

ЭКСПРЕССИЯ МАТРИКСНЫХ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗ В СЛЕЗЕ И ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА ФАКТОРА КОМПЛЕМЕНТА Н (CFH) У БОЛЬНЫХ ПЕРВИЧНОЙ ОТКРЫТОУГОЛЬНОЙ ГЛАУКОМой

Соколов В.А.¹, Лихванцева В.Г.², Леванова О.Н.¹, Никифоров А.А.¹,
Выгодин В.А.³

¹ ФГБУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова»
Министерства здравоохранения РФ, г. Рязань, Россия

² ФГБОУ ДПО «Институт повышения квалификации Федерального медико-биологического агентства»
России, Москва, Россия

³ ФГБУ «Государственный научно-исследовательский центр профилактической медицины» Министерства
здравоохранения РФ, Москва, Россия

Резюме. Цель — изучить продукцию матриксных металлопротеиназы-2 и -9 в слезной жидкости и полиморфизм гена CFH в популяции больных первичной открытоугольной глаукомой.

Исследование проведено на 120 глазах больных первичной открытоугольной глаукомой (ПОУГ), из них 34 глаза с начальной стадией, 35 глаз — с развитой, 35 — с далекозашедшей стадией и 16 глаз — с терминальной стадией. Контролем служили 25 пациентов без глаукомы. Объектом биохимического исследования служила слезная жидкость. Уровни ММП-2 и ММП-9 определяли «сэндвич»-методом твердофазного иммуноферментного анализа на обоих глазах.

Материалом генетического исследования служила венозная кровь. Анализировали геномную ДНК человека, выделенную из лейкоцитов цельной крови. Применяли метод ПЦР.

Результаты исследования анализировали с помощью пакета прикладных статистических программ SAS (Statistical Analysis System, SAS Institute Inc., США) с применением стандартных алгоритмов вариационной статистики, включая корреляционный анализ и анализ таблиц сопряженности, а также различные типы межгруппового сравнения распределений изучаемых показателей. Установлено, что среднегрупповые показатели металлопротеиназ-2 и -9 увеличиваются по мере прогрессирования заболевания. Проведен корреляционный анализ сопряженности связи между морфометрическими, клинико-функциональными параметрами и количественными показателями ММП-2 и ММП-9. Изучена распространенность полиморфизма гена CFH с учетом стадии развития глаукомы.

Исследование представило доказательства взаимосвязи продукции ММП-2 и ММП-9 с полиморфизмом гена CFH, а также расширило список генетических мутаций, принимающих возможное участие в патогенезе ПОУГ.

Ключевые слова: первичная открытоугольная глаукома, полиморфизм гена CFH, фактор комплемента Н, матриксные металлопротеиназы

Адрес для переписки:

Леванова Ольга Николаевна
ФГБУ ВО «Рязанский государственный медицинский
университет им. академика И.П. Павлова»
Министерства здравоохранения РФ
390026, Россия, г. Рязань, ул. 2-я Линия, 3/40.
Тел.: 8 (920) 631-86-71.
E-mail: Levanova.olga2013@yandex.ru

Address for correspondence:

Levanova Olga N.
I.P. Pavlov Ryazan State Medical University
390026, Russian Federation, Ryazan, 2 Line str., 3, apt 40.
Phone: 7 (920) 631-86-71.
E-mail: Levanova.olga2013@yandex.ru

Образец цитирования:

В.А. Соколов, В.Г. Лихванцева, О.Н. Леванова,
А.А. Никифоров, В.А. Выгодин «Экспрессия матриксных
металлопротеиназ в слезе и полиморфизм гена
фактора комплемента Н (CFH) у больных первичной
открытоугольной глаукомой» // Медицинская
иммунология, 2017. Т. 19, № 5. С. 547-556.
doi: 10.15789/1563-0625-2017-5-547-556

© Соколов В.А. и соавт., 2017

For citation:

V.A. Sokolov, V.G. Likhvantseva, O.N. Levanova,
A.A. Nikiforov, V.A. Vygodin "Expression of matrix
metalloproteinases in lacrimal fluid and gene polymorphism of
complement factor H (CFH) in patients with primary open-angle
glaucoma", Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya
Immunologiya, 2017, Vol. 19, no. 5, pp. 547-556.
doi: 10.15789/1563-0625-2017-5-547-556

DOI: 10.15789/1563-0625-2017-5-547-556

EXPRESSION OF MATRIX METALLOPROTEINASES IN LACRIMAL FLUID AND GENE POLYMORPHISM OF COMPLEMENT FACTOR H (CFH) IN PATIENTS WITH PRIMARY OPEN-ANGLE GLAUCOMA

Sokolov V.A.^a, Likhvantseva V.G.^b, Levanova O.N.^a, Nikiforov A.A.^a, Vygodin V.A.^c

^a I.P. Pavlov Ryazan State Medical University, Ryazan, Russian Federation

^b The Institute of Advanced Training, Federal Medical-Biological Agency of Russia, Moscow, Russian Federation

^c State Research Center for Preventive Medicine, Moscow, Russian Federation

Abstract. The objective of our study was to evaluate production of matrix metalloproteinase–2 and –9 in lacrimal fluid, as well as CFH gene polymorphism in a group of patients with primary open-angle glaucoma.

The study was performed with 120 eyes of patients with primary open-angle glaucoma (POAG) including 34 eyes from the first-stage disease; 35 eyes, from the 2nd stage; 35, at the 3rd stage of the disorder, and 16 eyes with stage 4 POAG. Control group consisted of 25 glaucoma-free patients. Tear fluid served as a material for biochemical tests. The levels of MMP-2 and MMP-9 were determined by sandwich ELISA for the both eyes. Venous blood was used for genetic studies. Genomic human DNA was isolated from the whole blood leukocytes, a polymerase chain reaction (PCR) was performed.

The results of this study were analyzed using a package of SAS applied statistical programs (Statistical Analysis System, SAS Institute Inc., USA) employing standard algorithms of variation statistics, i.e., correlation analysis, contingency tables, and various types of intergroup comparisons for the parameters studied. The following results were obtained: average indices for metalloproteinases–2 and –9 were found to be increased upon progression of the disease. Correlation analysis of contingency relationships was performed for morphometric, clinical, functional parameters, and quantitative indices of MMP-2 and MMP-9. We also studied prevalence of CFH gene polymorphic alleles depending on the stage of glaucoma development. One may conclude that our study provided evidence for a relationship between MMP-2 and MMP-9 production, and CFH gene polymorphism, thus expanding a list of host genetic mutations which could be potentially involved into pathogenesis of primary open-angle glaucoma.

Keywords: primary open-angle glaucoma, complement factor H, gene CFH, polymorphism, matrix metalloproteinases

Введение

Первичная открытоугольная глаукома (ПОУГ) — тяжелое нейродегенеративное заболевание. Сочетание малосимптомного, торпидного течения с необратимым органическим поражением зрительного нерва неизбежно приводит к утрате зрительных функций. Несмотря на 200-летнюю историю изучения проблемы, многие аспекты патогенеза глаукомы остаются не до конца изученными [2]. Клинические и экспериментальные исследования последних лет подтвердили участие иммунной системы в нейродегенеративных реакциях, развивающихся в сетчатке и зрительном нерве, а также в более высоких отделах зрительного тракта при ПОУГ [6, 13, 30]. Активизация аутоиммунитета при глаукоме доказана работами Tezel G. (2007; 2009) [31, 33], Wax M.B. (2009) [35], Курышевой Н.И. (2006) [1], Лихванцевой В.Г. и соавт. (2014) [3]. Длительное и непрерывно прогрессирующее течение болезни, постепенное вовлечение в процесс всех структур глаза, расширение спектра аутоантител

подтверждает иммунный ответ при ПОУГ [4]. Это объясняет смещение ракурса исследований в сторону лабораторной диагностики: молекулярно-генетической, иммунологической и др. В активной разработке поиск маркеров, позволяющих прогнозировать вероятность развития и характер клинического течения ПОУГ [16]. В этом аспекте привлекают матриксные металлопротеиназы (ММП).

Иммунная система осуществляет надзор за постоянством гомеостаза. Сбой в ее регуляции способствует превращению защитных механизмов в орудие повреждения. Иммунной агрессии подвергаются собственные нейроны: ганглиозные клетки сетчатки (ГКС), их синапсы и аксоны [32, 34]. Депозиты белков комплемента в сетчатке глаз с терминальной глаукомой подтверждают ее участие в патогенезе ПОУГ [17, 28]. Система комплемента является неотъемлемой частью врожденного иммунитета и предназначена для очистки от нежелательных клеток, инфекционных агентов и продуктов клеточного распада [37].

Она регулируется несколькими белками, включая фактор комплемента Н (CFH). Доказано участие комплемента в деструкции синапсов центральной нервной системы (ЦНС) [22, 29], что делает его причастным к нейродегенеративным заболеваниям, включая глаукому [12, 14, 22, 24].

На экспериментальной модели глаукомы у мыши DBA/2J ПОУГ манифестировала активацией воспалительных реакций с участием каскада комплемента. Следом повышалось внутриглазное давление (ВГД) и запускался апоптоз ганглионарных клеток сетчатки (ГКС) [12, 25, 27]. Представлены доказательства прямой связи неконтролируемой активации системы комплемента с прогрессированием дегенерации ГКС, их синапсов и аксонов при ПОУГ. Контролирующие функции гена CFH нарушаются при мутации фактора Н, приводя к гиперэкспрессии компонентов комплемента (C5, C3, C1q). Поэтому изучение полиморфизма гена CFH признано перспективным направлением исследований у больных ПОУГ [12, 14, 22].

С другой стороны, ответственность за преобразование экстраклеточного матрикса (ЭКМ) с последующим ремоделированием диска зрительного нерва (ДЗН) возлагают на матриксные металлопротеиназы (ММП) [20]. Морфологические исследования структур глаза человека и животных подтверждают их гиперэкспрессию при глаукоме в трабекулярной сети [7, 9, 11], в шлемовом канале [23], в сетчатке [8, 10], решетчатой пластине склеры [36] и диске зрительного нерва [19]. Предполагают наличие причинно-следственной связи между уровнем ММП и реакциями ремоделирования ДЗН и сетчатки. В связи с чем концентрацию ММП определяют во внутриглазной жидкости [15, 21, 26], в сыворотке крови, слезной жидкости. Продукция ММП находится под контролем иммунной системы [5].

К настоящему времени не установлено, как связаны между собой полиморфизм гена CFH и экспрессия ММП. Между тем, оба маркера ассоциируются с развитием и прогрессированием ПОУГ.

Цель исследования — изучить продукцию матриксных металлопротеиназы-2 и -9 в слезной жидкости и полиморфизм гена CFH в популяции больных первичной открытоугольной глаукомой.

Материалы и методы

Работа представляет собой статическое исследование, в ходе которого методом рандомизации осуществляли набор пациентов с ПОУГ. Пациентов обследовали на базе поликлинического отделения Государственного бюджетного учреждения Рязанской области «Клиническая больница им. Н.А. Семашко».

Критерии включения в исследование: пациенты с впервые выявленной ПОУГ.

Критерии исключения: нормотензивная, закрытоугольная и псевдоэкссфолиативная глаукома, операции, травмы, воспалительные и аутоиммунные заболевания глаз в анамнезе, заболевания сетчатки и зрительного нерва, помутнение роговицы, затрудняющие осмотр глазного дна, аметропия высокой степени; тяжелая соматическая патология (инфаркт миокарда, инсульт, флеботромбоз), острые заболевания печени и почек, нейроэндокринные, психические заболевания.

Соматический статус оценивался кардиологом и/или терапевтом и эндокринологом.

Материалом для исследования служили 66 (120 глаз) больных с различными стадиями ПОУГ; из них 23 женщины и 43 мужчины. Возрастной коридор обследованных больных ПОУГ колебался от 39 до 79 лет, составляя в среднем $63,8 \pm 0,74$ года. Из них: на 34 глазах была 1 стадия, на 35 — 2 стадия, на 35 глазах — 3 стадия, и в 16 глазах — 4 стадия заболевания. В нашей популяции ПОУГ на 12 глазах заболевание еще не проявилось.

Контролем служили 25 пациентов без ПОУГ, аналогичного возрастного коридора и частоты сопутствующей патологии. Из них: 15 мужчин и 10 женщин, средний возраст $65,0 \pm 1,6$ года (от 47 до 77 лет). В контроль не входили лица с отягощенным анамнезом по глаукоме (наследственная форма ПОУГ). Группа контроля была рандомизирована по гендерному признаку, возрасту, распространенности сердечно-сосудистых заболеваний, аметропиям. Такой подход минимизировал роль этих факторов риска, способствуя более точной оценке роли ММП-2, ММП-9 во взаимосвязи с генотипом CFH.

ПОУГ диагностировали в соответствии с Федеральными стандартами диагностики первичной открытоугольной глаукомы (код МКБ: 40.1).

Всем пациентам проводили офтальмологическое обследование:

- визометрию;
- биомикроскопию;
- авторефрактометрию;
- офтальмоскопию;
- тонометрию;

— тонографию (GlauTest-60) — определяли следующие показатели: истинное внутриглазное давление P_0 (мм рт. ст.), коэффициент легкости оттока внутриглазной жидкости C ($\text{мм}^3/\text{мин}/\text{мм рт. ст.}$), минутный объем секреции внутриглазной жидкости F ($\text{мм}^3/\text{мин}$), V (объем вытесненной за время тонографии из передней камеры глаза внутриглазной жидкости; мм^3), коэффициент Беккера (КБ);

— компьютерную периметрию (ОСТОРUS 900, Швейцария) — использовали стандартную пороговую программу 32, рекомендуемую для диагностики глаукомы; пациентам с аномалиями рефракции и пресбиопией компьютерную периметрию проводили в условиях очковой коррекции для близости; анализировали три основных по-

казателя, отражающих данные периметрии: MD (mean deviation) — среднее отклонение дефекта в анализируемой группе от возрастной нормы; MS (mean sensitivity) — средняя внутригрупповая светочувствительность, SLV (corrected loss variance) — скорректированная внутригрупповая вариабельность снижения светочувствительности (отражает выраженность очаговых изменений); анализировали локализацию дефектов поля зрения и характер снижения светочувствительности;

— оптическую когерентную томографию (ОКТ) (Stratus 3000, фирма Zeiss, Германия) — оценивали параметры ДЗН и толщину слоя нервных волокон сетчатки (CHVC) в перипапиллярной зоне, толщину сетчатки в различных зонах, верифицируя признаки глаукомного ремоделирования. Данные представляли в виде стандартных протоколов сканирования макулы и ДЗН.

Обследование дополняли лабораторно-генетическими исследованиями.

Концентрацию ММП-2 и ММП-9 в слезной жидкости (СЖ) обоих глаз определяли «сэндвич»-методом твердофазного иммуноферментного анализа. ММП-2 оценивали с помощью тест-набора фирмы BCM Diagnostics, ММП-9 — реактивом фирмы Bander Medsystems. Чувствительность для ММП-2 составляла 0,047 нг/мл, для ММП-9 — 0,156 нг/мл.

Генетический анализ проводили методом полимеразной цепной реакции. Изучали однонуклеотидные полиморфизмы (SNPs) гена CFH (фактора комплемента H). Генотип определяли по ДНК, выделенной из лейкоцитов цельной периферической крови с помощью реагента «ДНК-экспресс-кровь» и системы SNP-экспресс-PB (ООО НТП «Литех», Москва).

Результаты исследования анализировали с помощью пакета прикладных статистических программ SAS (Statistical Analysis System,

SAS Institute Inc., США) с применением стандартных алгоритмов вариационной статистики, включая корреляционный анализ и анализ таблиц сопряженности, а также различные типы межгруппового сравнения распределений изучаемых показателей.

Результаты

Определяли референтные значения для ММП-2 и ММП-9. Было установлено, что концентрация ММП-2 в слезной жидкости здоровых лиц (контроль) составляет в среднем $2,64 \pm 0,68$ нг/мл, а концентрация ММП-9 — $80,36 \pm 14,65$ нг/мл. У больных глаукомой концентрация ММП-2 составила $3,59 \pm 1,4$ нг/мл, а ММП-9 — $136,1 \pm 26,4$ нг/мл (рис. 1, 2).

Было установлено, что среднегрупповые показатели металлопротеиназ-2 и -9 увеличиваются от стадии к стадии заболевания (табл. 1).

Достоверное повышение концентрации ММП-2 в слезе по сравнению с контролем появлялось только со второй стадии заболевания ($p < 0,001$), показатели сохранялись повышенными на 3 и 4 стадии процесса ($p < 0,001$ и $p < 0,01$). Иными словами, ПОУГ не манифестировала на фоне высокого уровня продукции ММП-2 в слезной жидкости, но переход заболевания с менее продвинутой (первой) на более развитую (вторую или третью) стадию сопровождался ростом концентрации ММП-2. Уровни фермента на далекозашедшей стадии ПОУГ в 1,5 раза превысили контрольные показатели. Продукция ММП-9 имела сходную закономерность с увеличением концентрации от стадии к стадии. Однако достоверная разница по сравнению с контролем проявлялась, начиная с первой стадии заболевания ($p < 0,001$).

Повышение ММП-2 и ММП-9 в слезе глаз с ПОУГ указывало на возможное их участие в патологическом процессе. Будучи маркером ак-

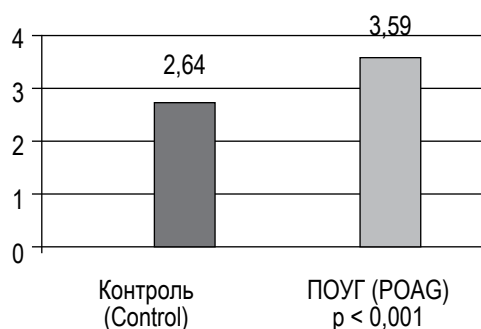


Рисунок 1. Концентрация ММП-2 (нг/мл) в слезе у пациентов группы контроля и больных первичной открытоугольной глаукомой (ПОУГ)

Figure 1. Concentration of MMP-2 (ng/ml) in lacrimal fluid of control subjects and patients with primary open-angle glaucoma

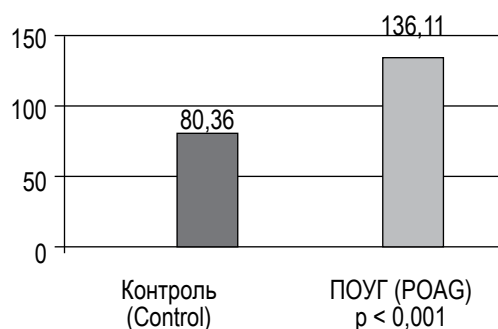


Рисунок 2. Концентрация ММП-9 (нг/мл) в слезе у пациентов группы контроля и больных первичной открытоугольной глаукомой (ПОУГ)

Figure 2. Concentration of MMP-9 (ng/ml) in lacrimal fluid of control subjects and patients with primary open-angle glaucoma

ТАБЛИЦА 1. УРОВЕНЬ ММП-2 И ММП-9 (нг/мл) В СЛЕЗЕ У ПАЦИЕНТОВ ГРУППЫ КОНТРОЛЯ И БОЛЬНЫХ С РАЗЛИЧНЫМИ СТАДИЯМИ ПЕРВИЧНОЙ ОТКРЫТОУГОЛЬНОЙ ГЛАУКОМЫ (ПОУГ)

TABLE 1. LEVELS OF MMP-2 AND MMP-9 (ng/ml) IN LACRIMAL FLUID OF THE PATIENTS FROM CONTROL GROUP, AND PATIENTS AT DIFFERENT STAGES OF PRIMARY OPEN-ANGLE GLAUCOMA (POAG)

Группы пациентов Groups of patients	п – количество глаз n, number of eyes	ММП-2 (нг/мл) MMP-2 (ng/ml) Mean±SD	ММП-9 (нг/мл) MMP-9 (ng/ml) Mean±SD
Контроль Control	28	2,64±0,68	80,36 ±14,65
1 стадия ПОУГ Stage 1 POAG	34	2,89±0,91 p = 0,23385 (NS)	119,18±17,04 p = 0,00000, p < 0,001
2 стадия ПОУГ Stage 2 POAG	35	3,71±1,27 p = 0,0016, p < 0,001; p ₁ = 0,0030, p ₁ < 0,01	130,87±24,18 p = 0,00000, p < 0,001; p ₁ = 0,02368, p ₁ < 0,05
3 стадия ПОУГ Stage 3 POAG	35	3,97±1,62 p = 0,00006, p < 0,001; p ₁ = 0,00114, p ₁ < 0,01; p ₂ = 0,45749 (NS)	146,18±25,44 p = 0,00000, p < 0,001; p ₁ = 0,00000, p ₁ < 0,001; p ₂ = 0,01202, p ₂ < 0,05
4 стадия ПОУГ Stage 4 POAG	16	4,0±1,59 p = 0,00439, p < 0,01; p ₁ = 0,00289, p ₁ < 0,01; p ₂ = 0,48821, (NS) p ₃ = 0,95104, (NS)	161,56±21,81 p = 0,00000, p < 0,001; p ₁ = 0,00000, p ₁ < 0,001; p ₂ = 0,00007, p ₂ < 0,001; p ₃ = 0,04184, p ₃ < 0,05

Примечание. p – достоверность показателей по сравнению с контрольной группой, p₁ – достоверность показателей по сравнению с 1 стадией ПОУГ, p₂ – со 2 стадией ПОУГ, p₃ – с 3 стадией ПОУГ.

Note. p, significance of differences as compared with control group; p₁, the significance of differences as compared to stage 1 POAG, p₂, to stage 2 POAG, p₃, to stage 3 POAG.

тивности воспаления и деградации экстрацеллюлярного матрикса, дестабилизации клеток и повреждения тканей, ММП-2 и ММП-9 могли свидетельствовать о начале перестройки тканей на уровне трабекулярной сети, сетчатки и головки зрительного нерва. Версию проверяли методом корреляционного анализа (табл. 2).

Таким образом, более высоким значениям ММП-2 и ММП-9 соответствовали признаки усугубления патологического процесса.

Выявлена прямая сопряженная связь между ММП-2 и ММП-9 (коэффициент сопряженности k = 0,647, p < 0,001). Группа глаз с повышенным уровнем ММП-9 в слезе отличалась наибольшей пропорцией глаз (81,82%) с высокими значениями ММП-2 (> 4,0 нг/мл) (табл. 3).

Затем мы попытались установить, как связана продукция ММП-2 и ММП-9 с генотипом CFH и распространенность полиморфизма гена CFH при ПОУГ в целом.

Гомозигот по полиморфизму T402H обозначали как генотип CC, гетерозигот, имеющих только одну аллель T402H, как генотип TC, а гомозигот без данного полиморфизма обозначали как генотип TT.

Было установлено, что распространенность гомозигот с отсутствием полиморфизма гена CFH (генотип TT) составляет 42% популяции ПОУГ и 32% контроля; частота гетерозигот (генотип TC) – 58 и 68% соответственно (рис. 3).

Было установлено, что манифестация ПОУГ ассоциируется с носительством фактора мутации в гене CFH (75% гетерозигот на I стадии, генотип TC). От стадии к стадии частота гетерозигот снижается с 75 до 30% (4 стадия, p < 0,05), гомозиготы (генотип TT), напротив, выявляются чаще, достигая 70% к 4 стадии (p < 0,05) (рис. 4).

Превалирование локальных мутаций в гене фактора комплемента H на этапе манифестации ПОУГ косвенно свидетельствовало о том, что

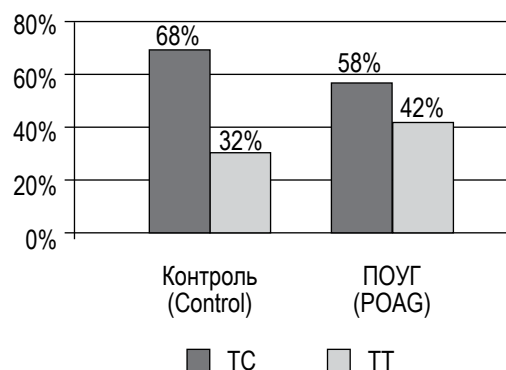


Рисунок 3. Полиморфизм гена CFH в популяции больных первичной открытоугольной глаукомой и в группе контроля

Figure 3. CFH gene polymorphism in a population of patients with primary open-angle glaucoma and in control group

ТАБЛИЦА 2. КОРРЕЛЯЦИОННЫЙ АНАЛИЗ СВЯЗЕЙ (ПО ПИРСОНУ) МЕЖДУ МОРФОМЕТРИЧЕСКИМИ, КЛИНИКО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫМИ ПАРАМЕТРАМИ И КОЛИЧЕСТВЕННЫМИ ПОКАЗАТЕЛЯМИ ММП-2 И ММП-9

TABLE 2. CORRELATION ANALYSIS OF RELATIONSHIPS BETWEEN THE MORPHOMETRIC, CLINICAL AND FUNCTIONAL PARAMETERS (BY PEARSON), AND QUANTITATIVE INDICES OF MMP-2 AND MMP-9

	Морфометрические и клинико-функциональные параметры Morphometric and clinical-functional parameters		ММП-2 MMP-2	ММП-9 MMP-9
Тонографические показатели Tonographic indexes	Острота зрения с коррекцией Vision with correction	r	-0,32996	-0,52938
		p	< 0,001	< 0,001
	Внутриглазное давление (ВГД) Intraocular pressure (IOP)	r	0,33509	0,21644
		p	< 0,01	< 0,01
	Коэффициент легкости оттока внутриглазной жидкости (С) The easeness coefficient for intraocular fluid outflow (C)	r	-0,1919,	-0,3491
		p	< 0,05	< 0,001
Морфометрические показатели Morphometric indexes	Минутный объем секреции внутриглазной жидкости (F) Volume of intraocular fluid secretion per min. (F)	r	-0,0771	-0,18857
		p	0,3324 н/д	< 0,05
	Коэффициент Беккера (КБ) The Becker Coefficient	r	0,25611	0,19418
		p	< 0,01	< 0,05
	Средняя толщина фовеа The average fovea thickness	r	-0,20756	-0,16891
		p	< 0,01	< 0,05
	Общий макулярный объем (мм³) Total macular volume, mm³	r	-0,27251	-0,48461
		p	< 0,001	< 0,001
	Средняя толщина СНВС The average thickness of the retinal nerve fiber layer	r	-0,38964	-0,59308
		p	< 0,001	< 0,001
	Средняя толщина СНВС в верхних отделах Average thickness of the retinal nerve fiber layer in top segments	r	-0,31155	-0,53015
		p	< 0,001	< 0,001
	Средняя толщина СНВС в нижних отделах Average thickness of the retinal nerve fiber layer in lower segments	r	-0,40373	-0,57124
		p	< 0,001	< 0,001
	Площадь экскавации Square cup	r	0,36984	0,43462
		p	< 0,001	< 0,001
	Отношение экскавации к ДЗН Square cup/ disc ratio	r	0,31095	0,44614
		p	< 0,001	< 0,001
Показатели периметрии Perimetric indexes	Отношение экскавации/горизонтальный размер ДЗН Cup/Disk Horizontal Ratio	r	0,29784	0,40315
		p	< 0,001	< 0,001
	Отношение экскавации/вертикальный размер диска Cup/Disk Vertical Ratio	r	0,33069	0,44827
		p	< 0,001	p< 0,001
	Площадь нейроретинального пояса The area of the disc rim	r	-0,30358	-0,43025
		p	< 0,001	< 0,001
	MD (mean deviation) – среднее отклонение дефекта в анализируемой группе от возрастной нормы MD (mean deviation) in the group from age reference values	r	0,33831	0,63614
		p	< 0,001	< 0,001
	MS (mean sensitivity) – средняя внутригрупповая светочувствительность MS (mean sensitivity), mean light sensitivity within the group	r	-0,3383	-0,63684
		p	< 0,001	p< 0,001
	– скорректированная внутригрупповая вариабельность снижения светочувствительности SLV (corrected loss variance), corrected variability of light sensitivity within the group	r	0,27873	0,43984
		p	< 0,001	< 0,001
	Среднегрупповая суммарная диффузная светочувствительность Medium total diffuse photosensitivity in the group	r	-0,33769	-0,63483
		p	< 0,001	< 0,001

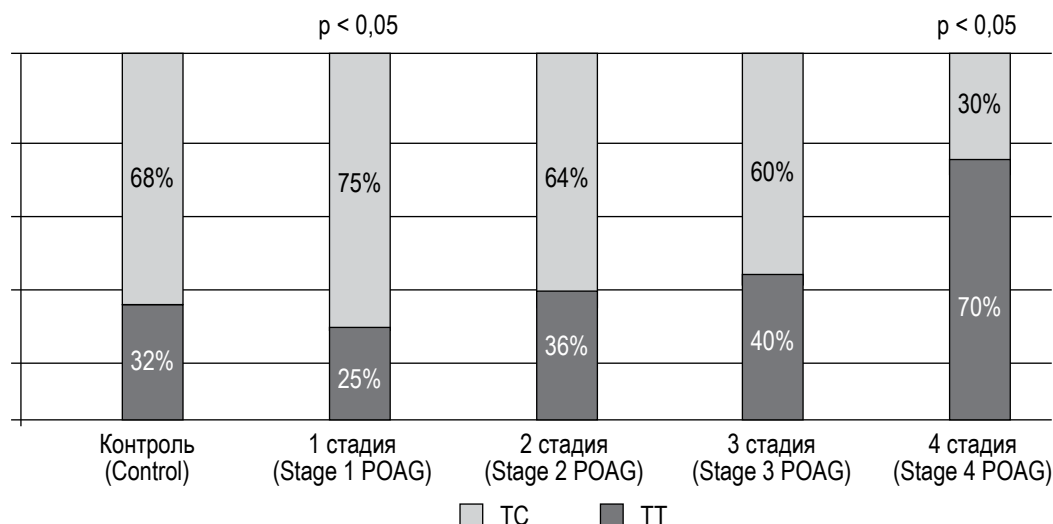


Рисунок 4. Распространенность полиморфизма гена CFH с учетом стадии развития глаукомы

Figure 4. The CFH gene polymorphism at different clinical stages of glaucoma

ТАБЛИЦА 3. РАСПРЕДЕЛЕНИЕ УРОВНЕЙ ММП-2 ВО ВЗАИМОСВЯЗИ С УРОВНЕМ ПРОДУКЦИИ ММП-9

TABLE 3. DISTRIBUTION OF MMP-2 LEVELS AND THEIR CORRELATION WITH MMP-9 PRODUCTION LEVELS

Частота в % Frequency of occurrence (%)	Контроль Controls		Группа ПОУГ POAG group	
	ММП-2 2,0-4,0 нг/мл MMP-2 2.0-4.0 ng/ml	ММП-2 > 4,0 нг/мл MMP-2 > 4.0 ng/ml	ММП-2 2,0-4,0 нг/мл MMP-2 2.0-4.0 ng/ml	ММП-2 > 4,0 нг/мл MMP-2 > 4.0 ng/ml
ММП-9 < 90,0 нг/мл MMP-9 < 90.0 ng/ml	17 60,71%	0 0,00%	0 0,00%	0 0,00%
ММП-9 90,0-130,0 нг/мл MMP-9 90.0-130.0 ng/ml	11 39,29%	0 0,00%	54 55,10%	4 18,18%
ММП-9 > 130,0 нг/мл MMP-9 > 130.0 ng/ml	0 0,00%	0 0,00%	44 44,90%	18 81,82% p < 0,001
Всего Total	28	0	98	22

нарушение регуляции в системе комплемента может стать предрасполагающим фактором, обуславливающим повышенную чувствительность к патогенным механизмам ПОУГ.

Уровень продукции ММП-2 не зависил от принадлежности к генотипу CFH, чего нельзя сказать о продукции ММП-9 (табл. 4). Достоверно чаще повышенные уровни ММП-9 выявлялись у лиц с генотипом ТТ (коэффициент сопряженности $k = 0,650$, $p < 0,001$).

Таким образом, прослеживалась прямая сопряженная связь ММП-9 с генотипом ТТ и с

ММП-2, и опосредованная связь ММП-2 с генотипом ТТ.

Обсуждение

Публикации последних лет отражают дискуссию о первичности того или иного феномена. Согласно одной из версий, высокие концентрации металлопротеиназ-2 и -9 обуславливают перестройку трабекулярного аппарата, снижение оттока водянистой влаги и развитию офтальмогипертензии, что в свою очередь ускоряет прогрессирование оптической нейропатии [7, 19].

ТАБЛИЦА 4. РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА CFH С УЧЕТОМ ПРОДУКЦИИ ММП-9

TABLE 4. DISTRIBUTION OF CFH GENE POLYMORPHISM WITH RESPECT TO MMP-9 PRODUCTION

Частота в % Frequency of detection (%)	Контроль Controls		Группа ПОУГ POAG group	
	ТТ	ТС	ТТ	ТС
ММП-9 < 90,0 нг/мл MMP-9 < 90.0 (ng/ml)	3 37,50%	14 70,00%	0 0,00%	0 0,00%
ММП-9 90,0-130,0 нг/мл MMP-9 90.0-130.0 (ng/ml)	5 62,50%	6 30,00%	22 36,07%	36 61,02%
ММП-9 > 130,0 нг/мл MMP-9 > 130.0 (ng/ml)	0 0,00%	0 0,00%	39 63,93% p < 0,001	23 39,98%
Всего Total	8	20	61	59

В этом случае гиперэкспрессия ММП-2 и ММП-9 должны предшествовать офтальмогипертензии. По нашим данным, продукция ММП-9 повысилась практически одновременно с офтальмогипертензией или предшествовала ей. Учитывая, что клинически значимое повышение уровня фермента ММП-9 зафиксировано на 1 стадии, а ММП-2 — на 2 стадии заболевания, можно утверждать, что гиперэкспрессия ММП-2 — это, скорее, сопряженный эпифеномен, развивающийся в ответ на повышение уровня продукции ММП-9.

Наряду с этим, более высокие значения ММП-2 и ММП-9 ассоциировались с морфометрическими и функциональными признаками отягощения глаукомного процесса (см. табл. 2). Как известно, отрицательный тканевой гомеостаз, проявляющийся истончением сетчатки и/или отдельных ее структур (СНВС, фовеа, НРП) с уменьшением объема или площади ее топографических зон (макула, фовеа), увеличением экскавации ДЗН сопровождается снижением зрительных функций.

ММП-2 и ММП-9 прямо коррелировали с ВГД, площадью экскавации и его отношением к размерам ДЗН, а также периметрическими индексами MD и SLV. Обратная корреляция прослеживалась с остротой зрения, коэффициентом легкости оттока внутриглазной жидкости, с минутным объемом секреции внутриглазной жидкости, со средней толщиной сетчатки в фовеа, общим макулярным объемом, средней толщиной слоя нервных волокон сетчатки в верхнем и нижнем ее отделах, с площадью нейроретинального пояса (НРП), периметрическим индексом MS.

Известно, что ММП2 совместно с ММП9 участвуют в деградации коллагена IV типа, главного компонента базальных мембран, фиброзно-соединительной оболочки глаза и роговицы. ММП2 может также разрушать другие типы коллагенов (V, VII и X), эластин и фибронектин, модулируя функции различных белков, например, расщеплять моноцитарный хемотаксический белок, приводя к уменьшению воспаления и обеспечивая вазоконстрикцию [20]. Заметим, этот фермент может оказывать как провоспалительный, так и противовоспалительный эффект в зависимости от его концентрации в тканях [18]. Будучи маркером активности воспаления и одновременно деградации ЭКМ, дестабилизации клеток и повреждения тканей, повышенные уровни ММП-2 и ММП-9 ускоряют ремоделирование тканей на уровне трабекулярной сети, сетчатки и головки зрительного нерва. Очередность вступления ферментов свидетельствует о том, если гиперэкспрессия ММП-9 — это реакция глаза в ответ на патогенные механизмы ПОУГ, в то время как гиперэкспрессия ММП-2 — адаптационно-приспособительная реакция, направленная на ингибирование локального воспаления тканей глаза, развившегося на фоне деградации экстрацеллюлярного матрикса и повреждения тканей.

Достоверно чаще концентрация ММП-9 выше у больных с генотипом ТТ гена CFH, чем объяснялась аккумуляция больных с этим генотипом на более высоких стадиях ПОУГ.

Результаты свидетельствуют о том, что гетерозиготы по гену CFH (генотип ТС) имеют предрасположенность к заболеваемости ПОУГ, в то время как гомозиготы (генотип ТТ) более чувствительны к ее патогенным механизмам, отвечая на них более высоким уровнем иммунного

реагирования (включая МПП-2 и ММП-9). У пациентов с генотипом ТС гена CFH заболевание протекает медленнее, они дольше остаются на 1 стадии заболевания, а гомозиготы (генотип ТТ) ассоциируются с более агрессивным течением заболевания.

Таким образом, наше исследование предоставило доказательства взаимосвязи продукции ММП-2 и ММП-9 с полиморфизмом гена CFH, а также расширило список генетических мутаций, принимающих возможное участие в патогенезе ПОУГ.

Благодарности

Выражаем признательность ректору ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России профессору Калинин Р.Е. за субсидирование проведенных исследований; заведующему центральной научно-исследовательской лабораторией ГБОУ ВПО РязГМУ Минздрава России Никифорову А.А., старшему научному сотруднику научно-исследовательской лабораторией ГБОУ ВПО РязГМУ Минздрава России Никифоровой Л.В. за помощь в выполнении исследования.

Список литературы / References

1. Курышева Н.И. Глаукомная оптическая нейропатия. М.: МЕДпресс-информ, 2006. 136 с. [Kuryshcheva N.I. Glaucoma optic neuropathy]. Moscow: MEDpress-inform, 2006. 136 p.
2. Либман Е.С., Шахова Е.В., Чумаева Е.А. Глаукома как медико-социальная проблема. Глаукома: сб. науч. тр. МНИИГБ им. Гельмгольца. М., 1998. С. 5-11. [Liebman E.S., Shakhova E. V., Chumaeva E.A. Glaucoma as a health and social problem. Glaucoma: Collection of Scientific Papers of the Helmholtz Moscow Research Institute of Eye Diseases]. Moscow, 1998, pp. 5-11.
3. Лихванцева В.Г., Габиров А.А., Соломатина М.В., Белогуров А.А., Коростелева Е.В., Выгодин В.А. Роль иммунных реакций в патогенезе оптической нейропатии при нормотензивной глаукоме // Национальный журнал «Глаукома», 2014. Т. 13, № 2. С. 17-27. [Likhvantseva V.G., Gabibov A.A., Solomatina M.V., Belogurov A.A., Korostelyova E.V., Vygodin V.A. The role of immune reactions in the pathogenesis of optic neuropathy in normal tension glaucoma. *Natsionalnyy zhurnal "Glaukoma" = National Journal "Glaukoma"*, 2014, Vol. 13, no. 2, pp. 17-27. (In Russ.)]
4. Рукина Д.А., Догадова Л.П., Маркелова Е.В., Абдуллин Е.А., Осыховский А.Л., Хохлова А.С. Иммунологические аспекты патогенеза первичной открытоугольной глаукомы // РМЖ «Клиническая офтальмология», 2011. № 4. С. 162. [Rukina D.A., Dogadova L.P., Markelova E.V., Abdullin E.A., Osyhovskiy A.L., Hohlova A.S. Immunological aspects of the pathogenesis of primary open-angle glaucoma. *RMZh "Klinicheskaya oftalmologiya" = Russian Medical Journal "Clinical Ophthalmology"*, 2011, no. 4, p. 162. (In Russ.)]
5. Рукина Д.А., Кириенко А.В. Значение матричной металлопротеиназы в патогенезе первичной открытоугольной глаукомы // Оригинальные исследования, 2011. № 3. С. 41-43. [Rukina D.A., Kirienko A.V. Importance of matrix metalloproteinase in the pathogenesis of primary open angle glaucoma. *Originalnye issledovaniya = Original Researches*, 2011, no. 3, pp. 41-43. (In Russ.)]
6. Abu-Amero K., Morales J., Bosley T. Mitochondrial abnormalities in patients with primary open-angle glaucoma. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 2006, Vol. 47, no. 6, pp. 2533-2541.
7. Alexander J.P. Expression of matrix metalloproteinases and inhibitor by human trabecular meshwork. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 1991, Vol. 32, pp. 172-180.
8. de Groef L. MMPs in the neuroretina and optic nerve: modulators of glaucoma pathogenesis and repair? *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 2014, Vol. 55, no. 3, pp. 1953-1964.
9. de Groef L. MMPs in the trabecular meshwork: promising targets for future glaucoma therapies? *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 2013, Vol. 54, no. 12, pp. 7756-7763.
10. Guo L. Retinal ganglion cell apoptosis in glaucoma is related to intraocular pressure and IOP-induced effects on extracellular matrix. *Invest. Ophthalmol. Sci.*, 2005, Vol. 46, no. 1, pp. 175-182.
11. Guo M.S., Wu Y.Y., Liang Z.B. Hyaluronic acid increases MMP-2 and MMP-9 expressions in cultured trabecular meshwork cells from patients with primary open-angle glaucoma. *Mol. Vis.*, 2012, Vol. 18, pp. 1175-1181.
12. Howell G. Molecular clustering identifies complement and endothelin induction as early events in a mouse model of glaucoma. *J. Clin. Invest.*, 2011, Vol. 121, no. 4, pp. 1429-1444.
13. Izzotti A. Mitochondrial damage in the trabecular meshwork of patients with glaucoma. *Arch. Ophthalmol.*, 2010, Vol. 128, no. 6, pp. 724-730.
14. Jha P. Complement mediated apoptosis leads to the loss of retinal ganglion cells in animal model of glaucoma. *Mol. Immunol.*, 2011, Vol. 48, no. 15-16, pp. 2151-2158.
15. Kara S., Yildirim N., Ozer A., Colak O., Sahin A. Matrix metalloproteinase-2, tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-2, and transforming growth factor beta 1 in the aqueous humor and serum of patients with pseudoexfoliation syndrome. *Clin. Ophthalmol.*, 2014, Vol. 8, p. 308.
16. Kowalski M. Matrix metalloproteinases: modern molecular markers of open-angle glaucoma diagnosis and therapy. *Postepy Hig. Med. Dosw.*, 2008, Vol. 62, pp. 582-592.
17. Kuehn M. Retinal synthesis and deposition of complement components induced by ocular hypertension. *Exp. Eye Res.*, 2006, Vol. 83, no. 3, pp. 620-628.
18. Le N.T. The dual personalities of matrix metalloproteinases in inflammation. *Front. Biosci.*, 2007, Vol. 12, pp. 1475-1487.
19. Morgan W.H. The influence of cerebrospinal fluid pressure upon the lamina cribrosa tissue pressure gradient. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 1995, Vol. 36, pp. 1163-1172.

20. Nagase H., Visse R., Murphy G. Structure and function of matrix metalloproteinases and TIMPs. *Cardiovascular Research*, 2006, Vol. 69, no. 3, pp. 562-573.
21. Nga A.D. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in the aqueous humour of patients with primary angle closure glaucoma – a quantitative study. *BMC Ophthalmol.*, 2014, Vol. 14, no. 1, p. 33.
22. Ren L., Danias J. A role for complement in glaucoma? *Adv. Exp. Med. Biol.*, 2010, Vol. 703, pp. 95-104.
23. Ronkoo S., Rekonen P., Kaarnirata K. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in the chamber angle of normal eyes and patient with primary open-angle glaucoma and exfoliation glaucoma. *Greafe's Arch. Clin. Exp. Ophthalmology*, 2007, Vol. 245, pp. 697-700.
24. Rosen A., Stevens B. The role of the classical complement cascade in synapse loss during development and glaucoma. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 2010, Vol. 703, pp. 75-93.
25. Schlamp C.L. Progressive ganglion cell loss and optic nerve degeneration in DBA/2J mice is variable and asymmetric. *BMC Neurosci*, 2006, Vol. 7, p. 66.
26. Schlötzer-Schrehardt U. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in aqueous humor of patients with pseudoexfoliation syndrome/glaucoma and primary open-angle glaucoma. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 2003, Vol. 44, no. 3, pp. 1117-11125.
27. Soto I. Retinal ganglion cells downregulate gene expression and lose their axons within the optic nerve head in a mouse glaucoma model. *J. Neurosci.*, 2008, Vol. 28, no. 2, pp. 548-561.
28. Stasi K. Complement component 1Q (C1Q) upregulation in retina of murine, primate, and human glaucomatous eyes. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci*, 2006, Vol. 47, no. 3, pp. 1024-1029.
29. Stevens B. The classical complement cascade mediates CNS synapse elimination. *Cell*, 2007, Vol. 131, pp. 1164-1178.
30. Tatton W. Maintaining mitochondrial membrane impermeability: an opportunity for new therapy in glaucoma? *Surv. Ophthalmol.*, 2001, Vol. 45, pp. 277-283.
31. Tezel G. The role of glia, mitochondria, and the immune system in glaucoma. *Invest. Ophthalmol.*, 2009, Vol. 50, pp. 1001-1012.
32. Tezel G., Wax M. The mechanisms of hsp27 antibody-mediated apoptosis in retinal neuronal cells. *J. Neurosci.*, 2000, Vol. 20, pp. 3552-3562.
33. Tezel G., Wax M.B. Glaucoma. *Chem. Immunol. Allergy*, 2007, Vol. 92, pp. 221-227.
34. Wax M.B. Induced autoimmunity to heat shock proteins elicits glaucomatous loss of retinal ganglion cell neurons via activated T-cell-derived fas-ligand. *J. Neurosci.*, 2008, Vol. 28, no. 46, pp. 12085-12096.
35. Wax M.B., Tezel G. Immunoregulation of retinal ganglion cell fate in glaucoma. *Exp. Eye Res.*, 2009, Vol. 88, no. 4, pp. 825-830.
36. Xu S.L. Expression of matrix metalloproteinases and inhibitors on the scleral tissue of lamina cribrosa in rat with experimental chronic ocular hypertension. *Zhonghua Yan KeZaZhi*, 2009, Vol. 45, no. 3, pp. 260-265.
37. Zipfel P. Complement and immune defense: from innate immunity to human diseases. *Immunol. Lett.*, 2009, Vol. 126, pp. 1-7.

Авторы:

Соколов В.А. — д.м.н., профессор кафедры глазных и ЛОР болезней ФГБУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ, г. Рязань, Россия

Лихванцева В.Г. — д.м.н., профессор, профессор кафедры офтальмологии ФГБОУ ДПО «Институт повышения квалификации Федерального медико-биологического агентства» России, Москва, Россия

Леванова О.Н. — очный аспирант кафедры глазных и ЛОР болезней ФГБУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ, г. Рязань, Россия

Никифоров А.А. — к.м.н., доцент кафедры фармакологии с курсом фармации ФГБУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ, г. Рязань, Россия

Выгодин В.А. — заведующий отделом современных методов статистического анализа ФГБУ «Государственный научно-исследовательский центр профилактической медицины» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Authors:

Sokolov V.A., PhD, MD (Medicine), Professor, Department of Ocular and ENT Diseases, I.P. Pavlov Ryazan State Medical University, Ryazan, Russian Federation

Likhvantseva V.G., PhD, MD (Medicine), Professor, Department of Ophthalmology, The Institute of Advanced Training, Federal Medical-Biological Agency of Russia, Moscow, Russian Federation

Levanova O.N., Postgraduate Student, Department of Ocular and ENT Diseases, I.P. Pavlov Ryazan State Medical University, Ryazan, Russian Federation

Nikiforov A.A., PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Pharmacology with a Course of Pharmacy, Postgraduate Faculty, I.P. Pavlov Ryazan State Medical University, Ryazan, Russian Federation

Vygodin V.A., Head, Department of Modern Statistical Analysis, State Research Center for Preventive Medicine, Moscow, Russian Federation

Поступила 09.02.2017

Отправлена на доработку 22.02.2017

Принята к печати 14.03.2017

Received 09.02.2017

Revision received 22.02.2017

Accepted 14.03.2017