

5. Иванов Д.И. Закрытоугольная глаукома: анатомические и патогенетические особенности лечения // Глаукома. - 2004. - №3. - С. 40-48.

6. Ивашина А.И., Гудечков В.Б., Бессарабов А.Н. Выбор метода хирургической коррекции гиперметропии // Офтальмохирургия. - 1996. - №1. - С. 9-11.

7. Руднева М.А., Семенова Н.А., Дога А.В. ЛАЗИК в коррекции гиперметропии на российской эксимерлазерной сканирующей установке «Микроскан» // Офтальмохирургия. - 2005. - №4. - С. 13-15.

8. Темиров Н.Э., Погорелова В.В. Коррекция гиперметропии высокой степени полиартифакцией // Вестн. офтальмол. - 2007. - №6. - С. 29-32.

9. Усов В.Я. Достижения и проблемы кераторефракционной хирургии гиперметропии и гиперметропического астигматизма // Офтальмол. журнал. - 2000. - №5. - С. 63-65.

10. Федоров С.Н., Медведев И.Б., Семенов А.Д. Сочетание ламеллярной кератопластики с эксимерлазерной хирургией для коррекции гиперметропии высокой степени // Офтальмохирургия. - 1996. - №4. - С. 42-45.

Координаты для связи с авторами: Сорокин Евгений Леонидович — доктор мед. наук, профессор, зав. кафедрой глазных болезней ДВГМУ, зам. директора по научной работе Хабаровского филиала ФГУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова Росмедтехнологий», тел.: 8(4212)-22-51-21; e-mail: esorokin@khvmtk.ru; Посвалюк Валерий Дмитриевич — врач-офтальмолог высшей категории отделения рефракционной хирургии Хабаровского филиала ФГУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова Росмедтехнологий», тел.: 8(4212)-75-02-66, e-mail: pos2610w@yandex.ru; Тургенева Екатерина Валерьевна — врач-офтальмолог отделения рефракционной хирургии Хабаровского филиала ФГУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова Росмедтехнологий», тел.: 8(4212)-75-02-66; Данилов Олег Владимирович — врач-офтальмолог высшей категории диагностического отдела Хабаровского филиала ФГУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова Росмедтехнологий».



УДК 617.7 - 007.681

Н.А. Логунов, А.И. Белоусова, Ю.А. Витковский, Н.Н. Страмбовская

ПРОАПОПТОТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ $TNF\alpha$ (G308A) КАК ФАКТОР РИСКА РАЗВИТИЯ ПЕРВИЧНОЙ ОТКРЫТОУГОЛЬНОЙ ГЛАУКОМЫ У РЕЗИДЕНТОВ ЗАБАЙКАЛЬСКОГО КРАЯ

Читинская государственная медицинская академия,
672000, ул. Горького, 39а, тел.: 8(3022)-32-16-23, e-mail: aivbel@yandex.ru, г. Чита

Первичная открытоугольная глаукома (ПОУГ) по-прежнему остается одной из основных причин необратимой слепоты и инвалидности по зрению. С возрастом число больных увеличивается от 0,1-1,5% в 40-45 лет до 10-14% в 75 лет и выше [1, 2]. В ранней фазе глаукома протекает почти бессимптомно, и выявление данного заболевания в большинстве случаев происходит на стадиях, сопровождающихся уже необратимыми изменениями зрительного нерва [4-6]. Сложившаяся ситуация ставит вопрос о необходимости поиска и разработки новых эффективных молекулярно-генетических методов ранней диагностики глаукомы и внедрения их в повсеместную практику.

В настоящий момент есть все основания относить первичную открытоугольную глаукому (ПОУГ) к группе мультифакторных заболеваний, развивающихся на фоне апоптоза, связанного с активацией проапоптотических генов и белковой перестройкой содержимого клеток [3].

Ряд авторов, рассматривая вопрос о регуляции апоптоза, выделяют три его блока: ядерный, митохондриальный и экзотенный (межклеточный) [9]. Межклеточный

механизм включает уменьшение в непосредственном микроокружении клетки факторов гормональной и цитокиновой природы, необходимых для ее выживания, и, напротив, повышение концентрации лигандов так называемых «рецепторов гибели»: Fas-рецептора и рецептора фактора некроза опухолей $TNF\alpha$ [7].

Продукция $TNF\alpha$ регулируется несколькими частями генома, из которых наиболее очевидная сам ген $TNF\alpha$. Существует полиморфизм в области промотора гена, который влияет на количество образуемого $TNF\alpha$ при активации гена. Более распространенная аллель гена $TNF\alpha$ - $TNF1$. Мутация гена приводит к замене основания в положении 308 (аденин на гуанин - A/G) и образованию гена $TNF2$ с более высокой способностью к образованию $TNF\alpha$ [8].

Учитывая увеличение синтеза фактора некроза опухоли при активации гена $TNF2$ и, следовательно, усиление апоптоза ганглиозных клеток сетчатки, как по межклеточному, так и по ядерному пути (посредством увеличения экспрессии p53), можно предположить влияние проапоптотического полиморфизма $TNF\alpha$ на риск

возникновения и тяжесть течения глаукоматозного процесса [8, 9].

Основной целью нашего исследования явилось изучение роли проапоптотических полиморфизмов гена $TNF\alpha$ (G308A) в патогенезе первичной открытоугольной глаукомы и оценка их прогностического значения для развития заболевания у резидентов Забайкальского края в этническом аспекте.

Материалы и методы

В работе с обследуемыми пациентами соблюдались этические принципы, предъявляемые Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki 1964, 2000 ред.).

Методом сплошной выборки в процесс исследования были включены 178 (90 женщин, 88 мужчин) больных первичной открытоугольной глаукомой (ПОУГ) русской национальности, а также 78 (39 женщин и 39 мужчин) больных бурятской национальности, проживающих на территории Забайкальского края.

В качестве контрольной группы обследовано 190 русских (99 женщин, 91 мужчина) и 80 резидентов бурятской национальности (42 женщины, 38 мужчин), не имеющих острых и хронических заболеваний глаз и соматической патологии, приводящей к вторичному поражению органа зрения.

Больные первичной открытоугольной глаукомой и здоровые резиденты прошли полное офтальмологическое обследование для подтверждения либо исключения первичной открытоугольной глаукомы.

Все больные ПОУГ имели характерные изменения диска зрительного нерва, открытый иридокорнеальный угол и типичные дефекты полей зрения.

Для молекулярно-генетического исследования и получения образцов ДНК использовался буквальный эпителий. Выделение ДНК проводилось с помощью набора «Минипреп», версия с магнитными частицами и «Силекс», использовались реактивы «Евроген», «Литех» (Москва). Применялись полиморфные маркеры, основанные на тестировании однонуклеотидных замен (SNPs). Анализ продуктов амплификации осуществлен методом электрофореза. Для проведения электрофореза использовался 2% агарозный гель с добавлением бромистого этидия.

Полученные данные обработаны статистическим методом с помощью пакетов программ Biostat, Statistica 6,0 (StatSoft Inc., США), с определением достоверности различий при достигнутом уровне значимости $p < 0,05$. Для сравнения частот и групп по качественному бинарному признаку применялся критерий χ^2 (Пирсона). Для измерения силы и направления связи между изучаемыми явлениями использовался коэффициент ранговой корреляции Спирмена.

Результаты и обсуждение

В результате проведенного анализа частоты генных мутаций $TNF\alpha$ (G308A) среди больных первичной открытоугольной глаукомой и относительно здоровых резидентов, проживающих на территории Забайкальского края, в группе русских пациентов, страдающих ПОУГ, выявлено: 5 патологических гомозигот (2,8%), 63 гетеро-

Резюме

Первичная открытоугольная глаукома (ПОУГ) представляет собой нейродегенеративную оптическую нейропатию, гибель клеток при которой происходит путем апоптоза. $TNF\alpha$ является потенциальным индуктором апоптоза. Целью работы явилось изучение частоты аллельных вариантов G308A гена $TNF\alpha$ у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой в русской и бурятской этнических группах и оценка прогностического значения полиморфизма $TNF\alpha$ для развития заболевания у резидентов Забайкальского края. Было обнаружено значительное различие в частоте встречаемости А и G аллельных вариантов у больных первичной открытоугольной глаукомой и здоровых индивидуумов среди русских резидентов и обследуемых бурятской национальности. Исследование показало, что G308A полиморфизм $TNF\alpha$ повышает риск развития ПОУГ и определяет тяжесть течения глаукомы у представителей русской и бурятской популяций.

Ключевые слова: апоптоз, глаукома, генетика, полиморфизм.

N.A. Logunov, A.I. Belousova, Yu.A. Vitkovsky,
N.N. Strambovskaia

THE PROAPOPTOTIC POLYMORPHISM $TNF\alpha$ (G308A) AS THE RISK FACTOR FOR THE DEVELOPMENT OF PRIMARY OPEN ANGLE GLAUCOMA IN THE ZABAIKALYE AREA

Chita State Medical Academy, Chita

Summary

Primary open angle glaucoma (POAG) is considered to be a neural degenerative optic neuropathy, in which cell death occurs by apoptosis. $TNF\alpha$ is a potent inducer of cell apoptosis. The aim of this study was to determine the allelic frequencies of $TNF\alpha$ codon 308 polymorphisms in POAG patients and healthy subjects and the association of G308A $TNF\alpha$ polymorphism with primary open angle glaucoma in the Russian and the Buryat population of the Zabaikalye Area. There were significant differences in the distribution of the polymorphism between the control group and the POAG patients in Russian and Buryat ethnic group. It was the difference of the A and G allelic frequencies between the POAG group and the healthy individuals. This research suggests that the G308A $TNF\alpha$ polymorphism contributes to the risk of POAG and determines the severity of glaucoma in the Russian and Buryats population.

Key words: apoptosis, glaucoma, genetics, polymorphism.

зиготы (35,4%), 110 нормальных гомозигот (61,8%). Частота аномальной аллели среди больных ПОУГ составила $q=0,18$, что значительно выше, чем среди здоровых резидентов, $q=0,04$ (χ^2 , $p < 0,01$), в то же время нормальная аллель менее распространена в группе больных глаукомой, $p=0,82$, по сравнению с контрольной группой, $p=0,96$ (χ^2 , $p < 0,05$). Из 68 больных ПОУГ с аномальными генами мужчины составили 35 чел. (51,5%), а женщины — 33 (48,5%). Интересно отметить, что из пяти аномальных гомозигот мужчин было четверо (80%), женщин — одна (20%), тогда как у здоровых мужчин гомозиготное состо-

Таблица 1

Частоты аллельных вариантов TNF α (G308A) среди больных ПОУГ и здоровых индивидуумов в различных этнических группах

Показатель	Русские		Буряты	
	больные ПОУГ	группа контроля	больные ПОУГ	группа контроля
Нормальный аллельный вариант (G-вариант)	0,82*	0,96	0,74*	0,92
Аномальный аллельный вариант (A-вариант)	0,18**	0,04	0,26**	0,08

Примечания. Достоверность различий между группами носителей мутаций условно здоровых и больных (χ^2 -тест); * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$.

яние патологической аллели встречается в 66,7% случаев (χ^2 , $p < 0,05$).

Из 85 пациентов, имеющих поражение обоих глаз, 52 чел. (61,2%) являются носителями аномального варианта TNF α , из них один обследуемый (1,2%) — в гомозиготном состоянии. Частота встречаемости аномальной аллели в группе больных с двусторонним поражением глаз составляет 0,38 ($q = 0,38$), что выше, чем в общей группе больных ПОУГ ($q = 0,18$) (χ^2 , $p < 0,05$).

Таким образом, среди пациентов моложе 80 лет преобладают лица — носители генетических аномалий TNF α , страдающих ПОУГ, в сравнении с условно здоровыми резидентами этого же возраста (χ^2 , $p < 0,05$) (табл. 1). В группе русских больных ПОУГ корреляционная связь между наличием аномальной аллели TNF α и наличием заболевания сильно выражена ($r = 0,80$; $0,7 < r < 0,9$, коэффициент ранговой корреляции Спирмена; чувствительность больше 0,99). Относительный риск развития первичной открытоугольной глаукомы в группе носителей патологического аллеля в 3,29 раза выше ($OR > 1$), чем среди лиц с нормальными аллельными вариантами. Абсолютный риск возникновения заболевания в группе носителей аномальных аллелей — 0,38, среди носителей нормальных аллелей — 0,12. Отношение шансов (ОШ) равно 4,72 (табл. 2).

В группе пациентов бурятской национальности, страдающих ПОУГ, распределение генотипов имеет следующий вид: 43 нормальные гомозиготы (55,2%), 27 гетерозигот (35,4%), 8 патологических гомозигот (9,4%). Частота аномальной аллели TNF α (G308A) среди больных ПОУГ: $q = 0,26$, что значительно выше, чем среди здоровых резидентов, $q = 0,08$, в то же время нормальная аллель менее распространена в группе больных глаукомой, $p = 0,74$, по сравнению с контрольной группой, $p = 0,92$ (χ^2 , $p < 0,05$) (табл. 1).

Из 35 больных ПОУГ с аномальными генами мужчины составили 22 чел. (62,8%), а женщины — 13 (37,2%). Интересно отметить, что из 8 патологических гомозигот мужчины составили 5 обследуемых (62,5%), женщины — 3 (37,5%), что отличается от группы здоровых резидентов, среди которых гомозиготное состояние аномальной аллели не выявлено ни в одном случае.

Следует отметить, что из 41 пациента, имеющего поражение обоих глаз, 22 чел. (53,7%) являются носителями патологического варианта TNF α (G308A), из них четверо обследуемых (9,8%) — в гомозиготном состоя-

Таблица 2

Абсолютный, относительный риск и отношение шансов возникновения ПОУГ у носителей нормальных и аномальных аллелей TNF α (G308A) в различных этнических группах

Этническая группа	Абс. риск	Относительный риск	Отношение шансов	
Русские	носители нормальной аллели	0,12	3,29	4,72
	носители патологической аллели	0,38		
Буряты	носители нормальной аллели	0,11	2,75	4,19
	носители патологической аллели	0,30		

нии. Частота встречаемости аномальной аллели в группе больных с двусторонним поражением глаз составляет 0,31 ($q = 0,31$), что несколько выше, чем в общей группе больных ПОУГ ($q = 0,26$) (χ^2 , $p < 0,05$).

В группе больных ПОУГ корреляционная связь между наличием аномальной аллели TNF α (G308A) и наличием заболевания сильно выражена ($r = 0,85$; $0,7 < r < 0,9$, чувствительность больше 0,95). Относительный риск вероятности развития первичной открытоугольной глаукомы в группе носителей патологического аллеля TNF α в 2,75 раза выше ($OR > 1$), чем среди лиц с нормальными аллельными вариантами. Абсолютный риск возникновения заболевания в группе носителей аномальных аллелей — 0,30, среди носителей нормальных аллелей — 0,11. Отношение шансов равно 4,19 (табл. 2).

Частоты аномальных аллельных вариантов TNF α (G308A) выше среди лиц бурятской национальности, чем среди русского населения Забайкальского края. В группе пациентов, страдающих первичной открытоугольной глаукомой, частота аномальных полиморфизмов также выше среди бурятских резидентов, что, вероятно, связано с большей распространенностью этого аллельного варианта в этнической группе в целом (χ^2 , $p < 0,05$).

Выводы

1. Распределение частот проапоптотических аллельных вариантов TNF α (G308A) у резидентов Забайкальского края имеет этнические особенности. Частота встречаемости TNF α (G308A) относительно выше среди лиц бурятской национальности, как в группе больных ПОУГ, так и здоровых лиц.

2. Больные первичной открытоугольной глаукомой в обеих этнических группах являются носителями проапоптотических полиморфизмов TNF α чаще, чем здоровые резиденты. Частота встречаемости неблагоприятных аллельных вариантов выше в группе больных ПОУГ бурятской национальности, что связано с высокой распространенностью проапоптотических аллелей среди бурятского населения в целом. Экспрессивность и пенетрантность проапоптотических полиморфизмов TNF α выше среди русского населения.

3. Риск развития первичной открытоугольной глаукомы выше у лиц — носителей проапоптотических аллельных вариантов генов TNF α в обеих этнических группах. Относительный риск развития первичной открытоугольной глаукомы выше у носителей проапоптотических ал-

тельных вариантов TNF α среди русских резидентов, в сравнении с лицами бурятской национальности.

4. Полиморфизм TNF α повышает риск развития первичной открытоугольной глаукомы как в русской, так и в бурятской этнической группе, влияет на тяжесть течения и скорость прогрессирования глаукоматозного процесса.

Л и т е р а т у р а

1. Алексеев В.Н., Мартынова Е.Б. Новые подходы к гипотензивной терапии первичной открытоугольной глаукомы // Клиническая офтальмология. - 2000. - С. 3-8.

2. Алексеев В.Н., Егоров Е.А., Мартынова Е.Б. О распределении уровней внутриглазного давления в нормальной популяции // Клиническая офтальмология. - 2001. - Т.1, №2. - С. 38-40.

3. Кириленко Ю.А., Березников А.И. Влияние состояния белоксинтезирующего аппарата организма на течение первичной открытоугольной глаукомы. - Курск, 2003. - 123 с.

4. Нестеров А.П. Глаукома. - М., 1995.

5. Нестеров А.П. Первичная открытоугольная глаукома, патогенез и принципы лечения // Клиническая офтальмология. - 2000. - Т. 1. - С. 4-5.

6. Нестеров А.П., Алексеев В.Н. Современные аспекты патогенеза глаукомной нейроретинопатии: мат-лы VI съезда офтальмологов России. - 2000. - Т. 1. - С. 178.

7. Denk P., Knorr M. In vitro effect of ascorbic acid on the proliferation of bovine scleral and Tenon's capsule fibroblasts // Eur. J. Ophthalmol. - 1998. - Vol. 8. - P. 37-41.

8. Grimbale R. Dietary lipids and the inflammatory response // Proc. Nutr. Soc. - 1998. - Vol. 57. - P. 535-542.

9. Eischen C.M., Kottke T.J., Martins L.M. et al. Comparison of apoptosis in wild-type and fas-resistant cells: chemotherapy - induced apoptosis is not dependent on fas/fasligand interactions // Blood. - 1997. - Vol. 90. - P. 935-943.

Координаты для связи с авторами: *Логунов Николай Анатольевич* — канд. мед. наук, ассистент кафедры офтальмологии ЧГМА, тел.: 8-914-506-94-93; *Белоусова Анастасия Ивановна* — ст. науч. сотр. НИИ медицинской экологии; тел.: 8-924-473-64-10, e-mail: aivbel@yandex.ru; *Витковский Юрий Антонович* — профессор, доктор мед. наук, зав. кафедрой нормальной физиологии ЧГМА, директор НИИ медицинской экологии, тел.: 8(3022)-32-16-23; *Страмбовская Наталья Николаевна* — канд. мед. наук, зав. кафедрой гистологии ЧГМА, тел.: 8-924-477-00-95.

