallikaris Ioannis MD, PhD.Prof., Serdiuk Valerii. MD, DMSci. Prof., Ustymenko Svitlana., Isaiev Oleksii. Influence of rs1799983 (G894T, Glu298Asp) NOS3 on the primary open-angle glaucoma development. Medicni perspektivi Scientific journal of Dnipro state medical university. 2022 Volume XXVII No. 1, 2022, 117-123 pages.

*Базова установа, яка проводить впровадження:* КП «Дніпропетровська обласна клінічна офтальмологічна лікарня»

*Форми впровадження:* матеріали використовуються в лікувально-діагностичній роботі.

*Термін впровадження:* 2022-2023 рік.

*Зауваження та пропозиції:* На підставі визначення генотипів rs1799983 і rs2070744 гена NOS3 та з урахуванням статі побудована регресійна модель швидкості прогресії ПВКГ.

Рекомендовано до включення в лікувально-діагностичний процес спеціалізованих закладів охорони здоров'я.

Завідувач поліклінічним відділенням  
КП «ДОКОЛ»

Борис ЩЕРБАКОВ

## Продовження додатку 1



### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

*Пропозиція для впровадження:* прогнозування прогресування стадій первинної відкритокутової глаукоми залежно від впливу поліморфізмів rs1799983 та rs2070744 гена ендотеліальної NO-синтази (NOS3).

*Установа-розробник, автор:* Дніпровський державний медичний університет МОЗ України(вул. Володимира Вернадського ,9, м. Дніпро, Україна, 49044), кафедра офтальмології, Ісаєв Олександр Андрійович.

*Джерело інформації:* O. A. Isaiev, V. M. Serdiuk. Association of primary open-angle glaucoma with endothelial NO-synthase (NOS3) rs2070744 (T-786C) in a Ukrainian population. J.ophtalmol.(Ukraine).2022;3:3-9.

О. А. Ісаєв. Зв'язок поліморфізму rs1799983 і rs2070744 гена NOS3 з первинною відкритокутовою глаукомою. «Архів офтальмології України» Том 10, №1, 2022 р. 10-16 стор.

Pallikaris Ioannis MD, PhD.Prof., Serdiuk Valerii. MD, DMSci. Prof., Ustymenko Svitlana., Isaiev Oleksii. Influence of rs1799983 (G894T, Glu298Asp) NOS3 on the primary open-angle glaucoma development. Medicni perspektivi Scientific journal of Dnipro state medical university. 2022 Volume XXVII No. 1, 2022, 117-123 pages.

*Базова установа, яка проводить впровадження:* Запорізька обласна клінічна лікарня.

*Форми впровадження:* матеріали використовуються в лікувально-діагностичній роботі.

*Термін впровадження:* 2022-2023 рік.

*Зауваження та пропозиції:* На підставі визначення генотипів rs1799983 і rs2070744 гена NOS3 та з урахуванням статі побудована регресійна модель швидкості прогресії ПВКГ.

Рекомендовано для застосування в лікувально-діагностичному процесі.

В.о. завідувача відділенням мікрочірургії ока

І. Вільхова

## Продовження додатку 1

«Затверджую»

Директор ТОВ «Офтальмолоджи  
Груп»

Олена МАЙБОРОДА



2023р.

### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

*Пропозиція для впровадження:* прогнозування прогресування стадій первинної відкритокутової глаукоми залежно від впливу поліморфізмів rs1799983 та rs2070744 гена ендотеліальної NO-синтази (NOS3).

*Установа-розробник, автор:* Дніпровський державний медичний університет МОЗ України (вул. Володимира Вернадського, 9, м. Дніпро, Україна, 49044), кафедра офтальмології, Ісаєв Олександр Андрійович.

*Джерело інформації:* О. А. Isaiev, V. M. Serdiuk. Association of primary open-angle glaucoma with endothelial NO-synthase (NOS3) rs2070744 (T-786C) in a Ukrainian population. J.ophthalmol.(Ukraine).2022;3:3-9.

О. А. Ісаєв. Зв'язок поліморфізму rs1799983 і rs2070744 гена NOS3 з первинною відкритокутовою глаукомою. «Архів офтальмології України» Том 10, №1, 2022 р. 10-16 стор.

Pallikaris Ioannis MD, PhD.Prof., Serdiuk Valerii. MD, DMSci. Prof., Ustymenko Svitlana., Isaiev Oleksii. Influence of rs1799983 (G894T, Glu298Asp) NOS3 on the primary open-angle glaucoma development. Medicni perspektivi Scientific journal of Dnipro state medical university. 2022 Volume XXVII No. 1, 2022, 117-123 pages.

*Базова установа, яка проводить впровадження:* ТОВ «Офтальмолоджи Груп»

*Форми впровадження:* матеріали використовуються в лікувально-діагностичній роботі.

*Термін впровадження:* 2022-2023 рік.

*Зауваження та пропозиції:* На підставі визначення генотипів rs1799983 і rs2070744 гена NOS3 та з урахуванням статі побудована регресійна модель швидкості прогресії ПВКГ.

Рекомендовано для застосування в лікувально-діагностичному процесі.

Медичний директор  
ТОВ «Офтальмолоджи Груп»

Олена ОРЕХОВА



## Продовження додатку 1

«Затверджую»

Директор ТОВ «Медичний центр

«ОЧІ КЛІНІК»

Дмитро ЖМУРИК

«\_\_\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2023р.



### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

*Пропозиція для впровадження:* прогнозування прогресування стадій первинної відкритокутової глаукоми залежно від впливу поліморфізмів rs1799983 та rs2070744 гена ендотеліальної NO-синтази (NOS3).

*Установа-розробник, автор:* Дніпровський державний медичний університет МОЗ України (вул. Володимира Вернадського, 9, м. Дніпро, Україна, 49044), кафедра офтальмології, Ісаєв Олексій Андрійович.

*Джерело інформації:* O. A. Isaiev, V. M. Serdiuk. Association of primary open-angle glaucoma with endothelial NO-synthase (NOS3) rs2070744 (T-786C) in a Ukrainian population. J.opthalmol.(Ukraine).2022;3:3-9.

O. A. Isaiev. Зв'язок поліморфізму rs1799983 і rs2070744 гена NOS3 з первинною відкритокутовою глаукомою. «Архів офтальмології України» Том 10, №1, 2022 р. 10-16 стор.

Pallikaris Ioannis MD, PhD.Prof., Serdiuk Valerii. MD, DMSci. Prof., Ustymenko Svitlana., Isaiev Oleksii. Influence of rs1799983 (G894T, Glu298Asp) NOS3 on the primary open-angle glaucoma development. Medicni perspektivi Scientific journal of Dnipro state medical university. 2022 Volume XXVII No. 1, 2022, 117-123 pages.

*Базова установа, яка проводить впровадження:* Медичний центр «ОЧІ КЛІНІК»

*Форми впровадження:* матеріали використовуються в лікувально-діагностичній роботі.

*Термін впровадження:* 2022-2023 рік.

*Зауваження та пропозиції:* На підставі визначення генотипів rs1799983 і rs2070744 гена NOS3 та з урахуванням статі побудована регресійна модель швидкості прогресії ПВКГ.

Рекомендовано для застосування в лікувально-діагностичному процесі.

Головний лікар  
ТОВ «Медичний центр «ОЧІ КЛІНІК»  
д.мед.н.



Дмитро ЖМУРИК

## Продовження додатку 1

«Затверджую»

Директор КНП

« Міської клінічної лікарні №14

ім. проф. Л.Л. Гіршмана» ХМР

к.мед.н. Михайло КОВТУН



2023р.

### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

*Пропозиція для впровадження:* прогнозування прогресування стадій первинної відкритокутової глаукоми залежно від впливу поліморфізмів rs1799983 та rs2070744 гена ендотеліальної NO-синтази (NOS3).

*Установа-розробник, автор:* Дніпровський державний медичний університет МОЗ України (вул. Володимира Вернадського, 9, м. Дніпро, Україна, 49044), кафедра офтальмології, Ісаєв Олексій Андрійович.

*Джерело інформації:* O. A. Isaiev, V. M. Serdiuk. Association of primary open-angle glaucoma with endothelial NO-synthase (NOS3) rs2070744 (T-786C) in a Ukrainian population. J. ophthalmol. (Ukraine). 2022;3:3-9.

O. A. Isaiev. Зв'язок поліморфізму rs1799983 і rs2070744 гена NOS3 з первинною відкритокутовою глаукомою. «Архів офтальмології України» Том 10, №1, 2022 р. 10-16 стор.

Pallikaris Ioannis MD, PhD. Prof., Serdiuk Valerii. MD, DMSci. Prof., Ustymenko Svitlana., Isaiev Oleksii. Influence of rs1799983 (G894T, Glu298Asp) NOS3 on the primary open-angle glaucoma development. Medicin perspectives Scientific journal of Dniprostated medical university. 2022 Volume XXVII No. 1, 2022, 117-123 pages.

*Базова установа, яка проводить впровадження:* КНП «Міська клінічна лікарня №14 ім. проф. Л.Л. Гіршмана» ХМР

*Форми впровадження:* матеріали використовуються в лікувально-діагностичній роботі.

*Термін впровадження:* 2022-2023 рік.

*Зауваження та пропозиції:* На підставі визначення генотипів rs1799983 і rs2070744 гена NOS3 та з урахуванням статі побудована регресійна модель швидкості прогресії ПВКГ.

Рекомендовано для застосування в лікувально-діагностичному процесі.

Завідувач IV мікрохірургічним відділенням глаукоми і катаракти, к.мед.наук

Анатолій АРНАУТОВ

## Додаток № 2. Список публікацій здобувача за темою дисертації

*Наукові праці, в яких опубліковані основні результати дисертації:*

1. Сердюк В.М., Ісаєв О.А., Устименко С.Б., Сердюк А.В. Генетичні предиктори судинної регуляції прогресування глаукомної оптичної нейропатії у пацієнтів з первинною відкритокутовою глаукомою. Український журнал «Офтальмологія». 2021;3(14). <https://doi.org/10.30702/Ophthalmology27082021-14.3.43-50/3-06-07> (Дисертантом особисто здійснено теоретичне обґрунтування дизайну дослідження, проведено клінічне обстеження хворих, статистично опрацьовано результати, обґрунтовано висновки, підготовлено матеріал до публікації, здійснено підбір літератури та її узагальнення)
2. Исаев А.А., Сердюк В.Н., Устименко С.Б. Распространенность и эпидемиология первичной открытоугольной глаукомы. Офтальмология. Восточная Европа. 2021;11(3):343-54. <https://doi.org/10.34883/PI.2021.11.3.033> (Дисертантом особисто здійснено теоретичне обґрунтування дизайну дослідження, проведено клінічне обстеження хворих, статистично опрацьовано результати, обґрунтовано висновки, підготовлено матеріал до публікації, здійснено підбір літератури та її узагальнення)
3. Ісаєв О.А. Зв'язок поліморфізму rs1799983 і rs2070744 гена NOS3 з первинною відкритокутовою глаукомою. «Архів офтальмології України» Том 10, №1, 2022 р. 10-16 стор. DOI: <https://doi.org/10.22141/2309-8147.10.1.2022.286>
4. O. A. Isaiev, V. M. Serdiuk. Association of primary open-angle glaucoma with endothelial NO-synthase (NOS3) rs2070744 (T-786C) in a Ukrainian population. J.opthalmol.(Ukraine).2022;3:3-9. <http://doi.org/10.31288/oftalmolzh2022339>. (Дисертантом особисто здійснено теоретичне обґрунтування дизайну дослідження, проведено клінічне обстеження хворих, статистично опрацьовано результати, обґрунтовано висновки, підготовлено матеріал до публікації, здійснено підбір літератури та її узагальнення)
5. О.А.Ісаєв, В.М.Сердюк. Прогнозування швидкості прогресії первинної

відкритокутової глаукоми у залежності від статі та поліморфізму гена ендотеліальної NO-синтази (NOS3). Медичні перспективи. 2022. Т. 27, № 4. С. 159-168. <https://doi.org/10.26641/2307-0404.2022.4.271215> (Дисертантом особисто здійснено теоретичне обґрунтування дизайну дослідження, проведено клінічне обстеження хворих, статистично опрацьовано результати, обґрунтовано висновки, підготовлено матеріал до публікації, здійснено підбір літератури та її узагальнення)

6. Oleksii Isaiev, Valerii Serdiuk, Denys Ziablitsev. Predicting the occurrence of primary open-angle glaucoma depending on genetic polymorphism endothelial NO synthase (NOS3) gene. Wiadomości Lekarskie, VOLUME LXXV, ISSUE 12, DECEMBER 2022. DOI: <https://doi.org/10.36740/WLek202212133> (Дисертантом особисто здійснено теоретичне обґрунтування дизайну дослідження, проведено клінічне обстеження хворих, статистично опрацьовано результати, обґрунтовано висновки, підготовлено матеріал до публікації, здійснено підбір літератури та її узагальнення)

7. Pallikaris., V.M. Serdiuk., S.B. Ustymenko., O.A. Isaiev. Influence of rs1799983 (G894T, Glu298Asp) NOS3 on the primary open-angle glaucoma development. Medicni perspektivi. 2022;27(1):117-123. <https://doi.org/10.26641/2307-0404.2022.1.254376>. (Дисертантом особисто здійснено теоретичне обґрунтування дизайну дослідження, проведено клінічне обстеження хворих, статистично опрацьовано результати, обґрунтовано висновки, підготовлено матеріал до публікації, здійснено підбір літератури та її узагальнення)

*Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:*

8. Сердюк В.М., Ісаєв О.А. Частота поліморфізму GLU298ASP гена ендотеліальної посинтази у пацієнтів з первинною відкритокутовою глаукомою. Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю «Філатовські читання-2021», 20-21 травня 2021. Одеса, “Чорномор’я”. – 2021. – С. 98-99.

9. Сердюк В.М., Ісаєв О.А. Роль поліморфізмів rs1799983 і rs2070744 гена

ендотеліальної NO-синтази в розвитку первинної відкритокутової глаукоми. В кн.: «СВОЄ ДИТИНСТВО ТРЕБА БАЧИТИ`21»: ІХ науково-практична конференція дитячих офтальмологів та оптометристів України з міжнародною участю, 10-12 червня 2021 року: збірник праць / Під ред. проф.есора С. О. Рикова // Бугаз Одеської області. – 2021. – С. 142-144.

10. Сердюк В.М., Ісаєв О.А. Поширеність та епідеміологія первинної відкритокутової глаукоми. Український журнал Офтальмологія. 2021 Випуск 3(14). вересень 2021 р. Конференція з міжнародною участю Glaucoma +2021. <http://surl.li/ejckf>

11. Ісаєв О.А, Сердюк В.М., Устименко С.Б. Вплив поліморфізму rs1799983 (G894T, Glu298Asp) гена NOS3 на розвиток первинної відкритокутової глаукоми. Український журнал Офтальмологія. 2021. Випуск 3(14). Вересень 2021 р. Конференція з міжнародною участю Glaucoma +2021. <http://surl.li/ejckk>