

СЕТЕВОЙ ПОДХОД К АНАЛИЗУ ЛОКУСОВ КОЛИЧЕСТВЕННЫХ ПРИЗНАКОВ ГЕНОВ ФАКТОРА НЕКРОЗА ОПУХОЛЕЙ ($TNF\alpha$ -863, $TNF\alpha$ -308, $TNF\alpha$ -238), ФАКТОРА РОСТА СОСУДИСТОГО ЭНДОТЕЛИЯ ($VEGF$ -2578, $VEGF$ +936) И МАТРИКСНЫХ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗ (MMP 2-1306, MMP 3-1171, MMP 9- 1569) ПРИ ВОЗРАСТНОЙ МАКУЛЯРНОЙ ДЕГЕНЕРАЦИИ

Шевченко А.В.¹, Прокофьев В.Ф.¹, Коненков В.И.¹, Черных В.В.²,
Еремина А.В.², Дудникова Л.В.², Кашкина Н.Ю.², Трунов А.Н.²

¹ ФГБНУ «Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии»,
г. Новосибирск, Россия

² ФГАУ «МНТК „Микрохирургия глаза“ им. акад. С.Н. Федорова» Министерства здравоохранения РФ,
Новосибирский филиал, г. Новосибирск, Россия

Резюме. Возрастная макулярная дегенерация – одно из самых распространенных мультифакториальных заболеваний глаз. Особенности полиморфизма фактора роста эндотелия сосудов совместно с матриксными металлопротеиназами и фактором некроза опухолей α могут влиять на развитие заболевания. Проведен анализ распределения частот генотипов регуляторных регионов генов $VEGF$ (rs 699947, rs 3025039), MMP 2 (rs 2438650), MMP 3 (rs 3025058), MMP 9 (rs 3918242), $TNF\alpha$ (rs1800630, rs1800629, rs 361525) и их комбинаций у пациентов с возрастной макулярной дегенерацией. Частоты генотипов $TNF\alpha$ (rs1800629) значительно различались между пациентами с макулярной дегенерацией и контрольной группой. При анализе комплексных генотипов выявлены шесть позитивно ассоциированных с развитием болезни комплексов $VEGF$ - MMP генов. В состав пяти из них входит минорный гомозиготный генотип $VEGF$ -2578AA. Совместный анализ полиморфизма генов $VEGF$ – $TNF\alpha$ показал наличие как позитивных, так и негативных комплексных генотипов. Максимально значимый уровень различий установлен при сравнительном анализе частоты комплексных генотипов, включающих в свой состав 8 полиморфных участков регуляторных областей всех исследуемых генов. В большинстве генетических комплексов, ассоциированных с развитием заболевания, выявлено наличие гомозиготных генотипов $TNF\alpha$ -863CC, гомозиготных вариантов MMP 2-1306 TT и MMP 9-1562CC в сочетании в генотипе этих же пациентов гомозиготного генотипа $VEGF$ +936CC. Можно предположить, что для пациентов с макулярной дегенерацией характерно наличие в геноме аллельных вариантов, предрасполагающих к развитию ангиогенеза, наряду с низким уровнем продукции провоспалитель-

Адрес для переписки:

Шевченко Алла Владимировна
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт
клинической и экспериментальной лимфологии»
630060, Россия, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2.
Тел./факс: 8 (952) 901-36-80.
E-mail: shalla64@mail.ru

Address for correspondence:

Shevchenko Alla V.
Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology
630060, Russian Federation, Novosibirsk, Timakova str., 2.
Phone/Fax: 7 (952) 901-36-80.
E-mail: shalla64@mail.ru

Образец цитирования:

А.В. Шевченко, В.Ф. Прокофьев, В.И. Коненков, В.В. Черных, А.В. Еремина, Л.В. Дудникова, Н.Ю. Кашкина, А.Н. Трунов «Сетевой подход к анализу локусов количественных признаков генов фактора некроза опухолей ($TNF\alpha$ -863, $TNF\alpha$ -308, $TNF\alpha$ -238), фактора роста сосудистого эндотелия ($VEGF$ -2578, $VEGF$ +936) и матриксных металлопротеиназ (MMP 2-1306, MMP 3-1171, MMP 9-1569) при возрастной макулярной дегенерации» // Медицинская иммунология, 2017. Т. 19, № 5. С. 537-546. doi: 10.15789/1563-0625-2017-5-537-546
© Шевченко А.В. и соавт., 2017

For citation:

A.V. Shevchenko, V.F. Prokofyev, V.I. Konenkov, V.V. Chernykh, A.V. Eremina, L.V. Dudnikova, N.Yu. Kashkina, A.N. Trunov "Network approach to analysis of quantitative trait loci for tumor necrosis factor ($TNF\alpha$ -863, $TNF\alpha$ -308, $TNF\alpha$ -238), vascular endothelial growth factor ($VEGF$ -2578, $VEGF$ +936) and matrix metalloproteinase (MMP 2-1306, MMP 3-1171, MMP 9-1569) genes in age-related macular degeneration", *Medical Immunology (Russia)/ Meditsinskaya Immunologiya*, 2017, Vol. 19, no. 5, pp. 537-546. doi: 10.15789/1563-0625-2017-5-537-546
DOI: 10.15789/1563-0625-2017-5-537-546

ных регуляторных факторов и ферментов, участвующих в разрушении межклеточного матрикса. Использование комплексных генетических факторов, продукты которых принимают участие в патологическом процессе и одновременно являются регуляторами продукции в отношении друг друга, имеет большую информативность при выявлении протективных и резистентных маркеров развития заболевания, чем одиночные генетические маркеры и могут быть использованы при скрининговых исследованиях.

Ключевые слова: возрастная макулярная дегенерация, полиморфизм *TNF*, полиморфизм *VEGF*, полиморфизм *MMP*, сетевой анализ

NETWORK APPROACH TO ANALYSIS OF QUANTITATIVE TRAIT LOCI FOR TUMOR NECROSIS FACTOR (*TNF α -863*, *TNF α -308*, *TNF α -238*), VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR (*VEGF-2578*, *VEGF+936*) AND MATRIX METALLOPROTEINASE (*MMP2-1306*, *MMP3-1171*, *MMP9-1569*) GENES IN AGE-RELATED MACULAR DEGENERATION

Shevchenko A.V.^a, Prokofyev V.F.^a, Konenkov V.I.^a, Chernykh V.V.^b, Eremina A.V.^b, Dudnikova L.V.^b, Kashkina N.Yu.^b, Trunov A.N.^b

^a Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology, Novosibirsk, Russian Federation

^b S. Fyodorov Intersectoral Research and Technology Eye Microsurgery Complex, Novosibirsk Branch, Novosibirsk, Russian Federation

Abstract. Age-related macular degeneration is one of the most widespread multifactorial eye diseases. Polymorphic functional alleles of vascular endothelial growth factor (VEGF) combined with matrix metalloproteinase (MMP) gene and tumor necrosis factor (TNF) gene variants may influence the development of disease. We have performed frequency analysis of their polymorphisms in regulatory regions of *VEGF* (rs 699947, rs 3025039), *MMP2* (rs 2438650), *MMP3* (rs 3025058), *MMP9* (rs 3918242), *TNF α* (rs1800630, rs1800629, rs 361525) genes, and their combinations in a group of patients with age-related macular degeneration (MD). Frequencies of *TNF α* (rs1800629) genotypes significantly differed for the MD patients and control group. Upon the combined genotype analysis, we have revealed six constellations of *VEGF-MMP* genes that were positively associated with the disease development. Five of them included minor homozygous genotype *VEGF-2578AA*. A combined analysis of *VEGF – TNF α* genes polymorphisms has shown presence of both positive and negative complex genotypes. The most significant differences have been detected by comparative analysis of the complex genotypes frequencies which included 8 polymorphic regulatory gene regions of all genes studied. In most genetic complexes associated with the disease development, homozygous *TNF α -863CC*, homozygous *MMP2-1306 TT*, and *MMP9-1562CC* genotypes have been detected, together with the combination of homozygous *VEGFA+936CC* genotype in the same patients. We can assume that harboring allelic variants, which may contribute to angiogenesis processes is typical for the genome of patients with macular degeneration, along with low-level production of pro-inflammatory regulatory factors and enzymes participating in degradation of extracellular matrix. Analysis of complex genetic factors, procing some factors taking part at the pathological process being the regulators of production for each other, is more informative when detecting protective and resistant markers of the disease development rather than single genetic markers, thus being useful for genomic screening.

Keywords: age-related macular degeneration, polymorphism *TNF*, *VEGF* polymorphism, *MMP* polymorphism, network analysis

Введение

Возрастная макулярная дегенерация (ВМД) — одно из самых распространенных мультифакториальных заболеваний глаз, являющееся основной причиной необратимого ухудшения центрального зрения в пожилом возрасте [28]. Атрофическая (сухая) форма ВМД может переходить в более тяжелую экссудативную (влажную) форму, которая часто является причиной слепоты. Для этого типа

ВМД характерно формирование хориоидальной неоваскулярной мембраны (ХНВМ), которая образована патологическими кровеносными сосудами, врастающими в слой сетчатки из сосудистой оболочки [8]. Факторы риска ВМД гетерогенны: ключевыми являются возраст, генетические факторы предрасположенности к заболеванию, целый ряд эпигенетических факторов [28]. Фактор роста эндотелия сосудов (VEGF) — важный фактор ангиогенеза, а повышенные concentra-

ции VEGF при ВМД предполагают его участие в формировании заболевания. Показаны высокие уровни VEGF в стекловидном теле у пациентов с влажным типом ВМД. Причем уровень VEGF белка в ряде исследований ассоциирован с однонуклеотидными заменами (SNPs) в промоторном и 3' нетранслируемом регионах гена [8]. Индуцируя формирование сосудов, усиливая пролиферацию и миграцию эндотелиоцитов, VEGF находится в тесной взаимосвязи с синтезом металлопротеиназ (MMP) – ферментов, необходимых для инвазии новообразованных сосудов в окружающие ткани [10]. Показано, что поддержание нормального экстрацеллюлярного матрикса (коллагенов I и IV типов) между эпителием клетчатки и мембраной Бруха происходит за счет регулирования активности металлопротеиназ MMP2, MMP3, MMP9. Причем уровень секреции матриксных металлопротеиназ у пациентов с ВМД и у здоровых различается [18]. Кроме того, экспрессия VEGF может регулироваться и другими факторами, например фактором некроза опухоли α (TNF α) [9].

На сегодняшний день исследование генетических маркеров при развитии ВМД и особенностей их взаимодействий имеет большое значение [13]. Механизм этих взаиморегуляций не до конца понятен, но основными мишенями исследований многие видят именно регуляторные 5' UTR/3' UTR регионы генов. Однако, несмотря на активные исследования полиморфизма *VEGF* и единичные на сегодняшний день исследования полиморфизма *MMP* и *TNF α* с развитием и характером течения ВМД, данные остаются противоречивыми [7, 17, 24]. Основные трудности в интерпретации имеющихся данных могут быть связаны со сложившимися подходами к генетическому анализу как к качественному признаку, работающему по двоичному принципу «да/нет» для того или иного полиморфного локуса. Очевидно, что здесь более применимы принципы анализа, для которого характерно полигенное или мультифакторное наследование. Это относится к наследованию характеристик фенотипа, за которые отвечают два или более гена, или взаимодействие последних с окружающей средой.

Исходя из этого, нами проведен анализ распределения частот генотипов регуляторных регионов генов фактора роста сосудистого эндотелия *VEGF-A2578C*, *VEGF+T936C*, генов матриксных металлопротеиназ *MMP2-C1306T*, *MMP3-5A 1171 6A*, *MMP9-C1569T*, гена фактора некроза опухолей *TNF α -C863A*, *TNF α -G308A*, *TNF α -G238A* и их комбинаций у пациентов с возрастной макулярной дегенерацией.

Материалы и методы

Пациенты

Было обследовано 202 пациента (404 глаза), прошедших диагностическое обследование на базе Новосибирского филиала ФГБУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» в 2013–2015 году. Все пациенты в зависимости от наличия ВМД были разделены на 2 группы. Основную группу составили 102 пациента (204 глаза). Критерием включения в основную группу пациентов являлось наличие диагноза ВМД и возраст старше 60 и менее 70 лет. Количество женщин в обследованной группе составило 82 человек, мужчин – 20 человек. Средний возраст пациентов – $64,298 \pm 0,409$ года. Группу сравнения составили 100 пациентов (200 глаз). Критерием включения в группу сравнения явилось отсутствие у обследуемых диагноза ВМД. Количество женщин в группе – 82, мужчин – 18 человек. Средний возраст – $63,449 \pm 0,369$ лет. Обе группы пациентов достоверно не различались по возрастным и половым характеристикам.

Критерием исключения для обеих групп являлось: наличие у пациентов острых и обострения хронических воспалительных заболеваний органа зрения, глаукомы, увеита различной этиологии, полной осложненной катаракты, отслойки сетчатки, рубцеоза радужки. Из исследования исключались пациенты с сахарным диабетом, аутоиммунными и опухолевыми процессами любой локализации. Диагноз ВМД выставлен на основании стандартного офтальмологического обследования, включающего визометрию, тонометрию, биомикроскопию, офтальмоскопию, периметрию, оптическую когерентную томографию макулярной области. В исследование включены пациенты с 3–4 категорией, соответственно классификации по AREDS. Исследование было одобрено комитетами по биомедицинской этике Новосибирского филиала ФГБУ «МНТК „Микрохирургия глаза“ им. акад. С.Н. Федорова» и Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии». У всех пациентов было получено информированное согласие на забор крови, а также использование данных исследования в научных целях.

Генотипирование

Генотипирование полиморфизмов промоторного региона генов *VEGF* –2578 (rs 699947), *MMP3*-1171 (rs 3025058), *MMP9*-1562 (rs 3918242), *TNF α -863* (rs1800630), *TNF α -308* (rs1800629), *TNF α -238* (rs 361525) осуществляли методом рестриктазного анализа продуктов амплификации (ПДРФ-анализ), с использованием специфичных праймеров [5, 6, 21, 26, 29] и эндонуклеаз рестрикции *Bgl II*, *TthI*, *SphI*, *BstBAI*, *Bsp19I*, *Msp I*

соответственно (СибЭнзим, г. Новосибирск). Электрофорез проводили в 2,5% агарозном геле.

SNP полиморфизм регуляторных регионов генов *VEGF+936* (rs 3025039), и *MMP2-1306* (rs 2438650) анализировали с помощью Real-Time ПЦР с использованием коммерческих тест-систем методом TaqMan зондов (Синтол, Россия) на амплификаторе «ДТ-96» (ДНК-Технология) согласно инструкции фирмы-производителя.

Статистический анализ

При статистическом анализе результатов исследований использовали такие показатели, как частота встречаемости генотипов, отношение шансов (OR) с расчетом 95% доверительного интервала (OR 95%CI). Расчет величины OR проводили по методу Вульфа–Холдейна [1]. Частоту встречаемости отдельных генотипов и их комбинаций определяли как процентное отношение индивидов, несущих генотип (комбинацию генотипов), к общему числу обследованных в группе по формуле: $f = n/N$, где n – количество раз встречаемости генотипа (комбинации), N – численность обследованных. Распределение генотипов по исследованным полиморфным локусам проверяли на соответствие равновесию Харди–Вайнберга [2]. Достоверность различий частот распределения изучаемых признаков в альтернативных группах определяли по критерию χ^2 с поправкой Йетса на непрерывность и двустороннему варианту точного метода Фишера для четырехпольных таблиц [3]. Межгрупповые различия по возрасту пациентов оценивали с помощью критерия Манна–Уитни (Statistica 6.1). Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

Нами исследовался полиморфизм регуляторных регионов гена *VEGF* в двух полиморфных позициях, трех генов матричных металлопротеиназ *MMP2-1306*, *MMP3-1171*, *MMP9-1562* и трех позиций промоторного региона гена *TNF α* : *TNF α -863*, *TNF α -308*, *TNF α -238* у пациентов с возрастной макулярной дегенерацией относительно здоровых аналогичного возраста. Частоты генотипов в сопоставляемых группах находятся в равновесии Харди–Вайнберга. Частоты генотипов *TNF α -308 AA* и *TNF α -308 GA* значимо различались между пациентами с ВМД и контрольной группой (OR = 0,22, P = 0,0287 и OR = 2,91 P = 0,0063 соответственно). Не выявлено достоверных различий при анализе частот отдельных генотипов генов *VEGF*, *MMP2*, *MMP3*, *MMP9*, полиморфных позиций *TNF α -863* и *TNF α -238* в оппозиционных группах (табл. 1).

При анализе комплексных генотипов выявлены только позитивно-ассоциированные с развитием ВМД комплексы *VEGF – MMP* генов с высоким уровнем специфичности. В состав пяти

из них входит минорный гомозиготный генотип *VEGF-2578AA*, в составе шестого – гетерозиготная форма этого генотипа (табл. 2). Максимальное значение отношения шансов развития заболевания при наличии у пациентов комплекса *VEGF-2578AA:VEGF+936CC:MMP2-1306CC:MMP3-1171 5A6A* (OR = 10,77; P = 0,0097). Чуть меньшее значение отношения шансов в комплексах *VEGF-2578CA:VEGF+936CT:MMP3-1171 5A5A* и *VEGF-2578AA:MMP3-1171 5A6A:MMP9-1562CT* (OR = 8,34; P = 0,0351). Совместный анализ полиморфизма генов *VEGF – TNF α* показал наличие как позитивных, так и негативных комплексных генотипов (табл. 3). Из четырех позитивно-ассоциированных с болезнью комплексов наибольшее значение отношения шансов развития заболевания при наличии в геноме пациента *TNF-308GA:VEGF-2578CA* и *TNF-308GA:TNF-238GG:VEGF-2578CA* (OR = 4,75; P = 0,0047 и OR = 4,09; P = 0,0142 соответственно). Наибольший протективный эффект показал сложный генотип *TNF-863CA:TNF-308GG:TNF-238GG:VEGF-2578CA:VEGF+936CC* (OR = 0,30; P = 0,0381).

Еще более значимый уровень различий установлен нами при сравнительном анализе частоты распространения комплексных генотипов, включающих в свой состав 8 полиморфных участков регуляторных областей всех исследуемых генов – *TNF α -VEGF-MMP2*, 3, 9. В таблице 4 представлена часть выявленных генотипов, уровень значимости достоверности которых менее 0,01. В большинстве комбинированных генетических комплексов, тесно ассоциированных с развитием ВМД, выявлено наличие гомозиготного генотипа *CC* в полиморфной позиции *-863* гена *TNF α* . Как правило, он сочетается с наличием в генотипе этих же пациентов гомозиготного генотипа *CC* гена *VEGF* в полиморфной позиции *+936*. Анализ аллельного полиморфизма генов металлопротеиназ показал наличие в составе позитивно-ассоциированных комплексных генотипов, гомозиготных вариантов *TT* и *CC* в полиморфных позициях *-1306* и *-1562* генов *MMP2* и *MMP9* соответственно.

Обсуждение

Фактор роста эндотелия сосудов, секретирующийся клетками ретинального пигментного эпителия, – один из важнейших регуляторов патологического ангиогенеза при ВМД, особенно при влажной форме [33]. Высказываются предположения о возможности влияния полиморфизма гена *VEGF* на развитие и течение заболевания, но данные многочисленных исследований в различных популяциях не однородны. По результатам большинства исследований, не выявлено ассоциированности с болезнью при анализе *VEGF-2578* промоторного региона гена [19]. Показанная ассоциированность *VEGF+936* позиции регуля-

ТАБЛИЦА 1. ЧАСТОТА АНАЛИЗИРУЕМЫХ ГЕНОТИПОВ У ПАЦИЕНТОВ С ВМД И В КОНТРОЛЬНОЙ ГРУППЕ

TABLE 1. FREQUENCY OF THE ASSAYED GENOTYPES IN PATIENTS WITH AMD AND CONTROL GROUP

Полиморфная позиция Polymorphic site	Генотип Genotype	Пациенты Patients N = 102 (%)	Здоровые Healthy persons N = 100 (%)	OR	OR 95%CI
VEGF-2578	AA	24 (23,54)	19 (19,00)	1,30	0,62-2,70
	AC	55 (53,92)	52 (52,00)	1,10	0,61-1,99
	CC	23 (22,54)	29 (29,00)	0,70	0,35-1,39
VEGF+936	CC	74 (72,55)	71 (71,00)	1,08	0,56-2,08
	CT	27 (26,47)	26 (26,00)	1,02	0,52-2,01
	TT	1 (0,98)	3 (3,00)	0,01	0,32-3,53
MMP2-1306	CC	53 (51,96)	54 (54,00)	0,94	0,52-1,70
	TC	31 (30,40)	35 (35,00)	0,73	0,38-1,42
	TT	18 (17,64)	11 (11,00)	1,67	0,77-3,65
MMP3-1171	5A5A	18 (17,65)	20 (20,00)	0,86	0,40-1,84
	5A6A	60 (58,82)	52 (52,00)	1,32	0,73-2,39
	6A6A	24 (23,53)	28 (28,00)	0,79	0,40-1,56
MMP9-1562	CC	70 (68,63)	65 (65,00)	1,18	0,63 –2,21
	CT	30 (29,41)	31 (31,00)	0,93	0,49-1,77
	TT	2 (1,96)	4 (4,00)	0,48	0,06-3,14
TNF α -238	AA	1 (0,98)	1 (1,00)	0,98	0,03-36,40
	GA	11 (10,78)	7 (7,00)	1,61	0,55-4,83
	GG	90 (88,24)	92 (92,00)	0,65	0,23-1,62
TNF α -308	AA	3 (2,94)	12 (12,00)	0,22*	0,05-0,88
	GA	29 (28,43)	12 (12,00)	2,91**	1,31-6,54
	GG	70 (68,63)	76 (76,00)	0,71	0,36-1,39
TNF α -863	AA	0 (0,00)	2 (2,00)	0,00	0,00-4,00
	CA	24 (23,53)	33 (33,00)	0,62	0,32-1,21
	CC	78 (76,47)	65 (65,00)	1,75	0,91-3,39

Примечание. * p = 0,0287; p = **0,0063; OR – отношение шансов; OR 95%CI – доверительный интервал для OR.

Note. OR, odds ratio; OR 95%CI, Confidence Interval for OR.

ТАБЛИЦА 2. ПОЗИТИВНО АССОЦИИРОВАННЫЕ С ВМД КОМПЛЕКСНЫЕ ГЕНОТИПЫ ФАКТОРА РОСТА ЭНДОТЕЛИЯ СОСУДОВ И МАТРИКСНЫХ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗ

TABLE 2. COMPOUND GENOTYPES OF VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR (VEGF) AND MATRIX METALLOPROTEINASES (MMP) POSITIVELY ASSOCIATED WITH AMD

Полиморфная позиция Polymorphic site	Генотип Genotype	Пациенты Patients N = 102 (%)	Здоровые Healthy persons N = 99 (%)	OR	OR 95%CI	P
VEGF-2578:MMP3-1171	AA-5A6A	18 (17,65)	7 (7,07)	2,82	1,12-7,08	0,0315
VEGF-2578:VEGF+936:MMP3-1171	CA-CT-5A5A	8 (7,84)	1 (1,01)	8,34	1,02-67,98	0,0351
VEGF-2578:VEGF+936:MMP3-1171	AA-CC-5A6A	15 (14,71)	4 (4,04)	4,09	1,31-12,81	0,0142
VEGF-2578:MMP2-1306:MMP3-1171	AA-CC-5A6A	11 (10,89)	3 (3,03)	3,91	1,06-14,48	0,0491
VEGF-2578:MMP3-1171:MMP9-1562	AA-5A6A-CT	8 (7,84)	1 (1,01)	8,34	1,02-67,98	0,0351
VEGF-2578:VEGF+936:MMP2-1306:MMP3-1171	AA-CC-CC-5A6A	10 (9,90)	1 (1,01)	10,77	1,35-85,80	0,0097

Примечание. OR – отношение шансов, OR 95%CI – доверительный интервал для OR, P – достоверность различий (двусторонний точный метод Фишера).

Note. OR, odds ratio; OR 95%CI, Confidence Interval for OR; P, p value (two-tailed Fisher Exact Test).

ТАБЛИЦА 3. ПОЗИТИВНО И НЕГАТИВНО-АССОЦИИРОВАННЫЕ С ВМД КОМПЛЕКСНЫЕ ГЕНОТИПЫ ФАКТОРА РОСТА ЭНДОТЕЛИЯ СОСУДОВ И ФАКТОРА НЕКРОЗА ОПУХОЛЕЙ

TABLE 3. COMPOUND VEGF AND TNF GENOTYPES POSITIVELY AND NEGATIVELY ASSOCIATED WITH AMD

Полиморфная позиция Polymorphic position	Генотип Genotype	Пациенты Patients N = 102 (%)	Здоровые Healthy persons N = 99 (%)	OR	OR 95%CI	P
<i>TNF-308:VEGF-2578</i>	GA-CA	17 (16,67)	4 (4,04)	4,75	1,54- 14,67	0,0047
<i>TNF-308:VEGF+936</i>	GA-CC	23 (22,55)	11 (11,00)	2,36	1,08- 5,14	0,0379
<i>TNF-863:TNF-308:VEGF-2578</i>	CC-GA-CA	13 (12,75)	4 (4,04)	3,47	1,09- 11,04	0,0402
<i>TNF-308:TNF-238:VEGF-2578</i>	GA-GG-CA	15 (14,71)	4 (4,04)	4,09	1,31- 12,81	0,0142
<i>TNF-308:VEGF-2578</i>	AA-CA	2 (1,96)	9 (9,09)	0,20	0,04- 0,95	0,0315
<i>TNF-308:TNF-238:VEGF-2578</i>	AA-GG-CA	2 (1,96)	9 (9,09)	0,20	0,04- 0,95	0,0315
<i>TNF-863:TNF-308:VEGF-2578:VEGF+936</i>	CA-GG-CA-CC	4 (3,92)	13 (13,13)	0,27	0,08- 0,86	0,0226
<i>TNF-863:TNF-308:TNF-238:VEGF-2578:VEGF+936</i>	CA-GG-GG-CA-CC	4 (3,92)	12 (12,12)	0,30	0,09- 0,95	0,0381

Примечание. OR – отношение шансов, OR 95%CI – доверительный интервал для OR, P – достоверность различий (двусторонний точный метод Фишера).

Note. OR, odds ratio; OR 95%CI, Confidence Interval for OR; P, p value (two-tailed Fisher Exact Test).

торного региона гена с влажной формой ВМД для китайской популяции [22] не подтверждается другими исследованиями в этой же популяции и не сохраняется для европейских популяций [11, 12, 23, 31]. Эти данные подтверждаются и результатами исследования в нашей группе пациентов. Единичные работы, посвященные исследованию полиморфизма *MMP* и *TNFα* у пациентов с ВМД, показывают отсутствие прямой ассоциированности полиморфизма этих генов с развитием заболевания [7, 24, 27, 35]. Из единичных полиморфных позиций только для *TNFα-308* показана ассоциированность с патологией в нашей группе пациентов, что может быть связано как с популяционными особенностями, так и со сложностью патогенетических механизмов развития заболевания [4].

Учитывая сложность механизмов развития болезни, влияние сетевых факторов, включая генные сети, мы провели анализ сложных генотипов в анализируемых нами группах. В составе пяти из шести выявленных позитивно-ассоциированных с ВМД генотипов *VEGF-MMP* присутствует минорный гомозиготный генотип *VEGF-2578AA*. Установлен факт более высокого уровня продукции фактора роста сосудистого эндотелия клетками у лиц, в геноме которых присутствовал аллель *C* в полиморфной позиции – 2578 [32]. Однако, в исследованиях Nabibi I. показано, что

полиморфизм *VEGF-2578* не коррелирует с сывороточным уровнем *VEGF* при ВМД. При этом гомозиготный генотип *VEGF+936CC* связан с более высоким уровнем белка, чем *VEGF+936CT* и *TT* генотипы при заболевании [14]. В нашей группе именно генотип дикого типа *VEGF+936CC* выявляется в составе комплекса с максимальным значением отношения шансов развития ВМД *VEGF-2578AA:VEGF+936CC:MMP2-1306CC:MMP3-11715A6A*. В составе этого же комплекса выявляется гомозиготный генотип *MMP2-1306CC*. Ortak H. предположил, что *MMP2C-1306T* промоторный полиморфизм вряд ли играет существенную роль в риске развития ВМД [27]. В то же время есть данные, что частота *CC* и *CT* генотипов выше у пациентов с ВМД моложе 65 лет, чем у здоровых [25]. Можно предположить, что ассоциированность сложных генотипов с высокими значениями отношения шансов развития ВМД реализуется именно за счет сетевого синергизма, несмотря на то, что в качестве мономаркеров в различных исследованиях роль этих полиморфных позиций сомнительна. Это касается и комплексов *VEGF-TNFα*. Переход к одновременному анализу полиморфизма регуляторных участков генов всей сети кандидатных генов привел к значительному повышению их информационной значимости. Например, представленный в таблице 4 генетический комплекс,

ТАБЛИЦА 4. ПОЗИТИВНО- И НЕГАТИВНО-АССОЦИИРОВАННЫЕ С ВМД КОМПЛЕКСНЫЕ ГЕНОТИПЫ ФАКТОРА РОСТА ЭНДОТЕЛИЯ СОСУДОВ, ФАКТОРА НЕКРОЗА ОПУХОЛЕЙ, МАТРИКСНЫХ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗ

TABLE 4. COMPOUND GENOTYPES OF VEGF, TNF AND MMP SHOWING POSITIVE AND NEGATIVE ASSOCIATION WITH AMD

Полиморфная позиция Polymorphic sites	Генотип Genotype	Пациенты Patients N = 102 (%)	Здоровые Healthy persons N = 99 (%)	OR	OR 95%CI	P
TNF-863:VEGF-2578:MMP2-1306:MMP9-1562	CC-CA-TT-CC	8 (7,92)	0 (0,00)	18,09	1,03- 317,85	0,0068
TNF-863:VEGF-2578:VEGF+936:MMP2-1306:MMP9-1562	CC-CA-CC-TT-CC	8 (7,92)	0 (0,00)	18,09	1,03- 317,85	0,0068
TNF-863:VEGF+936:MMP2-1306:MMP9-1562	CC-CC-TT-CC	13 (12,87)	1 (1,00)	14,63	1,87- 114,08	0,0013
TNF-863:TNF-238:VEGF+936:MMP2-1306:MMP9-1562	CC-GG-CC-TT-CC	12 (11,88)	1 (1,00)	13,35	1,70- 104,73	0,0025
TNF-308:VEGF+936:MMP2-1306:MMP3-1171	GA-CC-CC-56	10 (9,90)	1 (1,00)	10,88	1,37-86,67	0,0097
TNF-863:VEGF-2578:VEGF+936:MMP3-1171:MMP9-1562	CC-CA-CC-56-CC	18 (17,65)	3 (3,03)	6,86	1,95-24,10	0,0008
TNF-863:VEGF+936:MMP2-1306	CC-CC-TT	16 (15,84)	3 (3,00)	6,09	1,71-21,61	0,0029
TNF-863:TNF-238:VEGF-2578:VEGF+936:MMP3-1171:MMP9-1562	CC-GG-CA-CC-56-CC	16 (15,69)	3 (3,03)	5,95	1,68-21,14	0,0029
TNF-863:TNF-308:VEGF+936:MMP3-1171	CC-GA-CC-56	15 (14,71)	3 (3,00)	5,57	1,56-19,91	0,0053
TNF-308:VEGF-2578:MMP9-1562	GA-CA-CC	15 (14,71)	3 (3,03)	5,52	1,54-19,71	0,0053
TNF-863:TNF-238:VEGF+936:MMP2-1306	CC-GG-CC-TT	14 (13,86)	3 (3,00)	5,20	1,45-18,72	0,0094
TNF-308:VEGF+936:MMP3-1171	GA-CC-56	18 (17,65)	4 (4,00)	5,14	1,67-15,80	0,0026
TNF-308:TNF-238:VEGF-2578:MMP9-1562	GA-GG-CA-CC	14 (13,73)	3 (3,03)	5,09	1,42-18,31	0,0095
TNF-863:VEGF+936:MMP3-1171:MMP9-1562	CC-CC-56-CC	28 (27,45)	11 (11,00)	3,06	1,43-6,56	0,0040
TNF-863:TNF-308:VEGF-2578:VEGF+936:MMP3-1171	CA-GG-CA-CC-56	2 (0,98)	11 (10,10)	0,09	0,01-0,70	0,0095
TNF-863:TNF-308:TNF-238:VEGF-2578:VEGF+936:MMP3-1171	CA-GG-GG-CA-CC-56	2 (0,98)	11 (9,09)	0,10	0,01-0,80	0,0095
TNF-238:VEGF-2578:MMP3-1171:MMP9-1562	GG-CA-56-CT	2 (1,96)	12 (12,12)	0,15	0,03-0,67	0,0051
TNF-863:TNF-308:VEGF-2578:MMP3-1171	CA-GG-CA-56	1 (1,96)	9 (11,11)	0,16	0,03-0,74	0,0090
TNF-863:VEGF-2578:VEGF+936:MMP3-1171	CA-CA-CC-56	1 (1,96)	10 (11,11)	0,16	0,03-0,74	0,0046

Примечание. OR – отношение шансов; OR 95%CI – доверительный интервал для OR; P – достоверность различий (двусторонний точный метод Фишера).
Note. OR, odds ratio; OR 95%CI, Confidence interval for OR; P, p value (two-tailed Fisher Exact Test).

содержащий информацию о наличии в геноме пациента гомозиготного варианта *CC* в позиции -863 гена *TNFA*, ассоциированного с более низким уровнем продукции самого фактора некроза опухоли [34], гомозиготных вариантов *TT* и *CC* в позициях -1306 и -1562 генов *MMP2* и *MMP9* соответственно, также ассоциированных с более низкой продукцией самих ферментов [20, 30] и гомозиготного варианта *CC* в позиции $+963$ гена *VEGF*, напротив, ассоциированного с более высоким уровнем продукции фактора роста сосудистого эндотелия [14], не только свидетельствует о генетической предрасположенности индивида к высокому уровню базовой продукции фактора роста сосудистого эндотелия в сочетании с низким уровнем продукции фактора некроза опухолей и металлопротеиназ 2 и 9, но и характеризуется высокоинформативными характеристиками. Так, полное отсутствие этого генотипа в контрольной группе приводит к величине отношения шансов $OR = 18,09$; $p = 0,006$. Как видно из таблицы, для пациентов с ВМД характерно наличие в геноме тех аллельных вариантов, которые предрасполагают к развитию ангиогенеза, наряду с низким уровнем продукции провоспалительных регуляторных факторов и ферментов, участвующих в разрушении межклеточного матрикса при ремоделировании тканей.

Закономерное выявление в составе комплексных прогностически значимых генетических признаков гомозиготных генотипов *VEGF*, ассоциированных с высоким уровнем продукции этого фактора роста сосудов ($+936$ *CC*), вероятно связано с формированием хориоидальной неова-

скулярной мембраны при ВМД, представленной кровеносными сосудами в слое сетчатки глаза. Другими словами, в этом случае мы имеем дело с очевидно высокой степенью реализации факторов генетической предрасположенности к развитию аутологических процессов в глазу, с его клиническими фенотипическими проявлениями. Наличие в составе этих генетических комплексов аллелей гена *TNFA*, ассоциированных с низким уровнем экспрессии и продукции фактора некроза опухолей, отражает, вероятно, конкурентный характер сетевых взаимоотношений между локусами количественных признаков сцепленных с генами *VEGF* и *TNFA*. Этот вывод находит свое подтверждение в данных о способности TNF ингибировать продукцию VEGF в клеточных культурах [16]. Схожие закономерности можно отнести и к взаимоотношениям генов *VEGF*, группы генов *MMP* и их белковых продуктов, находящихся как в прямых, так и обратных связях [15].

На наш взгляд, представленные данные убедительно свидетельствуют о том, что использование комплексных генетических факторов, продукты которых принимают участие в патологическом процессе, с одной стороны, и являются регуляторами продукции в отношении друг друга, с другой стороны, имеет большую информативность при выявлении протективных и резистентных маркеров развития заболевания, чем одиночные генетические маркеры и могут быть использованы при скрининговых исследованиях. Кроме того, знания о сетевых взаимодействиях играют несомненную роль в понимании терапевтических эффектов анти-VEGF-препаратов.

Список литературы / References

1. Бабич П.Н., Чубенко А.В., Лапач С.Н. Применение современных статистических методов в практике клинических исследований. Сообщение третье. Отношение шансов: понятия, вычисление и интерпретация // Украинский медицинский журнал, 2005. Т. 46, № 2. С. 113-119. [Babich P.N., Chubenko A.V., Lapach S.N. Application of modern statistical methods in clinical trials. Part 3. Odds ratio: concept, computation and interpretation. *Ukrainskiy meditsinskiy zhurnal = Ukrainian Medical Journal*, 2005, Vol. 46, no. 2, pp. 113-119. (In Russ.)]
2. Вейр Б. Анализ генетических данных. Дискретные генетические признаки. Пер. с англ. М.: Мир, 1995. 400 с. [Weir B.S. Genetic Data Analysis II: Methods for Discrete Population Genetic Data. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts]. Moscow: World, 1995. 400 p.
3. Гланц С. Медико-биологическая статистика. Пер. с англ. М.: Практика, 1998. 459 с. [Glantz S.A. Primer of Biostatistics]. Mcgraw-Hill (Tx); 4th edition. 1997. 473 p.
4. Ambati J., Atkinson J.P., Gelfand B.D. Immunology of age-related macular degeneration. *Nat. Rev. Immunol.*, 2013, Vol. 13, no. 6, pp. 438-451.
5. Asghar T., Yoshida S., Kennedy S., Negoro K., Zhuo W., Hamana S., Motoyama S., Nakago S., Barlow D., Maruo T. The tumor necrosis factor- α promoter-1031C polymorphism is associated with decreased risk of endometriosis in a Japanese population. *Human Reproduction*, 2004, Vol. 19, no. 11, pp. 2509-2514.
6. Banyasz I., Szabo S., Bokodi G., Vannay A., Vasarhelyi B., Szabo A., Tulassay T., Rigo J. Jr. Genetic polymorphisms of vascular endothelial growth factor in severe preeclampsia. *Mol. Hum. Reprod.*, 2006, Vol. 12, pp. 233-236.
7. Bonyadi M.H.J., Bonyadi M., Ahmadi H., Fotuhi N., Shoeibi N., Saadat S., Yagubi Z., Tumor Necrosis Factor Gene Polymorphisms in Advanced Non-exudative Age-related Macular Degeneration. *Journal of Ophthalmic and Vision Research*, 2015, Vol. 10, no. 2, pp. 155-159.
8. Bulgu Y., Cetin G.O., Caner V., Cetin E.N., Yaylali V., Yildirim C. Vascular endothelial growth factor gene polymorphisms in age-related macular degeneration in a Turkish population. *International Journal of Ophthalmology*, 2014, Vol. 7, no. 5, pp. 773-777.

9. Clauss M., Sunderkötter C., Sveinbjörnsson B., Hippenstiel S., Willuweit A., Marino M., Haas E., Seljelid R., Scheurich P., Suttorp N., Grell M., Risau W. A permissive role for tumor necrosis factor in vascular endothelial growth factor-induced vascular permeability. *Blood*, 2001, Vol. 97, pp. 1321-1329.
10. Funahashi Y., Shawber C., Sharma A., Kanamaru E., Choi Y.K., Kitajewski J. Notch modulates VEGF action in endothelial cells by inducing matrix metalloprotease activity. *Vasc. Cell.*, 2011, Vol. 3, p. 2. doi: 10.1186/2045-824X-3-2
11. Galan A., Ferlin A., Caretti L., Buson G., Sato G., Frigo A.C., Foresta C. Association of age-related macular degeneration with polymorphisms in vascular endothelial growth factor and its receptor. *Ophthalmology*, 2010, Vol. 117, no. 9, pp. 1769-1774.
12. Gonçalves F.T.I., Cezario S.M., Calastri M.C.J., Oliveira C.I.F., Souza D.R.S., Pinhel M.A.S., Cotrim C.C., Jorge R., Siqueira R.C. Influence of VEGF-C936T genetic variant on age-related macular degeneration. *Arq. Bras. Oftalmol.*, 2015, Vol. 78, no. 5, pp. 290-294.
13. Gorin M.B. Genetic insights into age-related macular degeneration: controversies addressing risk, causality, and therapeutics. *Mol. Aspects Med.*, 2012, Vol. 33, no. 4, pp. 467-486.
14. Habibi I., Sfar I., Chebil A., Kort F., Bouraoui R., Jendoubi-Ayed S., Makhlof M., Abdallah T.B., Matri L.E., Gorgi Y. Vascular endothelial growth factor genetic polymorphisms and susceptibility to age-related macular degeneration in Tunisian population. *Biomarker Research*, 2014, Vol. 2, no. 15.
15. Hollborn M., Stathopoulos C., Steffen A., Wiedemann P., Kohen L., Bringmann A. Positive feedback regulation between MMP-9 and VEGF in human RPE cells. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 2007, Vol. 48, no. 9, pp. 4360-4367.
16. Honorati M.C., Cattini L., Facchini A. IL-17, IL-1beta and TNF-alpha stimulate VEGF production by dedifferentiated chondrocytes. *Osteoarthritis Cartilage.*, 2004, Vol. 12, no. 9, pp. 683-691.
17. Huang C., Xu Y., Li X., Wang W. Vascular endothelial growth factor A polymorphisms and age-related macular degeneration: a systematic review and meta-analysis. *Molecular Vision*, 2013, Vol. 19, pp. 1211-1221.
18. Hussain A.A., Lee Y., Zhang J.-J., Marshall J. Disturbed Matrix Metalloproteinase Activity of Bruch's Membrane in Age-Related Macular Degeneration. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 2011, Vol. 52, no. 7, pp. 4459-4466.
19. Kepez Y.B., Ozdek S., Ergun M.A., Ergun S., Yaylacioglu T.F., Elbeg S. CFH Y402H and VEGF Polymorphisms and Anti-VEGF Treatment Response in Exudative Age-Related Macular Degeneration. *Ophthalmic Res.*, 2016, Vol. 56, pp. 132-138.
20. Lamblin N., Bauters Ch., Hermant X., Lablanche J.M., Helbecque N., Amouyel P. Polymorphisms in the Promoter Regions of MMP-2, MMP-3, MMP-9 and MMP-12 Genes as Determinants of Aneurysmal Coronary Artery Disease. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 2002, Vol. 40, no. 1, pp. 43-48.
21. Li H.Q., Li Z., Liu Y., Li J.H., Dong J.Q., Gao J.R., Gou C.Y., Li H. Association of polymorphism of tumor necrosis factor-alpha gene promoter region with outcome of hepatitis B virus infection. *World J. Gastroenterol.*, 2005, Vol. 11, no. 33, pp. 5213-5217.
22. Lin J.M., Wan L., Tsai Y.Y., Lin H.J., Tsai Y., Lee C.C., Tsai C.H., Tseng S.H., Tsai F.J. Vascular endothelial growth factor gene polymorphisms in age-related macular degeneration. *Am. J. Ophthalmol.*, 2008, Vol. 145, pp. 1045-1051.
23. Liu Y., Hou S., Lang W., Dai D., Wang Z., Ji X., Li K., Zhang X., Zou Y., Wang J. Roles of three common VEGF polymorphisms in the risk of age-related macular degeneration. *Genet. Test. Mol. Biomarkers*, 2014, Vol. 18, no. 4, pp. 245-252.
24. Liutkeviciene R., Lesauskaite V., Sinkunaite-Marsalkiene G., Zaliuniene D., Zaliaduonyte-Peksiene D., Mizariene V., Gustiene O., Jasinskas V., Jariene G., Tamosiunas A. The Role of Matrix Metalloproteinases Polymorphisms in Age-Related Macular Degeneration. *Ophthalmic Genet.*, 2015, Vol. 36, no. 2, pp. 149-155.
25. Liutkeviciene R., Lesauskaite V., Zaliaduonyte-Peksiene D., Sinkunaite-Marsalkiene G., Zaliuniene D., Mizariene V., Gustiene O., Jasinskas V., Tamosiunas A. Role of MMP-2 (-1306C/T) Polymorphism in Age-Related Macular Degeneration. *Ophthalmic Genetics*, 2016, Vol. 37, no. 2, pp. 170-176.
26. Okamoto K., Mimura K., Murawak Y., Yuasa I. Association of functional gene polymorphisms of matrix metalloproteinase MMP-1, MMP-3 and MMP-9 with the progression of chronic liver disease. *J. Gastr. Hepatol*, 2005, Vol. 20, no. 7, pp. 1102-1108.
27. Ortak H., Demir S., Ateş O., Benli İ., Sogut E., Sahin M. The Role of MMP2 (-1306C>T) and TIMP2 (-418 G>C) Promoter Variants in Age-related Macular Degeneration. *Ophthalmic Genetics*, 2013, Vol. 34, no. 4, pp. 217-222.
28. Parmeggiani F., Romano M.R., Costagliola C., Semeraro F., Incorvaia C., D'Angelo S., Perri P., De Palma P., De Nadai K., Sebastiani A. Mechanism of inflammation in age-related macular degeneration. *Mediators Inflamm.*, 2012, Vol. 2012, Article ID 546786, 16 p.
29. Patino-Garcia A., Sotillo-Pineiro E., Modesto C., Sierrasesumaga L. Screening of the Tumor Necrosis Factor-Alpha gene Promoter Polymorphisms by PCR-DGGE analysis. *Mutation Research Genomics*, 1999, Vol. 406, no. 2, pp. 121-125.
30. Pollanen P., Lehtimäki T., Mikkelsen J., Ilveskoski E., Kunnas T., Perola M., Penttilä A., Mattila K.M., Nikkari S.T., Syrjäkoski K., Karhunen P.J. Matrix metalloproteinase 3 and 9 gene promoter polymorphisms: joint action of two loci as a risk factor for coronary artery complicated plaques. *Atherosclerosis*, 2005, Vol. 180, no. 1, pp. 73-78.
31. Qu Y., Dai H., Zhou F., Zhang X., Xu X., Bi H., Pan X., Wang H., Jiang H., Yin N., Dang G. Vascular endothelial growth factor gene polymorphisms and risk of neovascular age-related macular degeneration in a Chinese cohort. *Ophthalmic Res.*, 2011, Vol. 45, no.3, pp. 142-148.

32. Shahbazi M., Fryer A.A., Pravica V., Brogan I.J., Ramsay H.M., Hutchinson I.V., Harden P.N. Vascular endothelial growth factor gene polymorphisms are associated with acute renal allograft rejection. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 2002, Vol. 13, no. 1, pp. 260-264.

33. Tatar O., Kaiserling E., Adam A., Gelisken F., Shinoda K., Volker M., Lafaut B.A., Bartz-Schmidt K.U., Grisanti S. Consequences of verteporfin photodynamic therapy on choroidal neovascular membranes. *Arch. Ophthalmol.*, 2006, Vol. 124, no. 6, pp. 815-823.

34. Udalova I.A., Richardson A., Denys A., Smith C., Ackerman H., Foxwell B., Kwiatkowski D. Functional Consequences of a Polymorphism Affecting NF- κ B p50-p50 Binding to the TNF Promoter Region. *Molecular and Cellular Biology*, 2000, Vol. 20, no. 24, pp. 9113-9119.

35. Wan L., Lin H.J., Tsai Y., Lee C.C., Tsai C.H., Tsai F.J., Tsai Y.Y., Lin J.M. Tumor necrosis factor- α gene polymorphisms in age-related macular degeneration. *Retina*, 2010, Vol. 30, no. 10, pp. 1595-1600.

Авторы:

Шевченко А.В. — д.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории клинической иммуногенетики ФГБНУ «Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии», г. Новосибирск, Россия

Прокофьев В.Ф. — к.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории клинической иммуногенетики ФГБНУ «Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии», г. Новосибирск, Россия

Коненков В.И. — д.м.н., профессор, академик РАМН, руководитель лаборатории клинической иммуногенетики ФГБНУ «Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии», г. Новосибирск, Россия

Черных В.В. — д.м.н., профессор, директор Новосибирского филиала ФГАУ «МНТК „Микрохирургия глаза“ им. акад. С.Н. Федорова» Министерства здравоохранения РФ, Новосибирский филиал, г. Новосибирск, Россия

Еремينا А.В. — врач-офтальмолог, Новосибирский филиал ФГАУ «МНТК „Микрохирургия глаза“ им. акад. С.Н. Федорова» Министерства здравоохранения РФ, Новосибирский филиал, г. Новосибирск, Россия

Дудникова Л.В. — врач-офтальмолог, Новосибирский филиал ФГАУ «МНТК „Микрохирургия глаза“ им. акад. С.Н. Федорова» Министерства здравоохранения РФ, Новосибирский филиал, г. Новосибирск, Россия

Кашкина Н.Ю. — врач-офтальмолог, Новосибирский филиал ФГАУ «МНТК „Микрохирургия глаза“ им. акад. С.Н. Федорова» Министерства здравоохранения РФ, Новосибирский филиал, г. Новосибирск, Россия

Трунов А.Н. — д.м.н., профессор, заместитель директора по научной работе Новосибирского филиала ФГАУ «МНТК „Микрохирургия глаза“ им. акад. С.Н. Федорова» Министерства здравоохранения РФ, Новосибирский филиал, г. Новосибирск, Россия

Authors:

Shevchenko A.V., PhD, MD (Biology), Leading Research Associate, Laboratory for Clinical Immunogenetics, Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology, Novosibirsk, Russian Federation

Prokofyev V.F., PhD (Medicine), Leading Research Associate Laboratory for Clinical Immunogenetics, Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology, Novosibirsk, Russian Federation

Konenkov V.I., PhD, MD (Medicine), Full Member, Russian Academy of Medical Sciences, Head, Laboratory for Clinical Immunogenetics, Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology, Novosibirsk, Russian Federation

Chernykh V.V., PhD, MD (Medicine), Professor, Director, S. Fyodorov Intersectoral Research and Technology Eye Microsurgery Complex, Novosibirsk Branch, Novosibirsk, Russian Federation

Eremina A.V., Ophthalmologist, S. Fyodorov Intersectoral Research and Technology Eye Microsurgery Complex, Novosibirsk Branch, Novosibirsk, Russian Federation

Dudnikova L.V., Ophthalmologist, S. Fyodorov Intersectoral Research and Technology Eye Microsurgery Complex, Novosibirsk Branch, Novosibirsk, Russian Federation

Kashkina N.Yu., Ophthalmologist, S. Fyodorov Intersectoral Research and Technology Eye Microsurgery Complex, Novosibirsk Branch, Novosibirsk, Russian Federation

Trunov A.N., PhD, MD (Medicine), Professor, Deputy Director for Research, S. Fyodorov Intersectoral Research and Technology Eye Microsurgery Complex, Novosibirsk Branch, Novosibirsk, Russian Federation