

Т.В. Гаврилова¹, А.Р. Кинкулькина^{2, 3},
 А.С. Авагян², А.В. Поддубиков², М.В. Черешнева⁴,
 М.Н. Шатохин⁵, О.А. Свитич^{2, 3}



¹Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера, Пермь, Российская Федерация

²Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова,
Москва, Российская Федерация

³Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова
(Сеченовский Университет), Москва, Российская Федерация

⁴Институт иммунологии и физиологии Уральского отделения Российской академии наук,
Екатеринбург, Российская Федерация

⁵Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования, Москва, Российская Федерация

Ассоциация полиморфных маркеров в генах *EDNRB* и *NLRP3* с риском развития различных стадий первичной открытоугольной глаукомы у жителей Пермского края

33

Обоснование. Первичная открытоугольная глаукома (ПОУГ) занимает ведущее место среди причин снижения зрения и слепоты. По данным литературы, иммунопатогенез ПОУГ связан с воспалительными процессами, в развитии которых участвуют факторы врожденного иммунитета. В единичных статьях развитие этой патологии связывают с инфламмасомой *NLRP3* и кислородным взрывом. Однако практически нет исследований, где раскрываются вопросы взаимообусловливающего влияния инфламмасомы и факторов, участвующих в процессе окислительного стресса и эндотелиальной дисфункции. Цель исследования — изучение ассоциации полиморфных маркеров *rs5351* гена *EDNRB*, *rs7525979* гена *NLRP3* при различных стадиях ПОУГ. **Методы.** Использована периферическая кровь 141 пациента с ПОУГ и 97 пациентов с катарактой. После выделения ДНК проводили полимеразную цепную реакцию в режиме реального времени. Частоту встречаемости аллелей и генотипов в исследуемых группах рассчитывали при помощи критерия χ^2 , точного критерия Фишера и критерия Манна–Уитни. Статистически значимыми были приняты результаты с $p \leq 0,05$. При введении поправки на множественные сравнения для количественной оценки связи между возникновением ПОУГ у пациентов и носительством неблагоприятного полиморфного маркера были рассчитаны отношение шансов и 95%-й доверительный интервал. **Результаты.** Среди пациентов основной группы в зависимости от стадии ПОУГ выделено четыре подгруппы. Относительно группы сравнения аллель *T* и гетерозиготный генотип полиморфного маркера *rs7525979 NLRP3* были ассоциированы с риском возникновения ПОУГ, усугубляя I и IV стадии заболевания, при этом гомозиготный генотип *CC* играл протективную роль, особенно в отношении I и IV стадий ПОУГ. Аллель *C* был ассоциирован с ПОУГ IV стадии и играл протективную роль для пациентов с ПОУГ II стадии. Аллель *A rs5351 EDNRB* играл протективную роль для пациентов с ПОУГ, гомозиготный генотип *GG* был ассоциирован с риском развития ПОУГ, гетерозиготный генотип играл протективную роль. Гомозиготный генотип *AA* увеличивал риск развития ПОУГ I стадии, гомозиготный генотип *GG* увеличивал риск развития ПОУГ IV стадии. **Заключение.** Аллели и генотипы генов *EDNRB* и *NLRP3* могут рассматриваться как факторы, влияющие на вероятность возникновения ПОУГ. В настоящей работе мы изучили два полиморфных маркера в двух генах факторов врожденного иммунитета и выявили, что они ассоциированы с развитием ПОУГ, а некоторые из них также ассоциированы с определенной стадией ПОУГ. Эти данные могут быть использованы с диагностической целью в качестве прогностических маркеров и при разработке иммуномодулирующей терапии для профилактики развития ПОУГ и прогрессивного течения данного заболевания.

Ключевые слова: глаукома, инфламмасома, окислительный стресс, врожденный иммунитет, воспаление

Для цитирования: Гаврилова Т.В., Кинкулькина А.Р., Авагян А.С., Поддубиков А.В., Черешнева М.В., Шатохин М.Н., Свитич О.А. Ассоциация полиморфных маркеров в генах *EDNRB* и *NLRP3* с риском развития различных стадий первичной открытоугольной глаукомы у жителей Пермского края. *Вестник РАМН*. 2025;80(1):33–41. doi: <https://doi.org/10.15690/vramn17447>

Обоснование

Глаукома является нейродегенеративным заболеванием и ведущей причиной необратимой слепоты во всем мире. По данным государственной статистики, в Российской Федерации в 2022 г. зарегистрировано 1 249 617 пациентов с глаукомой. В течение длительного периода глаукома стабильно занимает первое место среди причин инвалидности по зрению [1, 2]. По мнению некоторых ав-

торов, ожидаемая распространенность глаукомы в стране к 2025 г. составит от 1202,1 тыс. до 1408,5 тыс. (минимальный и максимальный прогнозы) на 100 тыс. взрослого населения [3–5]. Во всем мире глаукомой страдают более 70 млн человек. По оценкам Всемирной организации здравоохранения, к 2040 г. распространенность глаукомы в мире увеличится до 111,8 млн [6]. Наиболее распространенный тип глаукомы — первичная открытоугольная глаукома (ПОУГ) [7]. У большого числа пациентов с глау-

комой наблюдается повышенное внутриглазное давление (ВГД) — более 21 мм рт. ст., однако у 30–40% пациентов с ПОУГ этот показатель находится в пределах нормы, указывая на то, что существуют другие факторы риска развития данной патологии [8, 9].

Окислительный стресс имеет решающее значение для инициации и нарушения регуляции иммунной активности при глаукоматозной дегенерации. Окислительный процесс и выработка активных форм кислорода регулируют иммунный ответ, стимулируя способность глиальных клеток представлять антиген и увеличивая выработку конечных продуктов расширенного гликирования, которые модулируют клеточную функцию посредством связывания специфических рецепторов [9, 10].

Эндотелин-1 (EDN1) является известным мощным сосудосуживающим веществом, состоящим из 21 аминокислоты, и вырабатывается в эндотелиальных клетках [11–13]. Биологический эффект EDN1 опосредован через два подтипа рецепторов — тип А (EDNRA) и тип В (EDNRB) [12]. EDNRA в основном локализуется в клетках гладкой мускулатуры сосудов, а EDNRB экспрессируется в клетках гладкой мускулатуры сосудов и эндотелиальных клетках. Рецепторы EDN в клетках гладкой мускулатуры сосудов отвечают за сосудосуживающий эффект, тогда как EDNRB в эндотелиальных клетках — за сосудорасширяющий эф-

фект, стимулируя выработку оксида азота (NO) [11, 12]. NO действует как мощное сосудорасширяющее средство и синтезируется в процессе превращения L-аргинина в L-цитруллин NO-сигназами (NOS) [14].

В последние годы появляется все больше работ о том, что NO играет важную роль в регуляции кровообращения микроциркуляторного русла внутренних оболочек глаза и диска зрительного нерва. По данным литературы, у больных с ПОУГ наблюдаются дисрегуляция и нарушение синтеза оксида азота. Некоторые авторы выявили динамику изменения содержания NO в зависимости от стадии заболевания и пола. Отмечено его повышение на начальных стадиях и снижение на поздних. Установлено также повышение при ПОУГ уровня NO в слезе, водянистой влаге и сыворотке крови у женщин по сравнению с мужчинами [15–17].

В ранее проведенных нами исследованиях изучалась ассоциация полиморфизма гена *eNOS* с риском развития ПОУГ. Анализ полученных данных свидетельствует об изменении частоты встречаемости аллелей и генотипов в гене *eNOS* при ПОУГ [18]. Кроме того, эти изменения коррелировали в зависимости от стадии заболевания [19].

В последнее время в литературе все больше появляется данных о взаимосвязи оксидативного стресса с патогенезом воспаления при различных заболеваниях. Так,

T.V. Gavrilova¹, A.R. Kinkulkina^{2, 3}, A.S. Avagyan², A.V. Poddubikov²,
M.V. Chereshneva⁴, M.N. Shatokhin⁵, O.A. Svitich^{2, 3}

¹Academician E.A. Vagner Perm State Medical University, Perm, Russian Federation

²I.M. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation

³I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russian Federation

⁴Institute of Immunology and Physiology of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences,
Ekaterinburg, Russian Federation

⁵Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Moscow, Russian Federation

Association of Polymorphic Markers in *EDNRB* and *NLRP3* Genes with the Risk of Developing Various Stages of Primary Open-Angle Glaucoma in Residents of the Perm Region

Background. Primary open-angle glaucoma (POAG) occupies a leading place among the causes of vision loss and blindness. According to the literature, the immunopathogenesis of POAG is associated with inflammatory processes, the development of which involves factors of innate immunity. In isolated articles, the development of this pathology is associated with NLRP3 inflammasome and oxygen explosion. However, there are practically no studies that reveal the issues of the mutually conditioning effect of the inflammasome and the factors involved in the process of oxidative stress and endothelial dysfunction. **Aims** — to study the association of polymorphic markers rs5351 of the *EDNRB* gene, rs7525979 of the *NLRP3* gene at various stages of primary open-angle glaucoma. **Methods.** Peripheral blood of 141 patients with POAG and 97 patients with cataract was used. After DNA isolation, a polymerase chain reaction was performed in real time. The frequency of occurrence of alleles and genotypes in the study groups was calculated using the χ^2 criterion, the Fisher exact criterion and the Mann–Whitney criterion. The results with $p < 0.05$ were considered statistically significant. To quantify the relationship between the occurrence of POAG in patients and the carrier of an unfavorable polymorphic marker, the odds ratio and 95% confidence interval were calculated. **Results.** The main group and the comparison group were identified. Among the patients of the main group, depending on the stage of POAG, 4 subgroups were identified. Relative to the comparison group, the T allele and the heterozygous genotype of the polymorphic marker rs7525979 *NLRP3* were associated with the risk of POAG, aggravating the I and IV stages of the disease, while the homozygous CC genotype played a protective role, especially with respect to the I and IV stages of POAG. The C allele was associated with stage IV OAG and played a protective role for patients with stage II OAG. Allele A rs5351 *EDNRB* played a protective role for patients with POAG, homozygous genotype GG was associated with the risk of POAG, heterozygous genotype played a protective role. Homozygous genotype AA increased the risk of developing stage I POAG, homozygous genotype GG increased the risk of stage IV POAG. **Conclusions.** alleles and genotypes of the *EDNRB* and *NLRP3* genes can be considered as factors affecting the probability of occurrence of POAG. In this paper, we studied 2 polymorphic markers in 2 genes of innate immunity factors and found that they are associated with the development of POAG, as well as some of them are associated with a certain stage of POAG. These data can be used for diagnostic purposes as prognostic markers and in the development of immunomodulatory therapy for the prevention of POAG development and the progressive course of this disease.

Keywords: glaucoma, inflammasome, oxidative stress, innate immunity, inflammation

For citation: Gavrilova TV, Kinkulkina AR, Avagyan AS, Poddubikov AV, Chereshneva MV, Shatokhin MN, Svitich OA. Association of Polymorphic Markers in *EDNRB* and *NLRP3* Genes with the Risk of Developing Various Stages of Primary Open-Angle Glaucoma in Residents of the Perm Region. Annals of the Russian Academy of Medical Sciences. 2025;80(1):33–41. doi: <https://doi.org/10.15690/vramn17447>

P.R. Nunes et al. (2022) в своем исследовании показали, что активные формы кислорода действуют как промежуточное звено для активации белка NLRP3, способствуя усилению воспалительного каскада и повреждению клеток при преэклампсии [14, 20].

В ряде исследований изучалась роль воспаления при глаукоме. На экспериментальной модели глаукомы выявили значительную индукцию воспалительных факторов в диске зрительного нерва и сетчатке, преимущественно на ранних стадиях заболевания [8, 21]. Хотя точные механизмы, с помощью которых аксоны ганглиозных клеток сетчатки повреждаются и в конечном итоге дегенерируют, неизвестны, все большее количество авторов указывает на решающую роль нейровоспаления. В центральной нервной системе резидентные астроциты и клетки микроглии отвечают за иммунный ответ и опосредуют первичные воспалительные реакции, которые защищают нервную ткань от патогенов и помогают восстанавливаться после травм и стресса. В сетчатке и зрительном нерве три типа резидентных глиальных клеток (астроциты, клетки Мюллера и микроглия) опосредуют воспалительную реакцию. У человека и на экспериментальных моделях глаукомы обнаруживаются активированные астроциты и микроглия в головке зрительного нерва и наблюдается повышенная экспрессия провоспалительных цитокинов IL-1 β и TNF α и нейротоксических медиаторов, таких как оксид азота и активные формы кислорода. Процессы воспаления и окислительного стресса при глаукоме неразделимы, и, вероятно, процессы окислительного стресса увеличивают степень воспаления, и наоборот [21, 22].

Среди воспалительных факторов большое внимание уделяется роли инфламмасом. Инфламмасома — это группа цитозольных мультибелковых комплексов и сенсоров, которые регулируют активацию каспазы-1 и координируют воспаление в ответ на инфекционные микробы и факторы стресса [23]. После своей активации каспаза-1 индуцирует выработку цитокинов, таких как IL-1 β и IL-18, способствуя прогрессированию воспалительного процесса. Были идентифицированы различные типы инфламмасом, включая те, которые контролируются подобными рецепторными белками (NLRP1, NLRP2, NLRP3) и участвуют во врожденном иммунитете. В частности, NLRP1 и NLRP3 играют решающую роль в патогенезе глаукомы [24, 25]. В исследовании, проведенном на глаукоматозном глазу человека, сообщается об увеличении уровней инфламмасомы NLRP3, каспазы-1 и каспазы-8. Кроме того, инфламмасомы NLRP3 и NLRP1 присутствуют в моделях острой глаукомы у мышей и крыс [25, 26].

Инфламмасома NLRP3 конститутивно экспрессируется в различных частях глаза, включая пигментный эпителий сетчатки и астроциты диска зрительного нерва, как у человека, так и у мышей, что указывает на важность этого медиатора в иммунной системе глаза [24, 25].

По данным литературы, однонуклеотидный полиморфизм rs7525979 C>T расположена в гене NLRP3 и представляет собой однонуклеотидную замену С на Т в позиции 247,424,106 в хромосоме 1. Однонуклеотидный полиморфизм rs5351 T>G расположена в генах EDNRB, EDNRB-AS1 и представляет собой однонуклеотидную замену Т на G в позиции 77,901,178 в хромосоме 13. Оба варианта полиморфизма в генах NLRP3 и EDNRB чаще встречаются при хронических воспалительных заболеваниях, в том числе при болезни Паркинсона, болезни Альцгеймера, атеросклерозе, в основе которых лежат

медленно прогрессирующие нейродегенеративные изменения, также характерные для ПОУГ [29, 30].

Цель исследования — изучение ассоциации полиморфных маркеров rs5351 гена EDNRB и rs7525979 гена NLRP3 при различных стадиях ПОУГ.

Методы

Дизайн исследования

Для исследования ассоциативных связей полиморфных маркеров в генах были изучены данные 238 пациентов в возрасте от 55 до 89 лет, средний возраст — $70 \pm 8,17$ года. Все пациенты проходили стационарное лечение в Центре микрохирургии глаза Пермской краевой клинической больницы и в офтальмологическом отделении Городской клинической больницы № 2 г. Перми. Всем больным разъяснялась суть проводимого исследования, после чего они подписывали добровольное согласие на участие в нем.

Критерии соответствия

Критерии включения пациентов в основную группу исследования — пациенты с ПОУГ в возрасте от 55 до 89 лет.

Критерии включения в группу сравнения — пациенты с катарактой в возрасте от 55 до 89 лет. Отсутствие глаукомы.

Критерии невключения пациентов в исследование — отсутствие подписанного письменного информированного согласия пациента на участие в исследовании.

35

Условия проведения

Лаборатория молекулярной иммунологии ФГБНУ «НИИ ВС им. И.И. Мечникова», г. Москва; Центр микрохирургии глаза Пермской краевой клинической больницы и офтальмологическое отделение Городской клинической больницы № 2 им. Ф.Х. Граля г. Перми — клинические базы кафедры офтальмологии ФГБОУ ВО ПГМУ им. академика Е.А. Вагнера Минздрава России, г. Пермь.

Продолжительность исследования

Исследование было начато в 2019 г. Забор биоматериала (периферическая кровь) у пациентов осуществлялся с 2019 по 2022 г. включительно. Лабораторные исследования проводились в 2022–2023 гг.

Описание медицинского вмешательства

После подписания информированного согласия на участие в данном исследовании у всех пациентов проводился забор крови. Биоматериал помещался в криопробирки и хранился при температуре -20°C до проведения лабораторных исследований.

Исходы исследования

Основной исход исследования. Определение ассоциаций полиморфных маркеров rs5351 гена EDNRB и rs7525979 гена NLRP3 при различных стадиях ПОУГ.

Анализ в подгруппах

В зависимости от стадии ПОУГ в основной группе было сформировано четыре подгруппы, при этом пациентов с двусторонним процессом различных стадий относили в группу по худшему глазу с более продвинутой стадией глаукомы: I стадия заболевания была у 31 человека; II стадия — у 33; III стадия — у 50; IV — у 27 [28].

Методы регистрации исходов

В качестве исследуемого материала использовалась периферическая кровь пациентов.

С помощью программы Vector NTI для полиморфных маркеров *rs 7525979* гена *NLRP3*, *rs 5351* гена рецептора эндотелина типа В (*EDNRB*) были подобраны и в дальнейшем синтезированы (DNA Synthesis, LLC, Russia) нуклеотидные последовательности (5'-):

rs7525979-F = CCGATGATGAGCATTCTGAG
rs7525979-R = CCAGTCCAACATCATCTTCC
rs7525979-FAM-C = FAM-
 ACAC+CGT+GG+TGTTTC-BHQ1
rs7525979-VIC-T = VIC-ACAC+TGT+GG+TGTTCC-BHQ1

rs5351-F = CTCATCCCTATACTTTACAAGACAG
rs5351-R = TTTCTTTCTCAACATTCACAGG
rs5351-FAM-G = FAM-
 TGGTG+GCT+GTT+CAGTTT-BHQ1
rs5351-VIC-A = VIC-
 TGGTG+GCT+ATT+CAGTTTC-BHQ1

Выделение ДНК осуществляли с помощью набора «РИБО-сорб» (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия) в соответствии с инструкцией производителя. Полученные фрагменты ДНК амплифицировали методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ПЦР–РРВ) с использованием наборов для определения полиморфных маркеров *rs 7525979* гена *NLRP3*, *rs 5351* гена *EDNRB* фирмы «ДНК-синтез» (Россия) на термоцикльере ДТ-96 фирмы «ДНК-технология» (Россия).

36

Этическая экспертиза

Этическая экспертиза проводилась локальным этическим комитетом при ФГАОУ ВО ПМГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России. Выписка из протокола № 17-19 внеочередного заседания локального этического комитета от 11 декабря 2019 г. Заключение: «Одобрить исследование в рамках диссертационной работы “Исследование молекулярно-генетических особенностей врожденного иммунного ответа при первичной открытоглазной глаукоме”».

Статистический анализ

Принципы расчета размера выборки. На первом этапе исследования пациенты отбирались в две группы (основную и сравнения) методом парного дизайна с равным количеством наблюдений и максимальной сопоставимостью исходных параметров. На втором этапе сравнение результатов основной группы с распределением на подгруппы в зависимости от стадии ПОУГ проводилось без дополнительного определения необходимого объема выборки. Для выполнения поправок на множественные сравнения использован метод Бонферрони.

Методы статистического анализа данных. Анализ и визуализацию полученных данных проводили с использованием компьютерной программы для статистической обработки данных – статистического пакета для социальных наук SPSS (Statistical Package for the Social Science).

Учет и первичная обработка данных, представление данных в формате таблиц и графиков осуществлялись на базе приложения MS Word и MS Excel из пакета офисных программ MS Office.

Распределение аллелей и генотипов по группам описывалось с помощью процентных долей. Распределение

долей генотипов проверялось с помощью критерия хи-квадрат, критерия Фишера, критерия Манна–Уитни. Результаты описаны с помощью отношения шансов (ОШ) и 95%-го доверительного интервала (ДИ) для ОШ. При оценке результатов статистически значимыми считали показатели при значениях $p \leq 0,05$.

Объекты (участники) исследования

В проводимом исследовании были выделены основная и контрольная группы. Данные офтальмологического обследования взяты из историй болезни стационарного больного.

Основную группу составил 141 пациент с ПОУГ, среди которых 77 мужчин и 64 женщины в возрасте от 55 до 89 лет (средний возраст – $71 \pm 7,5$ года). В зависимости от стадии заболевания сформировано четыре подгруппы, при этом пациентов с двусторонним процессом различных стадий относили в группу по худшему глазу с более продвинутой стадией ПОУГ: 1-я подгруппа – пациенты с I стадией заболевания – 31 человек (12 мужчин, 19 женщин, средний возраст – $71 \pm 5,7$ года); 2-я – со II стадией – 33 человека (14 мужчин, 19 женщин, средний возраст – $72 \pm 7,2$ года); 3-я – с III стадией – 50 человек (29 мужчин, 21 женщина, средний возраст – $70 \pm 8,2$ года); 4-я – с IV стадией – 27 человек (22 мужчины, 5 женщин, средний возраст – $70 \pm 8,2$ года).

Группу сравнения составили 97 человек, у которых была возрастная катаракта различной степени зрелости и отсутствовали признаки глаукомы, – 44 мужчины и 52 женщины в возрасте от 55 до 89 лет (средний возраст – $69 \pm 9,3$ года).

Основные результаты исследования

При изучении полиморфного маркера *rs5351* гена *EDNRB* было выявлено, что аллель А ($p < 0,05$; ОШ = 0,494; ДИ = 0,290–0,843) значительно чаще встречается в группе сравнения и играет протективную роль. Гомозиготный генотип GG увеличивает риск развития ПОУГ в 2 раза ($p < 0,05$; ОШ = 2,113; ДИ = 1,002–4,456) относительно группы сравнения. Гетерозиготный генотип, наоборот, чаще встречался в группе сравнения и играл протективную роль ($p < 0,01$; ОШ = 0,4; ДИ = 0,235–0,680). Данные представлены на рис. 1.

При изучении полиморфного маркера *rs5351* гена *EDNRB* в зависимости от стадии ПОУГ было выявлено, что гомозиготный генотип AA увеличивает риск возникновения I стадии в 3 раза ($p < 0,05$; ОШ = 0,4; ДИ = 0,235–0,680) относительно группы сравнения. Гомозиготный генотип GG увеличивает ПОУГ IV стадии в 7 раз ($p < 0,01$; ОШ = 7,339; ДИ = 3,117–17,277) относительно группы сравнения.

При изучении полиморфного маркера *rs7525979* гена *NLRP3* было выявлено, что аллель Т значительно чаще встречается в группе пациентов с ПОУГ относительно группы сравнения ($p = 0,001$; ОШ = 3,16; ДИ = 1,62–6,13) и увеличивает риск развития патологии в 3,16 раза (рис. 2, А). Также были выявлены статистически значимые различия в распределении генотипов: гетерозигота ТС была ассоциирована с развитием ПОУГ и увеличивала риск развития патологии в 2,88 раза относительно группы сравнения (частота – 0,17 и 0,42; $p < 0,01$; ОШ = 2,835; ДИ = 1,429–5,627). Гомозиготный генотип CC (частота – 0,82 и 0,52; $p = 0,01$; ОШ = 0,41; ДИ = 0,246–0,708), наоборот, значительно чаще встречался в группе сравнения, играя протективную роль в развитии патологии (рис. 2, Б).

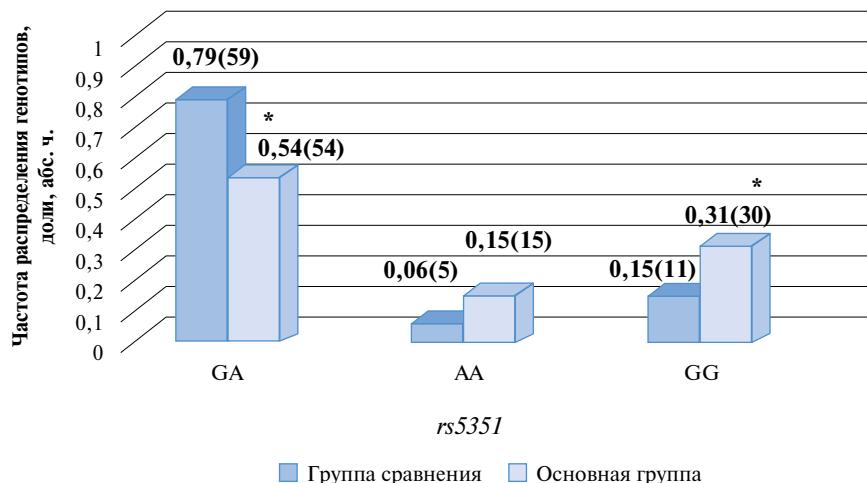


Рис. 1. Распределение частот генотипов полиморфного маркера *rs5351* в гене *EDNRB* в исследуемых группах

Примечание. По оси абсцисс представлены исследуемые группы, по оси ординат — частота генотипов в долях; в скобках даны абсолютные значения; * — $p \leq 0,05$.

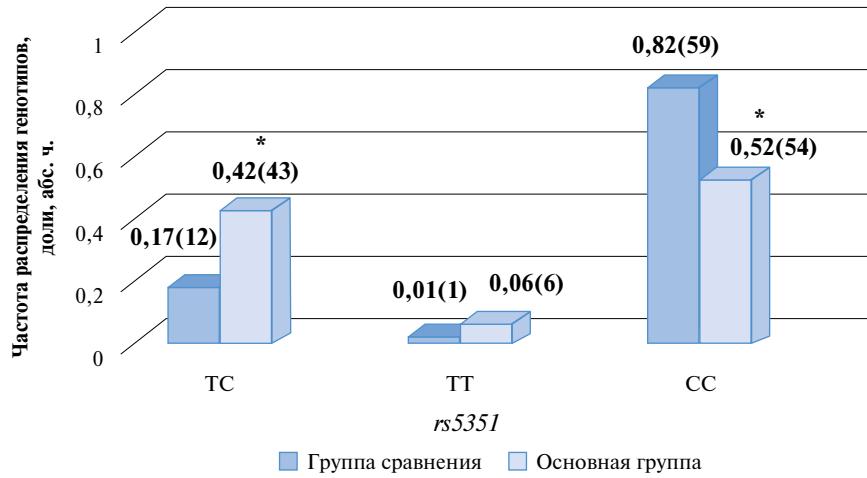
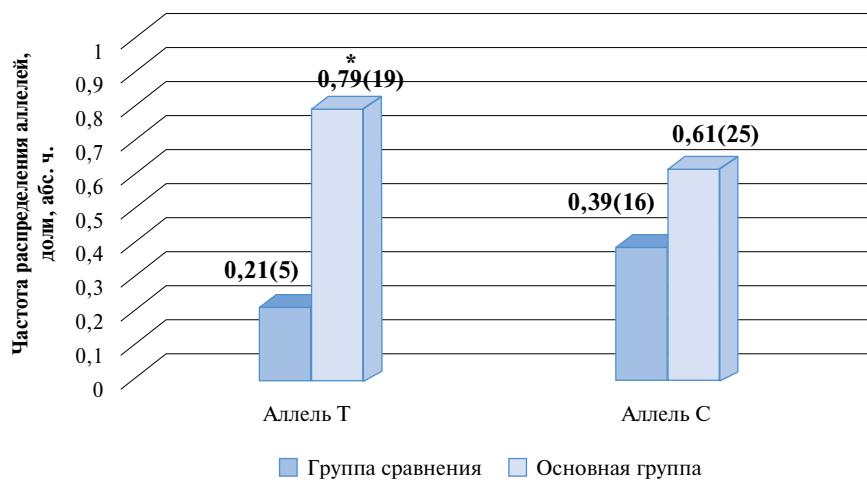


Рис. 2. Распределение частот аллелей (А) и частот генотипов (Б) полиморфного маркера *rs7525979* в гене *NLRP3* в исследуемых группах

Примечание. По оси абсцисс представлены исследуемые группы, по оси ординат — соответственно частота аллелей и частота генотипов в долях; в скобках даны абсолютные значения; * — $p \leq 0,05$.

При изучении полиморфного маркера *rs7525979* гена *NLRP3* в зависимости от стадии ПОУГ было выявлено, что аллель Т увеличивает риск развития I стадии глаукомы в 14,5 раза (частота — соответственно 0,16 и 0,43; $p < 0,01$; ОШ = 14,58; ДИ = 8,447–25,177) и IV стадии — в 9,014 раза (частота — 0,16 и 0,42; $p < 0,01$; ОШ = 0,014; ДИ = 3,701–21,958) относительно группы сравнения (рис. 3, А).

Гетерозиготный генотип увеличивает риск развития ПОУГ I стадии в 13,5 раза ($p < 0,01$; ОШ = 13,538; ДИ = 8,024–22,844), а IV стадии — в 11,0 раза ($p < 0,01$; ОШ = 11,169; ДИ = 4,545–27,445) относительно группы сравнения (рис. 3, Б). Гомозигота CC ($p < 0,01$; ОШ = 0,16; ДИ = 0,065–0,397), наоборот, значительно чаще встречалась в группе сравнения, играя протективную роль в развитии ПОУГ I и IV стадий (соответственно $p < 0,01$; ОШ = 0,16; ДИ = 0,065–0,397 и $p = 0,024$;

ОШ = 0,353; ДИ = 0,143–0,871). Кроме того, выявлено, что аллель С увеличивает риск развития ПОУГ IV стадии в 12,0 раза ($p < 0,01$; ОШ = 12,634; ДИ = 1,679–95,038) относительно группы сравнения, а для групп пациентов II стадии ($p < 0,01$; ОШ = 0,328; ДИ = 0,155–0,695) играет протективную роль.

В ходе исследования выявлено, что аллель С значительно чаще встречается при глаукоме III стадии ($p < 0,01$; ОШ = 3,8; ДИ = 1,31–10,97) по сравнению с группой пациентов с I стадией. При сравнении групп пациентов с III и IV стадиями выявлено, что аллель С значительно чаще встречался у пациентов с III стадией и играл протективную роль для пациентов с IV стадией заболевания ($p < 0,01$; ОШ = 0,27; ДИ = 0,09–0,78).

При сравнении групп пациентов с ПОУГ II и III стадий относительно I стадии заболевания выявлено,

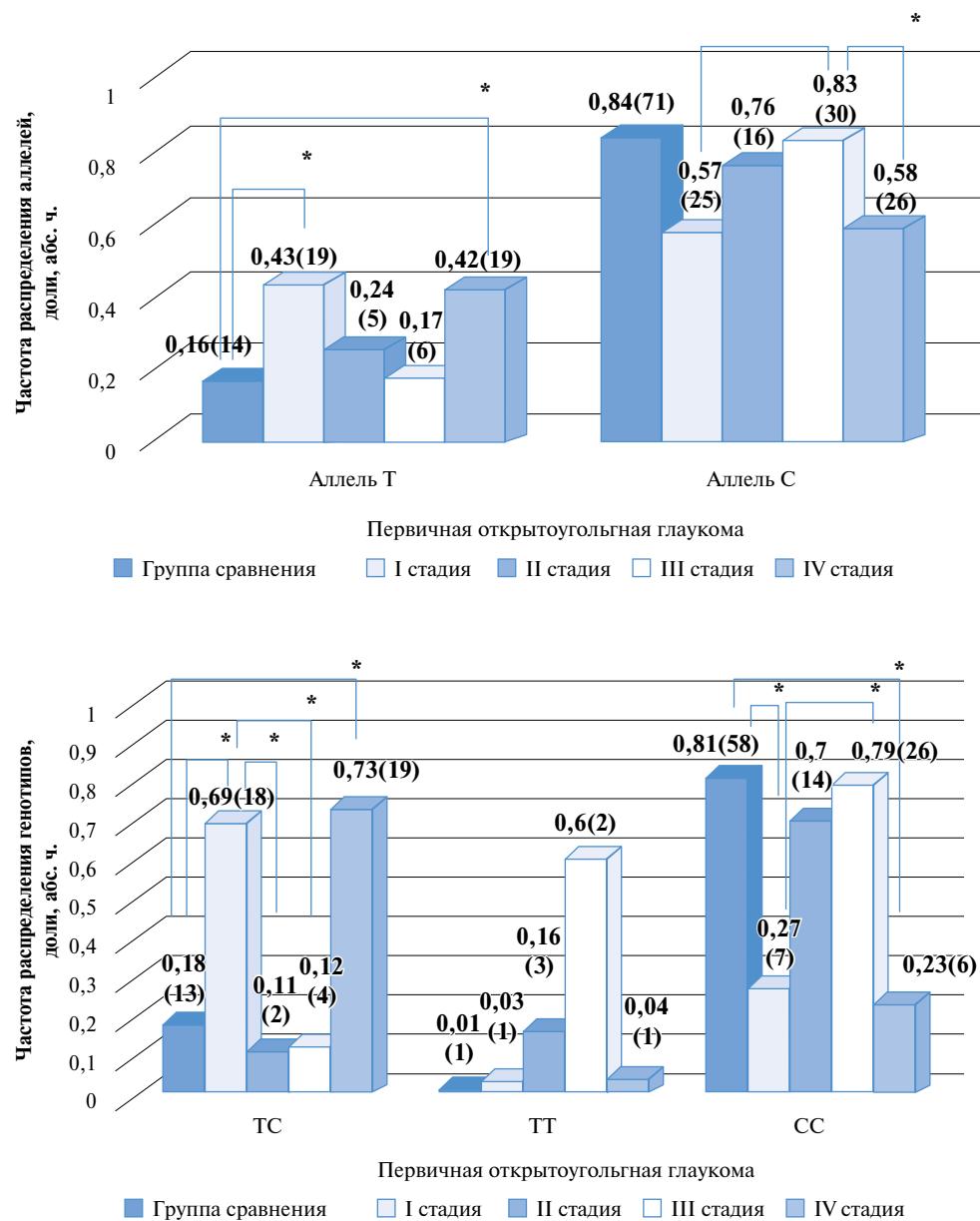


Рис. 3. Распределение частот аллелей (А) и частот генотипов (Б) полиморфного маркера *rs7525979* в гене *NLRP3* в исследуемых группах
Примечание. По оси абсцисс представлены исследуемые группы, по оси ординат — соответственно частота аллелей и частота генотипов в долях; в скобках даны абсолютные значения; * — $p \leq 0,05$.

что гомозиготный генотип CC значительно чаще встречался в группе пациентов с III стадией (частота — 0,21 и 0,79; $p < 0,01$; ОШ = 3,71; ДИ = 1,355–10,181), гетерозиготный генотип значительно реже встречался в группе пациентов с ПОУГ II и III стадий (соответственно частота — 0,69 и 0,11; $p < 0,01$; ОШ = 0,047; ДИ = 0,009–0,230 и частота — 0,69 и 0,12; $p < 0,01$; ОШ = 0,063; ДИ = 0,018–0,218). При сравнении групп пациентов с IV стадией относительно II стадии выявлено, что гетерозиготный генотип значительно чаще встречался в группе пациентов с терминальной IV стадией (частота — 0,09 и 0,91; $p < 0,01$; ОШ = 42,071; ДИ = 7,904–10,181). Данные представлены на рис. 3, Б.

Обсуждение

Резюме основного результата исследования

При исследовании полиморфного маркера *rs7525979* гена *NLRP3* выявлено, что гетерозиготный генотип TC ассоциирован с возникновением ПОУГ, гомозиготный генотип CC играл протективную роль. При этом по полиморфному маркеру *rs5351* гена *EDNRB* выявлено, что гомозиготный генотип GG ассоциирован с возникновением ПОУГ, а аллель А и гетерозиготный генотип GA, наоборот, играли протективную роль.

Кроме того, при сравнении подгрупп среди пациентов с ПОУГ были выявлены статистически значимые различия в распределении аллелей и генотипов. Установлено, что у пациентов с ПОУГ чаще встречались аллель С при III и IV стадиях, гомозиготный аллель CC — при III стадии, гетерозиготный генотип TC — при IV стадии заболевания. По полиморфному маркеру *rs5351* гена *EDNRB*: гомозиготный генотип AA чаще встречался у пациентов с ПОУГ I стадии, а гомозиготный генотип GG — с IV стадией заболевания.

Обсуждение основного результата исследования

В последнее время все больше появляется данных о том, что нейровоспаление играет ключевую роль при глаукоме [22].

В данной работе мы обращаем внимание на то, что процессы окислительного стресса, эндотелиальной дисфункции и патогенетические механизмы воспаления, обусловленного факторами врожденного иммунитета, неразрывно связаны друг с другом, образуя порочный круг. Это особенно важно с учетом малого количества работ по исследованию взаимного влияния активации инфламмасомного комплекса, факторов окислительного стресса и эндотелиальной дисфункции.

Продукты, образующиеся в результате эндотелиальной дисфункции, могут действовать как медиаторы воспаления, активируя факторы врожденного иммунного ответа, в том числе инфламмасомного комплекса, как, например, *NLRP3*.

Инфламмасома *NLRP3* конститутивно экспрессируется в различных частях глаза, включая пигментный эпителий сетчатки и астроциты диска зрительного нерва как у человека, так и у мышей, что указывает на важность этого медиатора в защитной системе глаза. Экспрессия *NLRP3* не ограничивается сетчаткой и диском зрительного нерва и обнаруживается по всему глазу в конъюнктиве, трабекулярной сети, пигментном эпителии сетчатки и эпителиальных клетках роговицы при патологических состояниях [22]. S. Coyle et al. (2021)

в своем исследовании показали, что инфламмасома *NLRP3* повышены при глаукоме по сравнению с пациентами без глаукомы [27].

В нашей работе мы изучили два полиморфных маркера, один из них связан с процессами оксидативного стресса и эндотелиальной дисфункции, другой — с воспалительными механизмами. В каждом случае выявлена связь с наличием глаукомного процесса, а также с переходом к более продвинутым стадиям заболевания.

Ограничения исследования

Ограничений в исследовании не было выявлено.

Заключение

В литературе обсуждаются данные, связанные с ролью факторов оксидативного стресса и эндотелиальной дисфункции. Отдельно появляются сведения о роли воспаления при глаукоме, в том числе рецепторного белка *NLRP3*. Однако недостаточно данных о взаимном влиянии этих процессов. В проведенном исследовании при изучении двух полиморфных маркеров в двух генах врожденного иммунного ответа нами установлено, что они связаны с развитием ПОУГ, а некоторые из них характерны для той или иной стадии заболевания. Полученные данные могут быть использованы при разработке прогностической панели маркеров в генах эффекторных молекул врожденного иммунитета, которые ассоциированы с развитием или отсутствием риска развития ПОУГ.

Дополнительная информация

Источник финансирования. Исследование выполнено при финансовой поддержке проекта Российской Федерации в лице Министерства образования и науки Российской Федерации, соглашение № 075-15-2021-676 от 28.07.2021.

Конфликт интересов. Авторы данной статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

Участие авторов. Т.В. Гаврилова — анализ полученных данных, написание статьи, одобрение направления рукописи на публикацию; А.Р. Кинкулькина — дизайн и выполнение исследований, анализ полученных данных, написание статьи; А.С. Авагян — выполнение иммunoлогических исследований; А.В. Поддубиков — выполнение исследований, анализ полученных данных; М.В. Черешнева — финальное рецензирование рукописи, одобрение направления рукописи на публикацию; М.Н. Шатохин — одобрение направления рукописи на публикацию; О.А. Свитич — дизайн исследования, анализ полученных данных, написание статьи, одобрение направления рукописи на публикацию. Все авторы статьи внесли существенный вклад в организацию и проведение исследования, прочли и одобрили окончательную версию рукописи перед публикацией.

Выражение признательности. Авторы выражают благодарность Центру коллективного пользования НИИВС им. И.И. Мечникова за предоставление научного оборудования для проведения настоящего исследования.

ЛИТЕРАТУРА

1. Мовсисян А.Б., Куроедов А.В., Архаров М.А., и др. Эпидемиологический анализ заболеваемости и распространенности первичной открытоугольной глаукомы в Российской Федерации // РМЖ. Клиническая офтальмология. — 2022. — Т. 22. — № 1. — С. 3–10. [Movsisyan AB, Kuroedov AV, Arkharov MA, et al. Epidemiological analysis of the incidence and prevalence of primary open-angle glaucoma in the Russian Federation. *Clinical Ophthalmology*. 2022;22(1):3–10. (In Russ.)] doi: <https://doi.org/10.32364/2311-7729-2022-22-1-3-10>
2. Репринцев А.В., Рыжева В.Н. Сравнительный анализ распространенности глаукомы в ряде регионов России // Актуальные проблемы гуманитарных и естественных наук. — 2019. — Т. 6. — С. 189–192. [Reprintsev AV, Ryzheva VN. Comparative analysis of the prevalence of glaucoma in a number of regions of Russia. *Actual Problems of Humanities and Natural Sciences*. 2019;6:189–192. (In Russ.)]
3. Дымочка М.А., Веригина Н.Б., Турченкова Д.А., и др. Первичная инвалидность взрослого населения Российской Федерации за период 2019–2021 гг. (информационно-аналитический материал) // Медико-социальные проблемы инвалидности. — 2022. — № 2. — С. 8–19. [Dymochka MA, Verigina NB, Turchenkova DA, et al. Primary disability of the adult population of the Russian Federation for the period 2019–2021 (information and analytical material). *Medical and Social Problems of Disability*. 2022;2:8–19. (In Russ.)]
4. Диордийчук С.В., Куроедов А.В., Фомин Н.Е., и др. Своевременная диагностика и влияние приверженности лечению на прогноз и прогрессирование глаукомной оптической нейропатии // РМЖ. Клиническая офтальмология. — 2021. — Т. 21. — № 1. — С. 34–39. [Diordiychuk SV, Kuroedov AV, Fomin NE, et al. Timely diagnosis and the effect of adherence to treatment on the prognosis and progression of glaucoma optic neuropathy. Breast cancer. *Clinical Ophthalmology*. 2021;21(1):34–39. (In Russ.)] doi: <https://doi.org/10.32364/2311-7729-2021-21-1-34-39>
5. Малишевская Т.Н., Косакян С.М., Егоров Д.Б., и др. Региональный регистр пациентов с глаукомой. Методологические аспекты построения, возможности использования в клинической практике // Российский офтальмологический журнал. — 2020. — Т. 13. — № 4. — С. 7–35. [Malishevskaya TN, Kosakian SM, Egorov DB, et al. A regional registry of patients with glaucoma. Methodological aspects of construction, possibilities of use in clinical practice. *Russian Ophthalmological Journal*. 2020;13(4):7–35. (In Russ.)] doi: <https://doi.org/10.21516/2072-0076-2020-13-4-supplement-7-35>
6. Tham YC, Li X, Wong TY, et al. Global prevalence of glaucoma and projections of glaucoma burden through 2040: a systematic review and meta-analysis. *Ophthalmology*. 2014;121(11):2081–2090. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2014.05.013>
7. Загидуллина А.Ш. О фенотипах первичной глаукомы // Медицинский вестник Башкортостана. — 2015. — Т. 10. — № 2. — С. 162–165. [Zagidullina ASh. Phenotypes of primary glaucoma. *Medical Bulletin of Bashkortostan*. 2015;10(2):162–165. (In Russ.)]
8. Shestopalov VI, Spurlock M, Gramlich OW, et al. Immune Responses in the Glaucomatous Retina: Regulation and Dynamics. *Cells*. 2021;10(8):1973. doi: <https://doi.org/10.3390/cells10081973>
9. Reina-Torres E, De Ieso ML, Pasquale LR, et al. The vital role for nitric oxide in intraocular pressure homeostasis. *Prog Retin Eye Res*. 2021;83:100922. doi: <https://doi.org/10.1016/j.preteyeres.2020.100922>
10. Tezel G. The immune response in glaucoma: a perspective on the roles of oxidative stress. *Exp Eye Res*. 2011;93(2):178–186. doi: <https://doi.org/10.1016/j.exer.2010.07.009>
11. Marola OJ, Howell GR, Libby RT. Vascular derived endothelin receptor A controls endothelin-induced retinal ganglion cell death. *Cell Death Discov*. 2022;8(1):207. doi: <https://doi.org/10.1038/s41420-022-00985-8>
12. Hayashi KG, Hosoe M, Takahashi T. Placental expression and localization of endothelin-1 system and nitric oxide synthases during bovine pregnancy. *Anim Reprod Sci*. 2012;134(3–4):150–157. doi: <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2012.08.003>
13. Zhang L, Sui R. Effect of SNP polymorphisms of EDN1, EDNRA, and EDNRB gene on ischemic stroke. *Cell Biochem Biophys*. 2014;70(1):233–239. doi: <https://doi.org/10.1007/s12013-014-9887-6>
14. Nunes PR, Mattioli SV, Sandrim VC. NLRP3 Activation and Its Relationship to Endothelial Dysfunction and Oxidative Stress: Implications for Preeclampsia and Pharmacological Interventions. *Cells*. 2021;10(11):2828. doi: <https://doi.org/10.3390/cells10112828>
15. Гуманова Н.Г. Оксид азота, его циркулирующие метаболиты NO и их роль в функционировании человеческого организма и прогнозе риска сердечно-сосудистой смерти (часть I) // Профилактическая медицина. — 2021. — Т. 24. — № 9. — С. 102–109. [Gumanova NG. Nitric oxide, its circulating NO metabolites and their role in the functioning of the human body and the prognosis of the risk of cardiovascular death (part I). *Preventive Medicine*. 2021;24(9):102–109. (In Russ.)] doi: <https://doi.org/10.17116/profmed202124091102>
16. Тикунова Е.В. Молекулярные основы этиопатогенеза первичной открытоугольной глаукомы // Научные ведомости. Серия Медицина. Фармация. — 2013. — № 11 (154). — С. 161–165. [Tikunova EV. Molecular bases of etiopathogenesis of primary open-angle glaucoma. *Scientific Vedomosti Series Medicine. Pharmacy*. 2013;11(154):161–165. (In Russ.)]
17. Еричев В.П., Ганковская Л.В., Ковалчук Л.В., и др. Изменение некоторых иммунологических показателей слезной жидкости при избыточном рубцевании после антиглаукоматозных операций у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой // Вестник офтальмологии. — 2010. — Т. 126. — № 3. — С. 25–29. [Erichev VP, Gankovskaya LV, Kovalchuk LV, et al. Changes in some immunological parameters of lacrimal fluid with excessive scarring after anti-glaucomatous operations in patients with primary open-angle glaucoma. *Vestnik Oftalmologii*. 2010;126(3):25–29. (In Russ.)]
18. Гаврилова Т.В., Кинкулькина А.Р., Авагян А.С., и др. Ассоциация полиморфных маркеров в гене *eNOS* с риском развития первичной открытоугольной глаукомы у жителей Пермского края // Российский иммунологический журнал. — 2022. — Т. 25. — № 1. — С. 83–92. [Gavrilova TV, Kinkulkina AR, Avagyan AS, et al. Association of polymorphic markers in the *eNOS* gene with the risk of primary open-angle glaucoma in residents of the Perm region. *Russian Immunological Journal*. 2022;25(1):83–92. (In Russ.)] doi: <https://doi.org/10.46235/1028-7221-1081-ABP>
19. Гаврилова Т.В., Кинкулькина А.Р., Авагян А.С., и др. Исследование ассоциации аллелей и генотипов полиморфного маркера *T786C* гена *eNOS* при различных стадиях первичной открытоугольной глаукомы // Российский офтальмологический журнал. — 2024. — Т. 17. — № 1. — С. 28–31. [Gavrilova TV, Kinkulkina AR, Avakian AS, et al. Investigation of the association of alleles and genotypes of the polymorphic marker *T786C* of the *eNOS* gene at various stages of primary open-angle glaucoma. *Russian Ophthalmological Journal*. 2024;17(1):28–31. (In Russ.)] doi: <https://doi.org/10.21516/2072-0076-2024-17-1-28-31>
20. Bueno-Pereira TO, Bertozzi-Matheus M, Zampieri GM, et al. Markers of Endothelial Dysfunction Are Attenuated by Resveratrol in Preeclampsia. *Antioxidants (Basel)*. 2022;11(11):2111. doi: <https://doi.org/10.3390/antiox11112111>
21. McGarry T, Biniecka M, Veale DJ, et al. Hypoxia, oxidative stress and inflammation. *Free Radic Biol Med*. 2018;125:15–24. doi: <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2018.03.042>

22. Adornetto A, Russo R, Parisi V. Neuroinflammation as a target for glaucoma therapy. *Neural Regen Res.* 2019;14(3):391–394. doi: <https://doi.org/10.4103/1673-5374.245465>
23. Xu J, Núñez G. The NLRP3 inflammasome: activation and regulation. *Trends Biochem Sci.* 2023;48(4):331–344. doi: <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2022.10.002>
24. Coyle S, Khan MN, Chemaly M, et al. Targeting the NLRP3 Inflammasome in Glaucoma. *Biomolecules.* 2021;11(8):1239. doi: <https://doi.org/10.3390/biom11081239>
25. Chen H, Deng Y, Gan X, et al. NLRP12 collaborates with NLRP3 and NLRC4 to promote pyroptosis inducing ganglion cell death of acute glaucoma. *Mol Neurodegener.* 2020;15(1):26. doi: <https://doi.org/10.1186/s13024-020-00372-w>
26. Yerramothu P, Vijay AK, Willcox MP. Inflammasomes, the eye and anti-inflammasome therapy. *Eye (Lond).* 2018;32(3):491–505. doi: <https://doi.org/10.1038/eye.2017.241>
27. Coyle S, Khan MN, Chemaly M, et al. Targeting the NLRP3 Inflammasome in Glaucoma. *Biomolecules.* 2021;11(8):1239. doi: <https://doi.org/10.3390/biom11081239>
28. Глаукома первичная открытоугольная: клинические рекомендации / Министерство здравоохранения РФ. — М., 2024. — 98 с. [Glaukoma pervichnaya otkrytougl'yanaya: klinicheskie rekomendacii / Ministerstvo zdravoozraneniya RF. Moscow; 2024. 98 s. (In Russ.)]
29. Yasuda H, Kamide K, Takiuchi S, et al. Association of single nucleotide polymorphisms in endothelin family genes with the progression of atherosclerosis in patients with essential hypertension. *J Hum Hypertens.* 2007;21(11):883–892. doi: <https://doi.org/10.1038/sj.jhh.1002234>
30. von Herrmann KM, Salas LA, Martinez EM, et al. NLRP3 expression in mesencephalic neurons and characterization of a rare NLRP3 polymorphism associated with decreased risk of Parkinson's disease. *NPJ Parkinsons Dis.* 2018;4:24. doi: <https://doi.org/10.1038/s41531-018-0061-5>

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Кинкулькина Алия Ряшидовна [*Aliya R. Kinkulkina*]; адрес: 105064, Москва, Малый Казенный пер., д. 5А, стр. 1
[address: 5A bldg 1 Maly Kazenny lane, 105064, Moscow, Russia]; e-mail: princes111@yandex.ru, SPIN-код: 6331-4685,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4473-0577>

Гаврилова Татьяна Валерьевна, д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН [*Tatyana V. Gavrilova*, MD, PhD, Professor, Corresponding Member of the RAS]; e-mail: gavrilova.tv@mail.ru, SPIN-код: 5947-8762,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2071-9322>

Авагян Асмик Самсоновна [*Asmik S. Avagyan*]; e-mail: avagyan.asmik@list.ru

Поддубиков Александр Владимирович, к.м.н. [*Alexander V. Poddubikov*, MD, PhD]; e-mail: poddubikov@yandex.ru,
SPIN-код: 9658-1553, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8962-4765>

Черешнева Маргарита Владимировна, д.м.н., профессор [*Margarita V. Chereshneva*, MD, PhD, Professor];
e-mail: mchereshneva@mail.ru, SPIN-код: 9571-3646

Шатохин Максим Николаевич, д.м.н., профессор [*Maxim N. Shatokhin*, MD, PhD, Professor]; e-mail: sh.77@mail.ru,
SPIN-код: 7344-9309, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4568-0594>

Свитич Оксана Анатольевна, д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН [*Oksana A. Svitich*, MD, PhD, Professor, Corresponding Member of the RAS]; e-mail: sviticho@yandex.ru, SPIN-код: 8802-5569,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1757-8389>