

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ИНТЕРЛЕЙКИНОВ ПРИ ПЕРВИЧНОЙ ОТКРЫТОУГОЛЬНОЙ ГЛАУКОМЕ

Барычева Л.Ю., Какулия Д.М., Минасян М.М., Кузнецова В.В.,
Козьмова Н.А.

ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет» Министерства
здравоохранения РФ, г. Ставрополь, Россия

Резюме. Глаукома — дегенеративное заболевание зрительного нерва, сопровождающееся гибелью ганглиозных клеток сетчатки (ГКС) и потерей зрения. Важную роль в патогенезе глаукомы играет активированная микроглия, продуцирующая провоспалительные интерлейкины и инициирующая апоптоз ГКС. Установлено, что однонуклеотидные полиморфизмы генов интерлейкинов модифицируют развитие нейровоспаления, однако их влияние на риск развития глаукомы до конца не установлено.

Цель — определить патогенетическую роль полиморфизмов генов *TNFα* и *IL1β* в развитии первичной открытоугольной глаукомы.

Обследованы 56 пациентов русской национальности Юга России с первичной открытоугольной глаукомой (ПОУГ), 28 пациентов с I стадией, 16 — со II стадией, 12 — с III стадией ПОУГ. Исследовали однонуклеотидные полиморфизмы *TNFα* 308G>A (rs1800629) и *IL1β* -31 T>C (rs1143627) методом рестрикции продуктов амплификации. Уровень провоспалительных цитокинов в слезной жидкости *TNFα* и *IL1β* у пациентов с ПОУГ исследовали посредством твердофазного иммуноферментного анализа (тест-системы АО «Вектор-Бест»). Оптическая когерентная томография выполнялась на аппарате "Торсон" 3D OCT 1000 с определением толщины слоя нервных волокон сетчатки (СНВС), объема и площади нейроретинального пояса.

У пациентов с ПОУГ чаще встречались аллели *TNFα* 308A (OR = 5,21, p = 0,001) и *IL1β* -31T (OR = 1,99, p = 0,04). Увеличение риска развития ПОУГ установлено у носителей генотипов 308A/A (OR = 6,30, p = 0,049), 308G/A (OR = 3,60, p = 0,049) и -31T/T (OR = 2,67, p = 0,04). Наиболее высокие показатели *TNFα* определялись в группе 308A/A (190 (153,0-220,0) пкг/мл), *IL1β* — в группе (-31) T/T — 6,50 (4,10-7,00) пкг/мл. Уменьшение толщины нервных волокон сетчатки установлено у обладателей генотипов *TNFα* G308A — 59,5 (40,0-78,0), p = 0,03 и *TNFα* A308A — 79,0 (65,0-80,0) мкм, p = 0,001.

Полиморфизмы генов цитокинов *TNFα* 308 G/A (rs1800629), *IL1β* -31T/C (rs1143627); *IL-10* 512C/A (rs1800872) взаимосвязаны с развитием первичной открытоугольной глаукомы. Факторами риска ПОУГ России являются аллели *TNFα* 308A, *IL1β* -31T, а также генотипы 308G/A, 308A/A и -31T/T.

Адрес для переписки:

Барычева Людмила Юрьевна
ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный
медицинский университет» Министерства
здравоохранения РФ
355017, Россия, г. Ставрополь, ул. Мира, 310.
Тел.: 8 (918) 740-54-84.
E-mail: for_ludmila@inbox.ru

Address for correspondence:

Liudmila Yu. Barycheva
Stavropol State Medical University
310 Mira St
Stavropol
355017 Russian Federation
Phone: +7 (918) 740-54-84.
E-mail: for_ludmila@inbox.ru

Образец цитирования:

Л.Ю. Барычева, Д.М. Какулия, М.М. Минасян,
В.В. Кузнецова, Н.А. Козьмова «Полиморфизм генов
провоспалительных интерлейкинов при первичной
открытоугольной глаукоме» // Медицинская
иммунология, 2024. Т. 26, № 2. С. 303-312.
doi: 10.15789/1563-0625-POP-2878

© Барычева Л.Ю. и соавт., 2024
Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

L.Yu. Barycheva, D.M. Kakulia, M.M. Minasyan,
V.V. Kuznetsova, N.A. Kozmova "Polymorphism of pro-
inflammatory interleukin genes in primary open-angle
glaucoma", Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya
Immunologiya, 2024, Vol. 26, no. 2, pp. 303-312.

doi: 10.15789/1563-0625-POP-2878

© Barycheva L.Yu. et al., 2024
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License
DOI: 10.15789/1563-0625-POP-2878

Высокое содержание $TNF\alpha$ в слезной жидкости выявлено у резидентов генотипа $308A/A$, $IL1\beta$ — генотипа $-31T/T$. Наименьшая толщина слоя нервных волокон сетчатки определялась у обладателей генотипов $TNF\alpha A308A$ и $TNF\alpha G308A$.

Ключевые слова: первичная открытоугольная глаукома, генный полиморфизм

POLYMORPHISM OF PRO-INFLAMMATORY INTERLEUKIN GENES IN PRIMARY OPEN-ANGLE GLAUCOMA

Barycheva L.Yu., Kakulia D.M., Minasyan M.M., Kuznetsova V.V., Kozmova N.A.

Stavropol State Medical University, Stavropol, Russian Federation

Abstract. Glaucoma is a degenerative disease of the optic nerve, accompanied by the death of retinal ganglion cells (RGCs) and loss of vision. An important role in the pathogenesis of glaucoma is ascribed to activated microglia, which produce pro-inflammatory interleukins and initiate GCS apoptosis. It has been established that single nucleotide polymorphisms of interleukin genes modify the development of neuroinflammation, but their effect on the risk of developing glaucoma is not yet fully established. Our aim was to determine the pathogenetic role of gene polymorphisms in $TNF\alpha$ and $IL1\beta$ in the development of primary open-angle glaucoma.

We have observed 56 patients of Russian nationality from the South of Russia with primary open-angle glaucoma (POAG), 28 patients with stage I, 16 with stage II, 12 with stage III POAG. The single nucleotide polymorphisms $TNF\alpha 308G>A$ (rs1800629) and $IL1\beta -31 T>C$ (rs1143627) were studied by restriction fragment analysis of PCR products. The level of pro-inflammatory cytokines ($TNF\alpha$ and $IL1\beta$) in the lacrimal fluid of patients with POAG was evaluated by enzyme-linked immunosorbent assay (Vector-Best test system). To perform optical coherence tomography by analysing the thickness of retinal nerve fiber layer (RNFL) with volume and area of the neuroretinal rim using Torson 3D OST 1000 apparatus.

Results: in patients with POAG, we have found more common incidence of $TNF\alpha 308A$ (OR = 5.21, $p = 0.001$), and $IL1\beta -31 T$ alleles (OR = 1.99, $p = 0.04$). An increased risk of developing POAG was found in carriers of genotypes $308A/A$ (OR = 6.30, $p = 0.049$), $308G/A$ (OR = 3.60, $p = 0.049$) and $-31T/T$ (OR = 2.67, $p = 0.04$). The highest levels of $TNF\alpha$ were determined in the $308A/A$ group (190 (153.0–220.0) pg/mL), $IL1\beta$ were in the group $(-31) T/T$ — 6.50 (4.10–7.00) pg/mL. A decreased thickness of the retinal nerve fibers was observed in the patients with $TNF\alpha G308A$ genotype (59.5; 40.0 to 78.0 μm , $p = 0.03$), and in $TNF\alpha A308A$ carriers (79.0; 65.0 to 80.0 μm , $p = 0.001$).

The $TNF\alpha 308 G/A$ (rs1800629), along with $IL1\beta, -31T/C$ (rs1143627) cytokine gene polymorphisms are associated with development of primary open-angle glaucoma. $TNF\alpha 308A$, $IL1\beta -31T$ alleles, as well as the $308G/A$, $308A/A$ and $-31T/T$ genotypes seem to be the risk factors for POAG in Russian population. High content of $TNF\alpha$ in the lacrimal fluid was found in the carriers of $308A/A$ genotype and $-31T/T$ $IL1\beta$ genotype. The lowest thickness of the retinal nerve fiber layer was observed in the carriers of $TNF\alpha A308A$ and $TNF\alpha G308A$ genotypes.

Keywords: primary open-angle glaucoma, $TNF\alpha$, $IL1\beta$, gene polymorphism

Список сокращений и терминов

ВГД — внутриглазное давление; ДНК — дезоксирибонуклеиновая кислота; НПП — нейроретинальный пояс; ОСТ — оптическая когерентная томография; ПОУГ — первичная открытоугольная глаукома; СНВС — слой нервных волокон сетчатки; CI — доверительный интервал; $IL-1\beta$, $IL-2$, $IL-6$, $IL-12$ — интерлейкины 1β , 2, 6, 12; OR (Odds ratio) — анализ шансов; RFLP analysis — анализ полиморфизма длин рестрикционных фрагментов; SNP — Single Nucleotide

Polymorphism, полиморфизм одиночных нуклеотидов; $TNF\alpha$ — фактор некроза опухолей-альфа.

Введение

Первичная открытоугольная глаукома (ПОУГ) является одной из ведущих причин слепоты во всем мире и характеризуется отсроченной диагностикой и неутешительным прогнозом [9, 15]. Показано, что нейровоспаление является одним из ключевых механизмов, способствующих

формированию глаукоматозной нейропатии [9]. Развитие воспалительного ответа, связанного с увеличением внутриглазного давления, приводит к активации различных типов клеток, таких как астроциты, микроглия, периферические лимфоциты в зрительном нерве и/или сетчатке, что сопровождается повышенной продукцией стареющими клетками воспалительных цитокинов и глаукоматозной дегенерацией [7, 19, 23, 27]. В настоящее время возрастает число исследований, посвященных влиянию полиморфизма генов цитокинов на предрасположенность к развитию первичной открытоугольной глаукомы [13]. Установлено, что отдельные полиморфизмы способствуют увеличению *TNFα* и *IL1β* в стекловидном теле, сетчатке и зрительном нерве, повышая риск развития и прогрессирования ПОУГ [6, 8]. Учитывая широкую доступность ингибиторов провоспалительных интерлейкинов, одобренных для клинического применения, дальнейшие исследования полиморфизма генов *TNFα* и *IL1β* и профиля их экспрессии в различных этнических группах при глаукоме представляют интерес.

Цель — определить патогенетическую роль полиморфизма генов *TNFα* и *IL1β* в развитии первичной открытоугольной глаукомы.

При выполнении исследования нами были поставлены вопросы:

1. Зависит ли развитие заболевания от генотипов *TNFα* и *IL1β*?
2. Влияет ли *генный полиморфизм* *TNFα* и *IL1β* на их уровень в слезной жидкости и показатели оптической когерентной томографии у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой?

Материалы и методы

Работа выполнена в дизайне продольного когортного нерандомизированного исследования случай-контроль. Исследование одобрено Локальным Этическим комитетом ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет» Минздрава России (протокол № 81 от 27.03.2019 г.).

В исследование включены 56 пациентов (32 женщины, 24 мужчины) русской национальности, проживающие в Ставропольском крае, в возрасте от 50 до 75 лет с установленным диагнозом «первичная открытоугольная глаукома», имеющие уровень ВГД > 21 мм рт. ст., степень открытия угла передней камеры — 3–4, толщину СНВС более 60, но менее 85 μm, подписавшие добровольное информированное согласие на включение в исследование.

Из исследования исключали пациентов с воспалительными или аллергическими заболеваниями переднего отрезка глаза, помутнени-

ем оптических сред, травмами глаза, наличием диабетической ретинопатии, макулярной дегенерации, а также больных, получавших иммуносупрессивные, цитостатические или генно-инженерные биологические препараты.

В группу сравнения вошли 30 пациентов (18 женщин, 12 мужчин) в возрасте от 50 до 75 лет русской национальности с миопией слабой степени, уровнем ВГД < 21 мм рт. ст., степенью открытия угла передней камеры — 3–4, толщиной слоя нервных волокон > 90 μm, отсутствием системных аутоиммунных, опухолевых заболеваний, сахарного диабета, подписавших добровольное информированное согласие на включение в исследование.

Исследование проводилось на базе офтальмологического отделения ГБУЗ СК «Ставропольская краевая клиническая больница». Диагноз устанавливали с помощью стандартных методов исследования, включая визометрию, авторефрактометрию, биомикроскопию, гониоскопию, аппланационную тонометрию, пахиметрию, оптическую когерентную томографию (ОСТ) [2].

Для определения полиморфизма генов *TNFα* и *IL1β* использовалась венозная кровь, полученная путем пункции периферических вен (1–2 мл), собранная в одноразовые пластиковые пробирки с раствором 0,5% ЭДТА.

Сбор слезной жидкости для определения содержания *TNFα* и *IL1β* проводился из нижнего слезного мениска. В течение 14 дней до выполнения исследования пациенты не применяли глазные капли, содержащие топические простагландины и глюкокортикостероиды. Слезную жидкость собирали из нижнего конъюнктивального свода с помощью стерильной микропипетки и переносили в пробирки типа «Эппендорф». Образцы центрифугировали при 10000 g для удаления слизи и клеточного детрита и хранили при температуре -20° до проведения исследования.

При выполнении работы были отобраны два гена-кандидата с учетом их непосредственного участия в патогенезе нейровоспаления при глаукоме, имеющие частоту минорного аллеля более 5% в популяции. Исследовались функциональные полиморфизмы *TNFα* 308G>A (rs1800629) и *IL1β* -31 T>C (rs1143627) в лейкоцитах периферической крови 56 пациентов с первичной открытоугольной глаукомой. Изучался характер влияния генного полиморфизма *TNFα* G308A и *IL1β* T31C на содержание *TNFα* и *IL1β* в 107 образцах слезной жидкости пациентов с ПОУГ.

Определялись показатели оптической когерентной томографии у больных с первичной открытоугольной глаукомой в зависимости от генотипов *TNFα* 308G>A и *IL1β* -31 T>C.

Оптическая когерентная томография выполнялась на аппарате Topcon 3D OCT 1000 с определением толщины слоя нервных волокон сетчатки (СНВС), объема и площади нейроретинального пояса. Применялись стандартные протоколы RNFLThickness (число А — сканов 512, диаметр прицельного круга 3,4 мм).

Для молекулярно-генетических исследований выделяли ДНК из лейкоцитов периферической крови, взятой в пробирки с 0,5% ЭДТА с применением набора реагентов «ДНК-ЭКСПРЕСС-КРОВЬ» («ЛИТЕХ», Россия). Полученные супернатанты ДНК хранили в морозильной камере при температуре -20° .

Генотипирование SNPs 308G>A (rs1800629) и IL1 β -31 T>C (rs1143627) осуществляли методом Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP analysis) с помощью многоканального амплификатора «Терцик» (ООО «ДНК-Технология», Россия) и диагностических тест-систем «SNP-экспресс» ООО НПФ «ЛИТЕХ» (Москва). Разделение продуктов амплификации проводили в 3% агарозном геле методом горизонтального электрофореза с последующей электрофоретической детекцией (Bio-Rad Laboratories, США). Для визуализации результатов электрофореза применяли 1%-ный раствор бромистого этидия, фрагменты ДНК определялись в виде оранжевых и/или красных полос.

Уровень провоспалительных цитокинов в слезной жидкости TNF α и IL-1 β у пациентов с ПОУГ исследовали посредством твердофазного иммуноферментного анализа (тест-системы АО «Вектор-Бест»). Средние показатели TNF α и IL-1 β определяли с учетом всех образцов, в том числе отрицательных.

Статистическую обработку данных выполняли с помощью лицензионных программ Statistica SPSS и Primer of Biostat 4,0. Количественные значения представляли в виде медианы и интерквартильного (25 и 75 процентиля) размаха (Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})). Для оценки межгрупповых различий применяли критерии Манна-Уитни, Ньюмена-Кейлса, Данна, χ^2 . Статистическую значимость различий в частотах аллельных вариантов и генотипов оценивалась с помощью критерия χ^2 Пирсона,

Результаты

Средний возраст пациентов составил $71,3 \pm 1,98$ года. В 28 случаях верифицирована развитая, в 16 — далекозашедшая, 12 — терминальная стадии первичной открытоугольной глаукомы.

Возрастная и гендерная структура пациентов с ПОУГ не отличалась от группы сравнения. В группе ПОУГ установлено увеличение средних показателей внутриглазного давления, уменьше-

ние толщины слоя нервных волокон сетчатки (табл. 1).

У пациентов с первичной открытоугольной глаукомой чаще, чем в группе сравнения выявлялся мутантный аллель 308A (32,1% и 8,3%, $p = 0,001$), вероятность развития заболевания у обладателей которого возростала более, чем в 5 раз, показатель отношения шансов составил 5,21 (95% CI: 1,92-14,1, $p = 0,001$) (табл. 2).

Распространенный в популяции гомозиготный по доминантному аллелю генотип G308G у пациентов с ПОУГ встречался реже, чем в группе сравнения (53,5% и 86,7% соответственно, $p = 0,003$). Увеличение риска развития ПОУГ отмечалось у резидентов гомозиготного по редкому аллелю генотипа A308A — 6,30 (95% CI: 0,77-51,9, $p = 0,049$), у гетерозигот G308A — 3,60 (95% CI: 0,96-13,6, $p = 0,049$) и в объединенной группе больных, носителей мутантного аллеля A (AA+GA — 5,85 (95% CI: 1,81-18,9, $p = 0,003$)).

При изучении генного полиморфизма IL1 β (-31 T>C) у больных с ПОУГ чаще, чем в группе сравнения найден распространенный в популяции аллель -31T (72,3% и 56,7%, $p = 0,04$) с увеличением показателей отношения шансов до 1,99 (1,04-3,86). Носительство редкого аллеля -31C имело протективный эффект (ОШ 0,50; 95% ДИ 0,26-0,97; $p = 0,04$). При анализе гаплотипов IL1 β (-31 T>C) у пациентов с ПОУГ преобладающим был гомозиготный по распространенному аллелю генотип -31T/T (57,1% и 33,3%, $p = 0,04$) с увеличением риска заболевания (OR = 2,67 (1,06-6,72)). Распространенность гомозиготного по редкому аллелю (31C/C) и гетерозиготного (-31T/C) генотипов была ниже, чем в группе сравнения, однако различия не были статистически значимы.

Для оценки влияния полиморфизмов генов TNF α и IL1 β на их уровень в слезной жидкости исследовано 107 образцов слезной жидкости пациентов с ПОУГ (с развитой стадией — 56 проб, далекозашедшей — 30, терминальной — 21). TNF α определялся в 95,4% образцов слезной жидкости у пациентов с ПОУГ, что было чаще, чем в группе сравнения — 85,7%, $p = 0,01$. Выявлено статистически значимое увеличение содержания TNF α до 94 (45-165) пкг/мл у пациентов с ПОУГ по отношению к группе сравнения — 32 (14-66) пкг/мл, $p = 0,001$. Установлено влияние полиморфизма гена TNF α (308) G>A на его содержание в слезной жидкости при первичной открытоугольной глаукоме. У респондентов редкого аллеля 308A и обладателей генотипов 308G/A + 308A/A отмечено увеличение содержания TNF α в слезной жидкости — 49 (14,0-90,0) пкг/мл по сравнению с пациентами, имеющими генотип 308G/G (165 (112,5-193,5) пкг/мл), $p = 0,001$ (рис. 1).

ТАБЛИЦА 2. РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ЧАСТОТ АЛЛЕЛЕЙ И ГЕНОТИПОВ $TNF\alpha$ (308) G>A И $IL1\beta$ (-31) T>C У БОЛЬНЫХ С ПЕРВИЧНОЙ ОТКРЫТОУГОЛЬНОЙ ГЛАУКОМОЙ

TABLE 2. FREQUENCY DISTRIBUTION OF ALLELES AND GENOTYPES OF $TNF\alpha$ (308) G>A AND $IL1\beta$ (-31) T>C IN PATIENTS WITH PRIMARY OPEN-ANGLE GLAUCOMA

Аллели / генотип Alleles / genotype	ПОУГ POAG (n = 56)	Группа сравнения Comparison group (n = 30)	χ^2	OR (95% CI)
$TNF\alpha$ (308) G>A				
G	76/112 (67,9%)	55/60 (91,7%)	p = 0,001	0,19 (0,07-0,52)
A	36/112 (32,1%)	5/60 (8,3%)	p = 0,001	5,21 (1,92-14,10)
GG	30/56 (53,5%)	26/30 (86,7%)	p = 0,003	0,13 (0,04-0,41)
GA	16/56 (28,6%)	3/30 (10%)	p = 0,049	3,60 (0,96-13,60)
AA	10/56 (17,8%)	1/30 (3,3%)	p = 0,049	6,30 (0,77-51,90)
AA+GA	26/56 (46,4%)	4/30 (13,3%)	p = 0,003	5,85 (1,81-18,90)
$IL1\beta$ (-31) T>C				
T	81/112 (72,3%)	34/60 (56,7%)	p = 0,04	1,99 (1,04-3,86)
C	31/112 (27,7%)	26/60 (43,3%)	p = 0,04	0,50 (0,26-0,97)
TT	32/56 (57,1%)	10/30 (33,3%)	p = 0,04	2,67 (1,06-6,72)
TC	17/56 (30,4%)	14/30 (46,7%)	p = 0,13	0,50 (0,19-1,25)
CC	7/56 (12,5%)	6/30 (20,0%)	p = 0,36	0,61 (0,17-1,89)
TT+TC	49/56 (87,5%)	24/30 (80,0%)	p = 0,36	1,75 (0,53-5,78)

Примечание. ПОУГ – первичная открытоугольная глаукома, p – статистическая значимость различий по сравнению с группой сравнения (критерий χ^2 Пирсона), OR – отношение шансов, CI – 95%-ный доверительный интервал.

Note. POAG, primary open-angle glaucoma; p, statistical significance of differences compared with the comparison group (Pearson's χ^2 test); OR, odds ratio; CI, 95% confidence interval

ТАБЛИЦА 1. ДЕМОГРАФИЧЕСКИЕ И КЛИНИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ СУБЪЕКТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

TABLE 1. DEMOGRAPHIC AND CLINICAL FEATURES OF STUDY SUBJECTS

	ПОУГ POAG (n = 56)	Группа сравнения Comparison group (n = 30)	p
Пол (м/ж), % Sex (m/w)	42,9/57,1	40,0/60,0	p = 0,79
Возраст (M±m), лет Mean age, years	70,10±0,75	70,30±0,96	p = 0,41
ВГД, мм рт.ст. Intraocular pressure, mmHg	24 (20,0-27,5)	19 (17-20)	p = 0,001
Толщина СНВС, мкм RNFL thickness, mkm	79 (61-87)	106,5 (99-119)	p = 0,001
Объем НРП, мм³ Volume neuroretinal rim, mm³	0,31 (0,21-0,52)	0,33 (0,30-0,39)	p = 0,34
Площадь НРП, мм² Area neuroretinal rim, mm²	0,31 (0,21-0,52)	2,12 (1,70-1,23)	p = 0,50

Примечание. ПОУГ – первичная открытоугольная глаукома, ВГД – внутриглазное давление, СНВС – слой нервных волокон сетчатки, НРП – нейроретинальный пояс, p – статистическая значимость различий по сравнению с группой сравнения (критерий χ^2 , Манна–Уитни).

Note. POAG, primary open-angle glaucoma; RNFL, retinal nerve fiber layer; p, statistical significance of differences compared with the comparison group (χ^2 test, Mann–Whitney).

Показатели $TNF\alpha$ были значительно выше в группе 308A/A (190 (153,0-220,0) пкг/мл), статистически значимые различия определялись по сравнению с генотипами 308G/A (132 (98,0-180,0) пкг/мл), $p = 0,01$ и 308G/G (49 (14,0-90,0) пкг/мл), $p = 0,001$ (рис. 1).

Частота выявления IL-1 β в слезной жидкости у пациентов с первичной открытоугольной гла-

укомой составила 94,4%, в группе сравнения – 73,8%, $p < 0,001$. Средние показатели у пациентов с ПОУГ равнялись 4,30 (1,85-6,70) пкг/л, что было выше, чем в группе сравнения – 2,15 (0,0-3,70) пкг/л, $p = 0,001$.

Выявлена взаимосвязь носительства аллеля -31T и содержания IL-1 β в слезной жидкости при ПОУГ. У обладателей генотипов T/T+C/T пока-

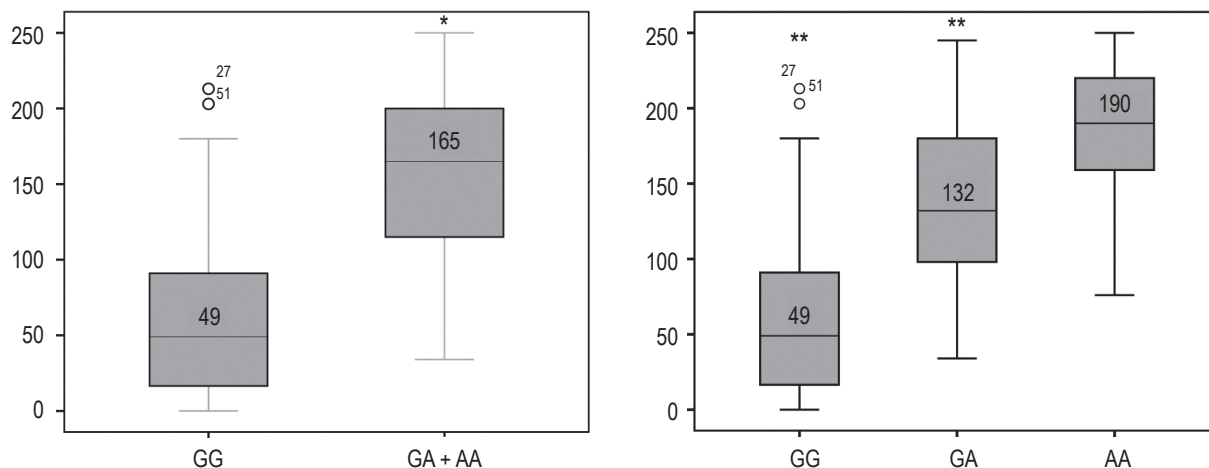


Рисунок 1. Влияние полиморфизма гена $TNF\alpha$ (308) G>A на уровень $TNF\alpha$ в слезной жидкости у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой

Примечание: * – $p < 0,05$, статистическая значимость различий по сравнению с группой GG (критерий Манна–Уитни);

** – $p < 0,05$, статистическая значимость различий по сравнению с группой AA (критерий Ньюмена–Кейлса, Данна).

Figure 1. Effect of $TNF\alpha$ (308) G>A gene polymorphism on the level of $TNF\alpha$ in lacrimal fluid in patients with primary open-angle glaucoma

Note. *, $p < 0.05$, statistical significance of differences compared to the GG group (Mann–Whitney test); **, $p < 0.05$, statistical significance of differences compared to the AA group (Newman–Keuls, Dunn test).

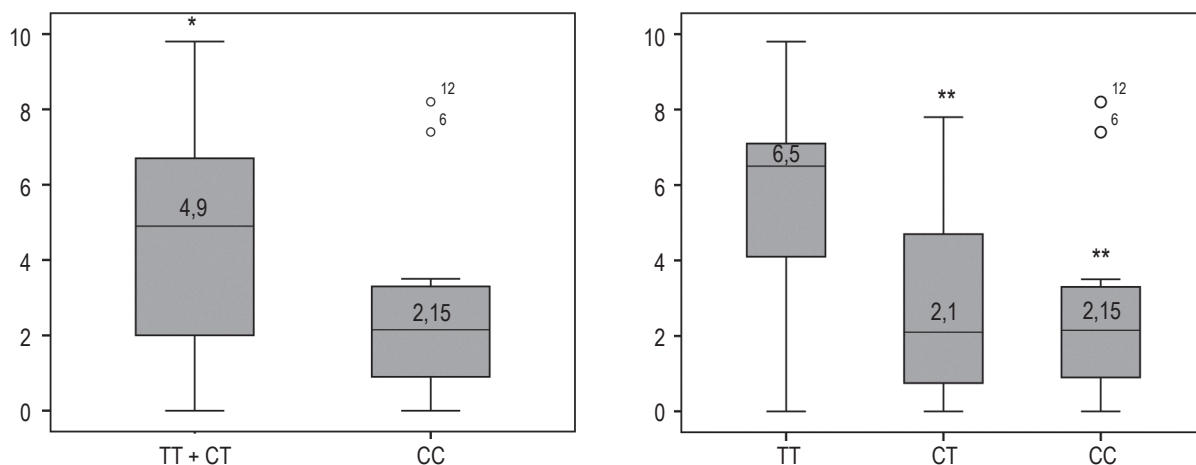


Рисунок 2. Влияние полиморфизма гена $IL1\beta$ T>C на уровень $IL1\beta$ в слезной жидкости у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой

Примечание. * – $p < 0,05$, статистическая значимость различий по сравнению с группой CC (критерий Манна–Уитни);

** – $p < 0,05$, статистическая значимость различий по сравнению с группой TT (критерий Ньюмена–Кейлса, Данна).

Figure 2. Effect of T>C $IL1\beta$ gene polymorphism on the level of $IL1\beta$ in lacrimal fluid in patients with primary open-angle glaucoma

Note. *, $p < 0.05$, statistical significance of differences compared to the SS group (Mann–Whitney test); **, $p < 0.05$, statistical significance of differences compared to the TT group (Newman–Keuls, Dunn test).

затели *IL1β* составили 4,90 (2,006,70) пкг/мл, что было существенно выше, чем у респондентов рецессивного генотипа *-31 C/C* – 2,15 (0,90–3,30) пкг/мл, $p = 0,02$ (рис. 2). Максимальные значения определялись у гомозигот по распространенному аллелю (*-31 T/T* – 6,50 (4,10–7,00) пкг/мл. Статистически значимые различия получены при сравнении с генотипом *T/C* 2,10 (0,70–4,20) пкг/мл, $p = 0,001$ и *C/C* 2,15 (0,90–3,30) пкг/мл, $p = 0,001$ (рис. 2).

У респондентов аллеля *TNFα 308A* и обладателей генотипов *GA+AA* показатели *CHBC* составили 67 (43,0–80,0) мкм и были существенно ниже, чем у носителей генотипа *GG* – 96 (81,0–101,0) мкм, $p = 0,001$.

Статистически значимые различия по сравнению с генотипом *GG* установлены для генотипа *G308A* – 59,5 (40,0–78,0), $p = 0,03$ и *A308A* – 79,0 (65,0–80,0) мкм, $p = 0,001$.

Толщина слоя нервных волокон у обладателей аллеля *IL1β -31T* (*TT+TC*) составила 80 (65,0–96,0) мкм, у носителей *CC* (*rs1143627*) – 90,5 (46,0–99,0) мкм, однако различия не были статистически значимы.

Обсуждение

У пациентов с первичной открытоугольной глаукомой русской национальности выявлено преобладание редкого аллеля *TNFα 308A* и генотипов *G308A* и *A308A*, а также распространенного аллеля *IL1β -31T* и генотипа *-31 T/T*. Наиболее высокие показатели *TNFα* определялись у пациентов с генотипом *308A/A*, *IL1β -31T/T*.

В современных исследованиях показана ключевая роль *TNFα* в иммунопатологических процессах, связанных с ишемией сетчатки, повреждением нейронов, увеличением уровня внутриглазного давления и регенерацией тканей [23]. Установлено увеличение *TNFα* в стекловидном теле, сетчатке и зрительном нерве при глаукоме, способное индуцировать апоптоз ганглиозных клеток посредством нескольких механизмов, включая митохондриальную дисфункцию, окислительный стресс и рецептор-опосредованную активацию каспаз [17, 23].

Увеличение уровня *TNFα* во внутриглазной жидкости, слезах, сыворотке крови позволяет считать его потенциальным биомаркером глаукомы и критерием ее тяжести [11, 14, 18, 24].

Ранее сообщалось о том, что SNP *308G>A* (*rs1800629*) выше промоторного сайта вызывает увеличение экспрессии *TNFα* и положительно коррелирует с развитием первичной открытоугольной глаукомы в популяциях Турции, Египта и Ирана [12, 16, 22].

В исследовании Е. Тикуновой и соавт. на корте пациентов Центральной России связь по-

лиморфизма *G308A* (*rs1800629*) с ПОУГ не была подтверждена [25]. В метаанализе Yu Q.Q. и соавт. показано, что полиморфизмы *TNF-308G/A* в отличие от *-238G/A*, *-863C/A* и *-857C/T* в значительной степени связаны с развитием первичной открытоугольной глаукомы высокого давления [29]. По данным Шевченко А.В. и соавт., частота минорного генотипа *TNF-308*AA* была достоверно выше у больных с ПОУГ европеоидного происхождения, проживающих в Западной Сибири [5], что согласуется с полученными нами данными.

Интерлейкин-1β является ключевым фактором прогрессирования глаукомы, способным инициировать продукцию других цитокинов, а также матриксных металлопротеиназ и молекул адгезии [7, 28]. Высокие показатели экспрессии *IL1β* обнаружены в слезах, внутриглазной жидкости [1, 3, 4, 11], что совпадает с полученными в настоящем исследовании данными. Ранее установлено, что SNP *IL1β -31T/C* локализован в промоторной области и нуклеотидная замена на аллель *-31T* приводит к аллель-специфическому изменению экспрессии гена в связи с высоким связыванием ядерных белков [10, 21, 28]. Отмечена высокая продукция *IL1β* в присутствии аллеля *-31T* [28].

Полученные нами результаты совпадают с данными других исследований, свидетельствующих о том, что генный полиморфизм *IL1β -31T/C* увеличивает риск развития первичной открытоугольной глаукомы [21].

К ограничениям настоящего исследования следует отнести небольшой объем выборки пациентов, а также необходимость подтверждения полученных результатов в других этнических группах. Кроме того, мы изучали небольшое число полиморфизмов провоспалительных интерлейкинов *TNFα* и *IL-1β* и не учитывали активность других молекул, способных взаимодействовать с промоторной областью генов *TNFα* и *IL1β*.

Заключение

Высокая реактивность глиальных клеток при глаукоме характеризуется повышенной продукцией провоспалительных интерлейкинов, таких как *TNFα*, *IL-1β*, *IL-6*, *IL-12*, *IL-2* и хемокинов, действующих в качестве эффекторов воспалительной нейротоксичности [26]. Установлено, что генетически детерминированные различия продукции интерлейкинов могут влиять на предрасположенность к развитию нейровоспаления и глаукоматозной нейропатии [6, 8, 20]. В настоящем исследовании показано, что полиморфизмы генов *TNFα 308G/A* (*rs1800629*) и *IL1β -31T/C* (*rs1143627*) взаимосвязаны с развитием первич-

ной открытоугольной глаукомы. Факторами риска ПОУГ у пациентов русской национальности Юга России являются аллели *TNFα 308A*, *IL1β -31T*, а также генотипы *308G/A*, *308A/A* и *-31T/T*. Высокая продукция *TNFα* в слезной жидкости при первичной открытоугольной глаукоме является у пациентов с генотипом *308A/A*, *IL1β* — обладателей *-31T/T*.

Благодарности

Авторы выражают благодарность директору ФКУЗ «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора, академику РАН, доктору медицинских наук, профессору Куличенко А.Н. за помощь в организации исследования.

Источник финансирования

Авторы заявляют об отсутствии финансовой поддержки настоящей статьи.

Участие авторов

Концепция и дизайн исследования, интерпретация полученных результатов, написание текста статьи — Барычева Л.Ю.

Выполнение исследования, сбор и объединение данных, статистическая обработка и интерпретация полученных результатов — Какулия Д.М., Кузнецова В.В., Козьмова Н.А.

Статистическая обработка полученных результатов — Минасян М.М.

Все авторы прочли и одобрили финальную версию статьи перед публикацией.

Список литературы / References

1. Агарков Н.М., Чухраев А.М., Яблокова Н.В. Диагностика и прогнозирование первичной открытоугольной глаукомы по уровню местных цитокинов // Медицинская иммунология, 2019. Т. 21, № 6. С. 1163-1168. [Agarkov N.M., Chukhraev A.M., Yablokova N.V. Diagnosis and prediction of primary open-angle glaucoma by the level of local cytokine. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2019, Vol. 21, no. 6, pp. 1163-1168. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2019-6-1163-1168.
2. Егоров Е.А. Глаукома. Национальное руководство. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2014. 824 с. [Egorov E.A. Glaucoma. Glaucoma. National guidelines]. Moscow: GEOTAR-Media, 2014. 824 p.
3. Чередниченко Л.П., Барычева Л.Ю., Берновская А.А. Значение провоспалительных цитокинов в развитии первичной открытоугольной глаукомы // Медицинский вестник Северного Кавказа, 2013. Т. 8, № 2. С. 52-54. [Cherednichenko L.P., Barycheva L.Yu., Bernovskaya A.A. Cytokine profile in patients with initial manifestations of primary open-angle glaucoma. *Meditsinskiy vestnik Severnogo Kavkaza = Medical News of the North Caucasus*, 2013, Vol. 8, no. 2, pp. 52-54. (In Russ.)]
4. Чередниченко Л.П., Барычева Л.Ю., Берновская А.А. Цитокиновый профиль у пациентов с начальными проявлениями первичной открытоугольной глаукомы // Российская педиатрическая офтальмология, 2013. № 1. С. 38-42. [Cherednichenko L.P., Barycheva L.Yu., Bernovskaya A.A. Cytokine profile in patients with initial manifestations of primary open-angle glaucoma. *Rossiyskaya pediatricheskaya oftalmologiya = Russian Pediatric Ophthalmology*, 2013, no. 1, pp 38-42. (In Russ.)]
5. Шевченко А.В., Прокофьев В.Ф., Коненков В.И., Еремина А.В., Трунов А.Н., Черных В.В. Ассоциация промоторного полиморфизма гена *TNF-α* с первичной открытоугольной глаукомой // Клиническая офтальмология, 2022. Т. 22, № 1. С. 11-15. [Shevchenko A.V., Prokof'ev V.F., Konenkov V.I., Eremina A.V., Trunov A.N., Chernykh V.V. Association of *TNF-α* gene promoter polymorphism with primary open-angle glaucoma. *Klinicheskaya oftalmologiya = Russian Journal of Clinical Ophthalmology*, 2022, Vol. 22, no. 1, pp. 11-15. (In Russ.)]
6. Aboobakar I.F., Wiggs J.L. The genetics of glaucoma: Disease associations, personalised risk assessment and therapeutic opportunities-A review. *J. Clin Exp. Ophthalmol.*, 2022, Vol. 50, no. 2, pp. 143-162.
7. Adornetto A., Russo R., Parisi V. Neuroinflammation as a target for glaucoma therapy. *Neural Regen. Res.*, 2019, Vol. 14, no. 3, pp. 391-394.
8. Atanasovska Velkovska M., Goričar K., Blagus T., Dolžan V., Cvenkel B. Association of genetic polymorphisms in oxidative stress and inflammation pathways with glaucoma risk and phenotype. *Clin. Med.*, 2021, Vol. 10, no. 5, 1148. doi: 10.3390/jcm10051148.
9. Baudouin C., Kolko M., Melik-Parsadaniantz S., Messmer E.M. Inflammation in Glaucoma: From the back to the front of the eye, and beyond. *Prog. Retin Eye Res.*, 2021, Vol. 83, 100916. doi: 10.1016/j.preteyeres.2020.100916.
10. Behzadi P., Sameer A.S., Nissar S., Banday M.Z., Gajdacs M., García-Perdomo H.A., Akhtar K., Pinheiro M., Magnusson P., Sarshar M., Ambrosi C. The Interleukin-1 (IL-1) superfamily cytokines and their single nucleotide polymorphisms (SNPs). *Immunol Res.*, 2022, Vol. 2022, 2054431. doi: 10.1155/2022/2054431.
11. Benitez-Del-Castillo J., Cantu-Dibildox J., Sanz-González S.M., Zanón-Moreno V., Pinazo-Duran M.D. Cytokine expression in tears of patients with glaucoma or dry eye disease: A prospective, observational cohort study. *Eur. J. Ophthalmol.*, 2019, Vol. 29, no. 4, pp. 437-443.
12. Bozkurt B., Mesci L., Irkeç M., Ozdag B.B., Sanal O., Arslan U., Ersoy F., Tezcan I. Association of tumour necrosis factor-α -308 G/A polymorphism with primary open-angle glaucoma. *Clin. Exp. Ophthalmol.*, 2012, Vol. 40, no. 4, pp. e156-162.

13. Burgos-Blasco B., Vidal-Villegas B., Saenz-Frances F., Morales-Fernandez L., Perucho-Gonzalez L., Garcia-Feijoo J., Martinez-de-la-Casa J.M. Tear and aqueous humour cytokine profile in primary open-angle glaucoma. *Acta Ophthalmol.*, 2020, Vol. 98, no. 6, pp. e768-e772.
14. Hamid M.A., Moemen L., Labib H., Helmy H., Elsergany T. Risk of open angle glaucoma due to tumor necrosis factor alpha gene polymorphisms. *Electron. Physician*, 2016, Vol. 8, no. 2, pp. 1978-1983.
15. Csósz É., Deák E., Tóth N., Traverso C.E., Csutak A., Tözsér J. Comparative analysis of cytokine profiles of glaucomatous tears and aqueous humour reveals potential biomarkers for trabeculectomy complication. *FEBS Open Bio*, 2019, Vol. 9, no. 5, pp. 1020-1028.
16. Fernández-Vega Cueto A., Álvarez L., García M., Álvarez-Barrios A., Artime E., Fernández-Vega Cueto L., Coca-Prados M., González-Iglesias H. Candidate glaucoma biomarkers: from proteins to metabolites, and the pitfalls to clinical applications. *Biology (Basel)*, 2021, Vol. 10, no. 8, 763. doi: 10.3390/biology10080763.
17. Jung Y., Ohn K., Shin H., Oh S.E., Park C.K., Park H.L. Factors associated with elevated tumor necrosis factor- α in aqueous humor of patients with open-angle glaucoma. *Clin. Med.*, 2022, Vol. 11, no. 17, 5232. doi: 10.3390/jcm11175232.
18. Kondkar A.A., Sultan T., Almobarak F.A., Kalantan H., Al-Obeidan S.A., Abu-Amro K.K. Association of increased levels of plasma tumor necrosis factor alpha with primary open-angle glaucoma. *Clin. Ophthalmol.*, 2018, Vol. 12, pp. 701-706.
19. Lambuk L., Suhaimi N.A.A., Sadikan M.Z., Jafri A.J.A., Ahmad S., Nasir N.A.A., Uskoković V., Kadir R., Mohamud R. Nanoparticles for the treatment of glaucoma-associated neuroinflammation. *Eye Vis. (Lond.)*, 2022, Vol. 9, no. 1, 26. doi: 10.1186/s40662-022-00298-y.
20. Núñez G., Sakamoto K., Soares M.P. Innate nutritional immunity. *J. Immunol.*, 2018, Vol. 201, no. 1, pp. 11-18.
21. Oliveira M.B., de Vasconcellos J.P.C., Ananina G., Costa V.P., de Melo M.B. Association between IL1A and IL1B polymorphisms and primary open angle glaucoma in a Brazilian population. *Exp. Biol. Med. (Maywood)*, 2018, Vol. 243, no. 13, pp. 1083-1091.
22. Razeghinejad M.R., Rahat F., Kamali-Sarvestani E. Association of TNFA -308 G/A and TNFRI +36 A/G gene polymorphisms with glaucoma. *Ophthalmic Res.*, 2009, Vol. 42, no. 3, pp. 118-124.
23. Tezel G. Molecular regulation of neuroinflammation in glaucoma: Current knowledge and the ongoing search for new treatment targets. *Prog. Retin. Eye Res.*, 2022, Vol. 87, 100998. doi: 10.1016/j.preteyeres.2021.100998.
24. Tezel G. Multiplex protein analysis for the study of glaucoma. *Expert Rev. Proteomics*, 2021, Vol. 18, no. 10, pp. 911-924.
25. Tikunova E., Ovtcharova V., Reshetnikov E., Dvornyk V., Polonikov A., Bushueva O., Churnosov M. Genes of tumor necrosis factors and their receptors and the primary open angle glaucoma in the population of Central Russia. *Int. J. Ophthalmol.*, 2017, Vol. 10, no. 10, pp. 1490-1494.
26. Vidal-Villegas B., Burgos-Blasco B., Santiago Alvarez J.L., Espino-Paisan L., Fernández-Vigo J., Andrés-Guerrero V., García-Feijoo J., Martínez-de-la-Casa J.M. Proinflammatory cytokine profile differences between primary open-angle and pseudoexfoliative glaucoma. *Ophthalmic Res.*, 2022, Vol. 65, no. 1, pp. 111-120.
27. Wei X., Cho K.S., Thee E.F., Jager M.J., Chen D.F. Neuroinflammation and microglia in glaucoma: time for a paradigm shift. *J. Neurosci Res.*, 2019, Vol. 97, no. 1, pp. 70-76.
28. Wooff Y., Man S.M., Aggio-Bruce R., Natoli R., Fernando N. IL-1 family members mediate cell death, inflammation and angiogenesis in retinal degenerative diseases. *Front. Immunol.*, 2019, Vol. 10, 1618. doi: 10.3389/fimmu.2019.01618.
29. Yu Q.Q., Yao Y. A detailed meta-analysis shows no association between TNF- α -308G/A polymorphism and different forms of glaucoma. *Ophthalmic Res.*, 2012, Vol. 47, no. 1, pp. 47-51.

Авторы:

Барычева Л.Ю. — д.м.н., профессор, заведующая кафедрой иммунологии с курсом дополнительного профессионального образования ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Ставрополь, Россия

Какулия Д.М. — аспирант кафедры иммунологии с курсом дополнительного профессионального образования ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Ставрополь, Россия

Authors:

Barycheva L. Yu., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Department of Immunology with a Course of Continuing Professional Education, Stavropol State Medical University, Stavropol, Russian Federation

Kakulia D.M., Postgraduate Student, Department of Immunology with a Course of Continuing Professional Education, Stavropol State Medical University, Stavropol, Russian Federation

Минасян М.М. — к.м.н., доцент кафедры иммунологии с курсом дополнительного профессионального образования ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Ставрополь, Россия

Кузнецова В.В. — ассистент кафедры иммунологии с курсом дополнительного профессионального образования ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Ставрополь, Россия

Козьмова Н.А. — аспирант кафедры иммунологии с курсом дополнительного профессионального образования ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Ставрополь, Россия

Minasyan M.M., PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Immunology with a Course of Continuing Professional Education, Stavropol State Medical University, Stavropol, Russian Federation

Kuznetsova V.V., Assistant Professor, Department of Immunology with a Course of Continuing Professional Education, Stavropol State Medical University, Stavropol, Russian Federation

Kozmova N.A., Postgraduate Student, Department of Immunology with a Course of Continuing Professional Education, Stavropol State Medical University, Stavropol, Russian Federation

Поступила 02.06.2023
Отправлена на доработку 07.07.2023
Принята к печати 04.10.2023

Received 02.06.2023
Revision received 07.07.2023
Accepted 04.10.2023