

Міністерства охорони здоров'я України  
Вінницький національний медичний університет імені М.І. Пирогова  
Міністерства охорони здоров'я України  
Вінницький національний медичний університет імені М.І. Пирогова

Кваліфікаційна наукова  
праця на правах рукопису

**Веретельник Світлана Петрівна**

УДК: 617.7-007.681-07-037

## **ДИСЕРТАЦІЯ**


# **ОПТИМІЗАЦІЯ ДІАГНОСТИКИ ТА ПРОГНОЗУВАННЯ ПЕРВИННОЇ ВІДКРИТОКУТОВОЇ ГЛАУКОМИ**

Галузь знань 22 «Охорона здоров'я»

222 – «Медицина»

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,  
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

  
\_\_\_\_\_ С. П. Веретельник

Науковий керівник: Малачкова Наталія Валентинівна, кандидат медичних  
наук, доцент

Вінниця – 2020

## АНОТАЦІЯ

*Веретельник С. П.* Оптимізація діагностики та прогнозування первинної відкритокутової глаукоми. - Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії з галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 – «Медицина». – Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова МОЗ України, Вінниця, 2020.

Дисертація присвячена вирішенню актуального завдання сучасної офтальмології - оптимізації діагностики та прогнозування первинної відкритокутової глаукоми на підставі комплексного аналізу патогенетичного значення поліморфізмів (*rs35934224* гена *TXNRD2*, *rs2745599* і *rs984253* гена *FOXC1*).

Однією з глобальних причин сліпоти та слабкості зору у світі являється первинна глаукома, яка призводить до незворотньої сліпоти в 14-20 % випадків. В Україні первинна інвалідність внаслідок патології органа зору посідає сьоме місце та складає 4 % серед дорослого населення. Серед первинних інвалідів найвищі показники сліпоти та слабкості зору мають інваліди на глаукому (I гр. – 36,7 %, II гр. – 14,8 %, III група – 48,6 %), яка займає третє місце в структурі офтальмологічної інвалідності населення (15 %).

Найбільш поширеним типом глаукоми як в Україні, так і в світі являється первинна відкритокутова глаукома. З кожним роком збільшується кількість хворих з первинною відкритокутовою глаукомою. На даний час у світі налічується близько 67 млн. хворих глаукомою і, згідно прогнозам, в 2020 році їх кількість становитиме близько 79,6 млн., а в 2040 році - 111,8 млн. Також варто відмітити, що кількість людей, які частково чи повністю втратили зір внаслідок глаукоми складає 11,2 млн. За даними ВООЗ, 50 % хворих у розвинених країнах та 90 % у країнах, що розвиваються, не підозрюють про наявність у них проблеми, не отримують лікування і не спостерігаються у лікарів.

На сьогоднішній день первинну відкритокутову глаукому відносять до мультифакторіальних захворювань. Фактори ризику глаукоми включають в себе системні та офтальмологічні чинники, але навіть наявність декількох факторів ризику в однієї людини не завжди призводить до захворювання. А. П. Нестеров (1982 р.) вважав, що вирішальну роль у розвитку первинної відкритокутової глаукоми відіграє спадковість.

Останнім часом прогрес в молекулярній генетиці показав, що первинна відкритокутова глаукома може бути викликана численними мутаціями генів у різних хромосомних локусах. Вже відомо більше 65 локусів з 76 генів, асоційованих з первинною відкритокутовою глаукомою, що дозволяє краще зрозуміти патогенез глаукоми. Тому проведення генетичних досліджень для визначення нових сприйнятливих локусів до первинної відкритокутової глаукоми є актуальним завданням сучасної офтальмології.

Всі дослідження проведені з дотриманням основних біоетичних норм та вимог Гельсінської декларації. Було обстежено 184 пацієнта. В ході виконання дослідження були використані: клінікоанамнестичні, офтальмологічні, молекулярно-генетичні, статистичні методи дослідження.

За результатами аналізу встановлено, що алельний поліморфізм *rs35934224* гена *TXNRD2*, залученого до регуляції мітохондріального редокс-гомеостазу та ініціації апоптозу гангліонарних нейронів сітківки асоціюється з ризиком розвитку та прогресування первинної відкритокутової глаукоми в дослідженій когорті українських хворих. Носійство мінорної алелі *T* збільшує ризик захворювання в 1,6 рази, тоді як носійство мажорної алелі *C* має протективний характер щодо розвитку цієї патології. Із збільшенням тяжкості захворювання посилюється асоціація однонуклеотидного поліморфізма *rs35934224* гена *TXNRD2* з первинною відкритокутовою глаукомою. Шанси розвитку III стадії первинної відкритокутової глаукоми у 6,7 разів збільшуються при гомозиготному носійстві мінорної алелі *T/T*.

Виявлено, що досліджені поліморфні варіанти гена *FOXC1*,

функціональні продукти яких залучені до процесів морфогенезу переднього сегменту ока і участі в регуляції внутрішньоочного тиску та функції трабекулярної сітки, асоціюються з ризиком розвитку та характером перебігу в дослідженій когорті українських хворих.

Встановлено, що носійство мінорної алелі (*A*) *rs2745599* гена *FOXC1* асоціюється з підвищеним ризиком розвитку первинної відкритокутової глаукоми. Ризик розвитку первинної відкритокутової глаукоми IV ступеня був асоційований з гомозиготним носійством мінорного алельного варіанта (*A/A*).

У процесі наукового дослідження виявлено збільшення ризику розвитку первинної відкритокутової глаукоми у носіїв мінорного алельного варіанта (*A*) *rs984253* гена *FOXC1* в 7,04 разів, тоді як гомозиготне носійство мажорної алелі (*T/T*) має сильний протективний вплив щодо розвитку захворювання.

За результатами аналізу виявлені сполучення генотипів, які визначають основу генетичної схильності до первинної відкритокутової глаукоми та є факторами, що визначають характер її клінічних проявів - *T/T\*A/A\*A/A* та *C/C\*A/A\*T/A* можуть розглядатися в якості факторів сильного ризику розвитку та прогресування первинної відкритокутової глаукоми. Визначені сполучення генотипів, які знижують шанси розвитку захворювання. До них належать *C/C\*A/A\*T/T*, *C/C\*G/A\*T/T*, *C/C\*G/G\*T/T* і *C/T\*G/A\*T/T*, які мають сильний протективний вплив.

Вперше для когорти українських хворих на первинну відкритокутову глаукому виявлена асоціація однонуклеотидних поліморфізмів *rs35934224* гена *TXNRD2*, *rs2745599* і *rs984253* гена *FOXC1* з ризиком розвитку і прогресування захворювання.

Вперше показано, що носійство мінорної алелі (*T*) *rs35934224* гена *TXNRD2* асоціюється з підвищеним ризиком розвитку первинної відкритокутової глаукоми (ВШ = 1,58, 95% ДІ: 1,11 – 2,25,  $p = 0,01$ ). У гомозигот за цим алельним варіантом у 3,3 рази збільшуються шанси розвитку первинної відкритокутової глаукоми. Носійство алельного варіанта *C* має

протективний характер щодо розвитку цієї патології (ВШ = 0,63,95%ДІ:0,44-0,90,p= 0,01). При стратифікації за ступенем периметричних змін вперше виявлено, що асоціація поліморфізму *rs35934224* гена *TXNRD2* з первинною відкритокутовою глаукомою посилюється із збільшенням тяжкості захворювання (гомозиготне носійство алеля *T* у 6,7 разів збільшує шанси розвитку первинної відкритокутової глаукоми III ступеня).

Вперше показано, що носійство мінорної алелі (*A*) *rs2745599* гена *FOXC1* асоціюється з підвищеним ризиком розвитку первинної відкритокутової глаукоми (ВШ = 1,7; 95% ДІ: 1,23 – 2,27,  $p < 0,001$ ). Гомозиготне носійство мажорної алелі (*G/G*) має протективний вплив щодо розвитку захворювання (ВШ = 0,53, 95% ДІ: 0,31 – 0,91,  $p = 0,01$ ). При стратифікації за ступенем периметричних змін виявлена асоціація гомозиготного носійства мінорного алельного варіанта (*A/A*) лише з ризиком розвитку первинної відкритокутової глаукоми IV ступеня (ВШ = 2,91, 95% ДІ: 1,27 – 6,68,  $p = 0,01$ ).

Вперше показано, що у носіїв мінорного алельного варіанта (*A*) *rs984253* гена *FOXC1* в 7,04 разів збільшується ризик розвитку первинної відкритокутової глаукоми. Гомозиготне носійство мажорної алелі (*T/T*) має сильний протективний вплив щодо розвитку захворювання (ВШ = 0,14, 95% ДІ: 0,08 – 0,24,  $p < 0,001$ ).

Вперше було проведено аналіз асоціації сполучень алелей і генотипів однонуклеотидних поліморфізмів *rs35934224* гена *TXNRD2*, *rs2745599* і *rs984253* гена *FOXC1* з первинною відкритокутовою глаукомою. Показано, що у хворих на первинну відкритокутову глаукому сполучення алелей *rs35934224* гена *TXNRD2* і *rs984253* гена *FOXC1* мали нерівноважне зчеплення (LD), причому шанси розвитку первинної відкритокутової глаукоми були збільшені у носіїв комбінації *C\*A* та *T\*A*.

Встановлено, що сполучення генотипів *T/T\*A/A\*A/A* та *C/C\*A/A\*T/A* може розглядатися як фактор ризику розвитку та прогресування первинної відкритокутової глаукоми. Сполучення генотипів *C/C\*A/A\*T/T*, *C/C\*G/A\*T/T*,

*C/C\*G/G\*T/T* і *C/T\*G/A\*T/T* має проєктивний вплив щодо розвитку захворювання.

Використання молекулярно-генетичного аналізу поліморфізма *rs35934224* гена *TXNRD2*, *rs2745599* і *rs984253* гена *FOXC1* в комплексі з існуючими алгоритмами функціональної діагностики первинної відкритокутової глаукоми дозволить значно підвищити ефективність ранньої діагностики та прогнозування перебігу захворювання у перспективі.

Отримані в роботі дані про розподіл генотипів та їх сполучень за дослідженими однонуклеотидними поліморфізмами в популяції Подільського регіону України можуть бути використані в якості референтних при дослідженні молекулярних основ генетичної схильності до первинної відкритокутової глаукоми.

Результати аналізу прогностичного значення досліджених алельних варіантів та їх сполучень щодо ризику розвитку та перебігу первинної відкритокутової глаукоми можуть бути використані при формуванні груп підвищеного ризику з метою прийняття своєчасних профілактичних заходів, спрямованих на зниження частоти первинної відкритокутової глаукоми в популяції України.

Комплексна оцінка алельного поліморфізму зазначених генів у пацієнтів з первинною відкритокутовою глаукомою дозволить прогнозувати перебіг захворювання, що буде сприяти зниженню рівня інвалідизації хворих.

Ключові слова: первинна відкритокутова глаукома, діагностика, прогнозування, поліморфізм гена *TXNRD2*, поліморфізм гена *FOXC1*.

## ANNOTATION

**Veretelnyk S. P. Optimization of diagnosis and prognosis of primary open-angle glaucoma. - Qualifying scientific work on the rights of the manuscript.**

Thesis for a Doctor of Philosophy degree in the field of study 22 Healthcare by

specialty 222 – «Medicine». National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsya Ministry of Health of Ukraine, Vinnytsya, 2020.

The dissertation is devoted to the solution of the actual problem of modern ophthalmology – optimization of diagnostics and prognosis of primary open angle glaucoma based on complex analysis of pathogenetic value of genetic polymorphisms (*rs35934224* of *TXNRD2* gene, *rs2745599* and *rs984253* of *FOXC1* gene).

One of the global causes of blindness and low vision in the world is primary glaucoma, which leads to irreversible blindness in 14-20 % of cases. In Ukraine, primary disability due to the pathology of the organ of vision take the seventh place and make up 4 % of the adult population. Among primary disabled people, the highest rates of blindness and low vision occupies glaucoma (I gr – 36.7 %, II gr – 14.8 %, III group – 48.6 %), which ranks third in the structure of ophthalmic disability of the population (15 %).

The most common type of glaucoma in Ukraine and in the world is primary open-angle glaucoma. The number of patients with primary open-angle glaucoma is increasing every year. At present, there are about 67 million glaucoma patients worldwide, with an estimated 79.6 million in 2020 and 111.8 million in 2040. It is also worth noting that the number of people who partially or total loss vision due to glaucoma is 11.2 million. According to WHO, 50 % of patients in developed countries and 90% in developing countries are unaware of their problems, do not receive treatment and are not seen by doctors.

To date, POAG is attributed to multifactorial diseases. Glaucoma risk factors include systemic and ophthalmic factors, but even having multiple risk factors in one person does not always lead to disease. A. P. Nesterov (1982) believed that heredity plays a crucial role in the development of primary open-angle glaucoma. Recent advances in molecular genetics have shown that POAG can be caused by numerous gene mutations at different chromosomal loci. More than 65 loci from 76 genes associated with POAG are already known, which allows us to better understand the

pathogenesis of glaucoma. Therefore, conducting genetic studies to identify new susceptible loci for POAG is an urgent task of modern ophthalmology.

All studies were conducted in compliance with the basic bioethical standards and requirements of the Declaration of Helsinki. 184 patients were examined. In the course of the study the following were used: clinical, anamnestic, ophthalmic, molecular genetics, statistical methods of the study.

The results of the analysis revealed that the allelic polymorphism of *rs35934224* of the *TXNRD2* gene involved in the regulation of mitochondrial redox homeostasis and the initiation of apoptosis of retinal ganglion neurons is associated with the risk of development and progression of POAG in the studied cohort of Ukrainian patients. The carrier of the minor allele *T* increases the risk of the disease by 1.6 times, whereas the carrier of the major allele *C* is protective in the development of this pathology. With increasing severity of the disease increases the association of SNP *rs35934224* *TXNRD2* gene with POAG. The chances of development of stage III POAG are 6.7 times increased with homozygous carrier of the minor allele *T/T*.

The polymorphic variants of the *FOXC1* gene, functional products of which are involved in the processes of anterior segment of the eye morphogenesis and involvement in the regulation of intraocular pressure and trabecular mesh function, are found to be associated with the risk of development and the nature of the course of POAG in the studied Ukrainian patients cohort.

It has been established that the carrier of the minor allele (*A*) *rs2745599* of the *FOXC1* gene is associated with an increased risk of developing POAG. The risk of developing grade IV POAG has been associated with homozygous carrier of the minor allelic variant (*A/A*).

In the course of the research, the increase of the risk of developing POAG in carriers of the minor allelic variant (*A*) *rs984253* of the *FOXC1* gene was found to be 7.04 times, whereas the homozygous carrier of the major allele (*T/T*) has a strong protective effect on the development of the disease.



The results of the analysis revealed combinations of genotypes that determine the basis of genetic susceptibility to POAG and are factors that determine the nature of its clinical manifestations – *T/T\*A/A\*A/A* and *C/C\*A/A\*T/A* can be considered in as high-risk factors for the development and progression of POAG. Genotype combinations that reduce the chances of developing the disease have been identified. These include *C/C\*A/A\*T/T*, *C/C\*G/A\*T/T*, *C/C\*G/G\*T/T* and *C/T\*G/A\*T/T* which have a strong protective effect.

For the first time, an association of single nucleotide polymorphisms of *rs35934224* of *TXNRD2* gene, *rs2745599* and *rs984253* of *FOXC1* gene with risk of development and progression of the disease was detected for a cohort of Ukrainian patients with POAG.

It was shown for the first time that the carrier of the minor allele (*T*) *rs35934224* of the *TXNRD2* gene was associated with an increased risk of developing POAG (OR=1.58, 95 % CI: 1.11-2.25, p=0.01). Homozygotes for this allelic variant increase the chances of developing POAG by 3.3 times. The carrier of allelic variant *C* is protective in the development of this pathology (OR=0.63, 95 % CI: 0.44-0.90, p=0.01). At stratification by the degree of perimetric changes, it was first discovered that the association of *rs35934224* polymorphism of *TXNRD2* gene with POAG increased with increasing severity of the disease (homozygous carrier of allele *T* increased 6.7 times the chances of developing POAG III degree).

For the first time, it was shown that the carrier of the minor allele (*A*) of the *rs2745599* gene of *FOXC1* was associated with an increased risk of developing POAG (OR=1.7; 95 % CI: 1.23-2.27, p<0.001). Homozygous carrier of the major allele (*G/G*) has a protective effect on the development of the disease (OR=0.53, 95 % CI: 0.31-0.91, p=0.01). In stratification by the degree of perimetric changes, an association of a homozygous carrier of the minor allelic variant (*A/A*) was revealed only with the risk of developing POAG of grade IV (OR=2.91, 95 % CI: 1.27-6.68, p=0.01).

For the first time, it has been shown that carriers of the minor allelic variant

(A) *rs984253* of the *FOXC1* gene have a 7.04 times increased risk of developing POAG. Homozygous carrier of the major allele (*T/T*) has a strong protective effect on the development of the disease: OR=0.14 (95 % CI: 0.08-0.24),  $p < 0.001$ .

The association of alleles and genotypes of SNP *rs35934224* of *TXNRD2* gene, *rs2745599* and *rs984253* of *FOXC1* gene with POAG was first analyzed. It was shown that in patients with POAG, the combination of the *rs35934224* allele of the *TXNRD2* gene and *rs984253* of the *FOXC1* gene had linkage disequilibrium (LD), whereby the chances of developing POAG were increased in carriers of the combination *C\*A* and *T\*A*.

It has been established that the combination of *T/T\*A/A\*A/A* and *C/C\*A/A\*T/A* genotypes may be considered as a risk factor for the development and progression of POAG. Genotype *C/C\*A/A\*T/T*, *C/C\*G/A\*T/T*, *C/C\*G/G\*T/T* and *C/T\*G/A\*T/T* combination have projective impact on the development of the disease.

The use of molecular genetic analysis of the *rs35934224* polymorphism of the *TXNRD2* gene, *rs2745599* and *rs984253* of the *FOXC1* gene in combination with existing algorithms for the functional diagnosis of primary open-angle glaucoma will significantly improve the effectiveness of early diagnosis and prognosis.

The data obtained on the distribution of genotypes and their combinations by the investigated single-nucleotide polymorphisms in the population of the Podillia region of Ukraine can be used as reference in the study of the molecular basis of genetic susceptibility to POAG.

The results of the analysis of the prognostic value of the occurrence of the investigated allelic variants and their combinations on the risk of development and the course of the POAG disease can be used in the formation of high-risk groups in order to take timely prophylactic measures aimed at reducing the frequency of POAG in the population of Ukraine.

Comprehensive assessment of allelic polymorphism of these genes in patients with POAG will predict the course of the disease, which will reduce the level of disability of patients.

Keywords: primary open-angle glaucoma, diagnosis, prognosis, *TXNRD2* gene polymorphism, *FOXC1* gene polymorphism.

**Список публікацій здобувача за темою дисертації:**

1. Малачкова Н. В. Зв'язок поліморфізму *rs35934224* гена *TXNRD2* з первинною відкритокутовою глаукомою / Н. В. Малачкова, С. П. Веретельник. // Архів офтальмології України. – 2018. – Т. 6, №3. – С. 19–23.

2. Malachkova N. V. Effect of *TXNRD2 rs35934224*, *FOXC1 rs2745599* and *rs984253* genetic polymorphisms combinations on the development of primary open-angle glaucoma and their degree of association with the disease / N. V. Malachkova, S. P. Veretelnyk, P. P. Slobodian. // Biomedical and Biosocial Anthropology. – 2018. – №33. – P. 12–17.

3. Malachkova N. V. *FOXC1* variant in primary open-angle glaucoma patients / N. V. Malachkova, S. P. Veretelnyk. // East European Scientific Journal. – 2019. – Vol. 6.#4(44). – P. 7–11.

4. Malachkova N. V. Distribution of genotypes and alleles and association with *FOXC1 rs2745599* genetic polymorphism with primary open-angle glaucoma / N. V. Malachkova, S. P. Veretelnyk, S. V. Ziablitsev. // Ophthalmology. Eastern Europe. – 2019. – Т. 9, №1. – С. 40–50.

5. Малачкова Н. В. Зв'язок поліморфізму *rs35934224* гена *TXNRD2* з ПВКГ / Н. В. Малачкова, С. П. Веретельник. // Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю «Рефракційний пленер`18» (18-19 жовтня 2018 р., м.Київ).- Київ: ГО «Асоціація дитячих офтальмологів та оптометристів України», 2018. – С. 47–48.

6. Малачкова Н. В. Ступінь асоціації сполучень генотипів поліморфізмів *rs2745599* і *rs984253* гена *FOXC1* та *rs35934224* гена *TXNRD2* з первинною відкритокутовою глаукомою та їх вплив на розвиток захворювання / Н. В. Малачкова, С. П. Веретельник. // Матеріали науково-практичної конференції «Глаукома+, 2019» (10-11 квітня 2019 р., м.Київ).- Київ: ГО

«Асоціація дитячих офтальмологів та оптометристів України», 2019. – С. 54–55.

7. Malachkova N. V. Association of *TXNRD2* gene with primary open-angle glaucoma. / N. V. Malachkova, S. P. Veretelnyk. // Abstracts of III International Scientific and Practical Conference (27-29 листопад 2019р., Осака, Японія). – 2019. – С. 678–680.

## ЗМІСТ

<b>ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧОК</b> .....	15
<b>ВСТУП</b> .....	16
<b>РОЗДІЛ 1</b>	
<b>СУЧАСНІ АСПЕКТИ ДІАГНОСТИКИ ТА ПАТОГЕНЕЗУ ПЕРВИННОЇ ВІДКРИТОКУТОВОЇ ГЛАУКОМИ: РОЛЬ ГЕНЕТИЧНИХ ЧИННИКІВ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)</b> .....	24
1.1 Статистичні дані поширеності глаукоми в світі та Україні .....	24
1.2 Етіологія і патогенез первинної відкритокутової глаукоми: сучасні дані .....	26
1.3 Генетичні аспекти розвитку глаукоми .....	31
<b>РОЗДІЛ 2</b>	
<b>МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ</b> .....	44
2.1 Дизайн дослідження і клінічна характеристика хворих .....	44
2.2 Офтальмологічні дослідження .....	47
2.3 Генетичні дослідження .....	49
2.4 Методи статистичної обробки .....	50
<b>РОЗДІЛ 3</b>	
<b>ЗВ'ЯЗОК ПЕРВИННОЇ ВІДКРИТОКУТОВОЇ ГЛАУКОМИ З ПОЛІМОРФІЗМОМ <i>rs35934224</i> ГЕНА <i>TXNRD2</i></b> .....	52
3.1 Зв'язок ризику розвитку первинної відкритокутової глаукоми з ОНП <i>rs35934224</i> гена <i>TXNRD2</i> .....	52
3.2 Зв'язок перебігу первинної відкритокутової глаукоми з ОНП <i>rs35934224</i> гена <i>TXNRD2</i> .....	57
<b>РОЗДІЛ 4</b>	
<b>ЗВ'ЯЗОК ПЕРВИННОЇ ВІДКРИТОКУТОВОЇ ГЛАУКОМИ З ПОЛІМОРФІЗМАМИ <i>rs2745599</i> та <i>rs984253</i> ГЕНА <i>FOXC1</i></b> .....	69

4.1 Зв'язок ризику розвитку та перебігу первинної відкритокутової глаукоми з ОНП <i>rs2745599</i> гена <i>FOXC1</i> .....	69
---	----

4.2 Зв'язок ризику розвитку та перебігу первинної відкритокутової глаукоми з ОНП <i>rs984253</i> гена <i>FOXC1</i> .....	77
--	----

## **РОЗДІЛ 5**

### **АНАЛІЗ СТРУКТУРИ НЕРІВНОВАГИ ЗА ЗЧЕПЛЕННЯМ І АСОЦІАЦІЇ СПОЛУЧЕНЬ ПОЛІМОРФНИХ ВАРІАНТІВ *rs35934224* ГЕНА *TXNRD2*, *rs2745599* І *rs984253* ГЕНА *FOXC1* З ПЕРВИННОЮ**

<b>ВІДКРИТОКУТОВОЮ ГЛАУКОМОЮ</b> .....	<b>84</b>
--	-----------

5.1 Зв'язок первинної відкритокутової глаукоми з сполученнями генотипів ОНП генів <i>rs35934224 TXNRD2</i> , <i>rs2745599 FOXC1</i> , <i>rs984253 FOXC1</i> .....	84
---	----

5.2 Зв'язок первинної відкритокутової глаукоми з сполученнями алелей ОНП генів <i>rs35934224 TXNRD2</i> , <i>rs2745599 FOXC1</i> , <i>rs984253 FOXC1</i> .....	94
--	----

## **РОЗДІЛ 6**

<b>АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ</b> .....	<b>102</b>
---	------------

<b>ВИСНОВКИ</b> .....	<b>110</b>
-----------------------	------------

<b>ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ</b> .....	<b>112</b>
-------------------------------------	------------

<b>СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ</b> .....	<b>113</b>
---	------------

<b>ДОДАТКИ</b> .....	<b>140</b>
----------------------	------------

**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧОК**

95% ДІ	– 95 % довірчий інтервал
ВШ	– відношення шансів
ОНП	– одонуклеотидний поліморфізм
ДЗН	– диск зорового нерва
МКХ-10	– міжнародна класифікація хвороб 10 перегляду
НДР	– науково дослідна робота
ОКТ	– оптична когерентна томографія
ПВКГ	– первинна відкритокутова глаукома
ПЛР-РЧ	– полімеразно-ланцюгова реакція у режимі реального часу
FOXC1	- Forkhead box C1
TXNRD2	– ген тіоредоксинредуктази2

## ВСТУП

### Обґрунтування вибору теми дослідження

Проблема глаукоми є однією з найбільш актуальних проблем сучасної офтальмології. Це пов'язано з цілим рядом причин: незворотною втратою зору внаслідок хвороби, високими рівнями інвалідності, прогностичним зростанням захворюваності на глаукому у світі та в Україні, високовартісним, тривалим лікуванням та реабілітацією, недостатнім використанням системного підходу в профілактиці [14, 20, 206].

В 2010 році в світі було виявлено близько 44 700 000 хворих з відкритокутовою глаукомою, США налічувалося 2,8 млн. [97]. Існує думка, що до 2020 року поширеність глаукоми в світі збільшиться до 58,6 млн. чоловік, а в США до 3,4 млн. чоловік. За іншими відомостями в світі близько 3 % населення (70 млн. чоловік) страждають на глаукому. Мінімум 7 млн. хворих на глаукому страждають на сліпоту обох очей і це число постійно збільшується [179].

В Україні у загальній структурі первинна інвалідність внаслідок патології органа зору посідає сьоме місце та складає 4 % серед дорослого населення [15]. Інвалідність внаслідок сліпоти, спричиненої глаукомою посідає провідне місце серед інших причин і становить 14–15 % [15]. Відзначається її незначне зниження в порівнянні з 2013 роком, що пов'язано з пильною увагою офтальмологів до проблеми глаукоми протягом останніх п'яти років, що в свою чергу поліпшило якість діагностики і лікування цієї поширеної патології [15]. В 2016 році поширеність глаукоми в Україні серед населення старше 18 років склала 452,7, а в 2017 році – 458,0 на 100 000 населення відповідно [15].

Сьогодні вже не викликає сумнівів, що ПВКГ – це складне мультифакторне захворювання, що викликане численними генетичними та епігенетичними чинниками. Показана гетерогенність спадкових факторів схильності до ПВКГ: виявлені аутосомно-домінантні, аутосомно-рецесивні



менделівськи та більш складні неменделівські типи успадкування. На сьогодні виявлено ряд генів в різних локусах хромосом, для яких показано зв'язок з ПВКГ. Продукти цих генів беруть участь у широкому спектрі клітинних процесів та біологічних систем. Приблизно половина генів, пов'язаних з глаукомою, функціонує у позаклітинному матриксі, проте білки, які беруть участь у цитокіновій сигналізації, обміні ліпідів, біології мембран, регуляції клітинного поділу, аутофагії та залучені до процесів розвитку морфологічних структур зорового аналізатора очей, також сприяють патогенезу захворювання. Хоча функції багатьох з цих білків залишаються остаточно ще не з'ясованими, дослідження молекулярних шляхів патогенезу ПВКГ дає можливість краще зрозуміти основні механізми розвитку захворювання, що є важливим для його ранньої діагностики та прогнозу перебігу.

Виходячи з встановлених фактів, в сучасній практичній медицині широко використовується генодіагностика глаукоми [94]. Аналіз найбільш відомих мутацій генів *MYOC*, *OPTN*, *CYP11B1* виконується у осіб з діагнозом ПВКГ у віці до 40 років за наявності тенденції до підвищення внутрішньоочного тиску при місцевому застосуванні нестероїдних протизапальних препаратів та/або за наявністю у близьких родичів ПВКГ.

Особливу увагу привертають дослідження пов'язані з дослідженням значення генів, продукти яких залучені до процесів розвитку очей та апоптозу. Відомо, що в основі розвитку глаукомної оптичної нейропатії лежить апоптоз нейронів сітківки, який, в свою чергу, запускається під впливом як зовнішніх, так і внутрішніх чинників, особливо – метаболічних порушень в сітчастій оболонці та зоровому нерві, в тому числі ключовими факторами, що ініціюють апоптоз є зростання експресії генів-індукторів апоптозу або пригнічення генів-інгібіторів [17, 24].

До таких генів відносяться, зокрема *FOXC1* та *TXNRD2*. Продукт гена *FOXC1* відіграє важливу роль в нормальному морфогенезі переднього сегменту ока та бере участь в регуляції внутрішньоочного тиску і функції трабекулярної

сітки [170]. Дисембріогенез переднього сегмента ока може привести до неповного розвитку або дисфункції структур, які утворюють водний дренажний шлях, що може привести до підвищення тиску та розвитку глаукоми. Якщо мутації в гені *FOXC1* є відомими факторами ризику розвитку ПВКГ, то зв'язок різних ОНП цього гена з захворюванням залишається недостатньо дослідженим, а в Україні такі дослідження не проводились. В поодиноких дослідженнях було також показано зв'язок ОНП гена *TXNRD2* з ПВКГ, який може бути опосередкований механізмами мітохондріального оксидативного стресу [55]. Роль порушень системи перекисної оксидації у виникненні ПВКГ загально визнана, а отримані при експериментальній глаукомі дані довели, що виснаження ензиматичної антиоксидантної системи сітківки та зорового нерву є пусковим механізмом апоптозу гангліонарних нейронів сітківки [24, 59, 195]. В Україні дослідження зв'язку поліморфізму гена *TXNRD2* з ПВКГ не проводились. Вищезазначене обумовило вибір генів-кандидатів значення яких у ризику розвитку ПВКГ досліджували в роботі.

### **Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами**

Дисертаційна робота є складовою частиною планової науково-дослідної роботи (НДР) НДР кафедри очних хвороб Вінницького національного медичного університету (ВНМУ) ім. М.І. Пирогова МОЗ України на тему: «Мультидисциплінарний підхід до діагностики, лікування та профілактики захворювань органу зору травматичного, інфекційного, дегенеративного характеру на клітинному рівні», № державної реєстрації 0117U003119 (01.2017-11.2021) і виконана відповідно до плану наукових досліджень ВНМУ ім. М.І. Пирогова. Дисертант є співвиконавцем вказаної тематики НДР.

**Мета дослідження:** Оптимізація діагностики та прогнозування первинної відкритокутової глаукоми на підставі комплексного аналізу патогенетичного значення поліморфізмів (*rs35934224* гена *TXNRD2*, *rs2745599* і *rs984253* гена *FOXC1*).

**Завдання дослідження:**

1. Встановити особливості розподілу частот алелей та генотипів ОНП *rs35934224* гена *TXNRD2* у хворих на ПБКГ та у контрольній групі і дослідити їх зв'язок з ризиком розвитку та перебігу захворювання.

2. Встановити особливості розподілу частот алелей та генотипів ОНП *rs2745599* гена *FOXC1* у хворих на ПБКГ у контрольній групі і дослідити їх зв'язок з ризиком розвитку та перебігу захворювання.

3. Встановити особливості розподілу частот алелей та генотипів ОНП *rs984253* гена *FOXC1* у хворих на ПБКГ та у контрольній групі і дослідити їх зв'язок з ризиком розвитку та перебігу захворювання.

4. Проаналізувати частоту сполучень генотипів *rs35934224* гена *TXNRD2*, *rs2745599* і *rs984253* гена *FOXC1* та їх асоціацію з ПБКГ.

5. Провести аналіз структури нерівноваги за зчепленням поліморфних варіантів *rs35934224* гена *TXNRD2*, *rs2745599* і *rs984253* гена *FOXC1* при ПБКГ та визначити значення зчеплених алелей.

*Об'єкт дослідження:* первинна відкритокутова глаукома (МКХ 10–Н40.1).

*Предмет дослідження:* діагностичне та прогностичне значення ОНП генів *rs35934224 TXNRD2*, *rs2745599 FOXC1*, *rs984253 FOXC1* у хворих на первинну відкритокутову глаукому різних стадій.

*Методи дослідження:* загальноклінічні (огляд, збір анамнезу, біоморфометрія), офтальмологічні (візометрія, периметрія, тонометрія, рефрактометрія, біомікроскопія, гоніоскопія, кератопахіметрія, офтальмоскопія, оптична когерентна томографія), молекулярно-генетичні (полімеразна ланцюгова реакція у реальному часі), статистичні (параметричний та непараметричний варіаційний аналіз, методи множинних порівнянь).

**Наукова новизна отриманих результатів**

Вперше в популяції України виявлена асоціація однонуклеотидних поліморфізмів *rs35934224* гена *TXNRD2*, *rs2745599* і *rs984253* гена *FOXC1* з

ризиком розвитку і прогресування ПБКГ.

Вперше показано, що носійство мінорної алелі (*T*) *rs35934224* гена *TXNRD2* асоціюється з підвищеним ризиком розвитку ПБКГ (ВШ = 1,58, 95% ДІ: 1,11 – 2,25,  $p = 0,01$ ). У гомозигот за цим алельним варіантом у 3,3 рази збільшуються шанси розвитку ПБКГ. Носійство алельного варіанта *C* має протективний характер щодо розвитку цієї патології (ВШ = 0,63, 95% ДІ: 0,44–0,90,  $p = 0,01$ ). При стратифікації за ступенем периметричних змін показано, що асоціація поліморфізму *rs35934224* гена *TXNRD2* з ПБКГ посилюється із збільшенням тяжкості захворювання (гомозиготне носійство алеля *T* у 6,7 разів збільшує шанси розвитку ПБКГ III ступеня).

Носійство мінорної алелі (*A*) *rs2745599* гена *FOXC1* асоціюється з підвищеним ризиком розвитку ПБКГ (ВШ = 1,7; 95% ДІ: 1,23 – 2,27,  $p < 0,001$ ). Гомозиготне носійство мажорної алелі (*G/G*) має протективний вплив щодо розвитку захворювання (ВШ = 0,53, 95% ДІ: 0,31 – 0,91,  $p = 0,01$ ). При стратифікації за ступенем периметричних змін виявлена асоціація гомозиготного носійства мінорного алельного варіанта (*A/A*) лише з ризиком розвитку ПБКГ IV ступеня (ВШ = 2,91, 95% ДІ: 1,27 – 6,68,  $p = 0,01$ ).

Вперше показано, що у носіїв мінорного алельного варіанта (*A*) *rs984253* гена *FOXC1* в 7,04 разів збільшується ризик розвитку ПБКГ. Гомозиготне носійство мажорної алелі (*T/T*) має сильний протективний вплив щодо розвитку захворювання: ВШ = 0,14 (95% ДІ: 0,08 – 0,24),  $p < 0,001$ .

Вперше за результатами аналізу асоціації сполучень алелей і генотипів досліджених поліморфізмів *rs35934224 TXNRD2*, *rs2745599 FOXC1*, *rs984253 FOXC1* у хворих з ПБКГ, було виявлено нерівноважне зчеплення (LD), при чому шанси розвитку ПБКГ були збільшені у носіїв комбінації *C\*A* та *T\*A*. Встановлено, що сполучення генотипів *T/T\*A/A\*A/A* та *C/C\*A/A\*T/A* може розглядатися як фактор ризику розвитку та прогресування ПБКГ. Сполучення генотипів *C/C\*A/A\*T/T*, *C/C\*G/A\*T/T*, *C/C\*G/G\*T/T* і *C/T\*G/A\*T/T* має протективний вплив щодо розвитку захворювання.

### **Практичне значення отриманих результатів**

Використання молекулярно-генетичного аналізу поліморфізму *rs35934224* гена *TXNRD2*, *rs2745599* і *rs984253* гена *FOXC1* в комплексі з існуючими алгоритмами функціональної діагностики первинної відкритокутової глаукоми дозволить значно підвищити ефективність ранньої діагностики та прогнозування перебігу захворювання.

Отримані в роботі дані про розподіл генотипів та їх сполучень за дослідженими однонуклеотидними поліморфізмами можуть бути використані в якості референтних при дослідженні молекулярних основ генетичної схильності до ПВКГ в Україні.

Результати аналізу прогностичного значення досліджених алельних варіантів та їх сполучень щодо ризику розвитку та перебігу захворювання ПВКГ можуть бути використані при формуванні груп підвищеного ризику з метою прийняття своєчасних профілактичних заходів, спрямованих на зниження частоти ПВКГ.

Комплексна оцінка алельного поліморфізму зазначених генів у пацієнтів з ПВКГ дозволить підвищити ефективність прогнозування перебігу захворювання, що буде сприяти зниженню рівня інвалідизації хворих.

### **Впровадження в практику**

Отримані результати впроваджені у роботу відділення «Міський центр мікрохірургії ока» Вінницької міської клінічної лікарні №3, медичного центру ТОВ «Оптималь-М» (м. Вінниця).

Наукові та практичні положення дисертації були впроваджені в навчальний процес кафедри очних хвороб Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова, кафедри офтальмології Національної медичної академії післядипломної освіти імені П.Л. Шупика та кафедри медичної біології Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова.

### **Особистий внесок здобувача**

Дисертація є особистою науковою роботою здобувача.

Вибір теми дисертації, напрямок дослідження, формулювання завдань, методологія побудови роботи розроблені спільно з науковим керівником к.мед.н., доцентом Н. В. Малачковою.

Автор самостійно провів патентно-інформаційний пошук, аналіз вітчизняної та зарубіжної літератури з досліджуваної теми.

Здобувач самостійно здійснила підбір і рандомізацію хворих у групи, провела офтальмологічні та клінічні дослідження, створила базу даних.

Молекулярно - генетичні дослідження виконані в Науково-дослідному інституті експериментальної та клінічної медицини Національного медичного університету імені О. О. Богомольця (директор – д.мед.н., проф. Натрус Л.В.). При консультативній допомозі співавтора публікацій професора кафедри патофізіології Національного медичного університету імені О. О. Богомольця - д.мед.н., професора Зяблицева С. В.

Статистична обробка отриманих результатів клінічних та молекулярно-генетичних досліджень, а також дисперсійний і дискримінаційний аналіз отриманих даних виконаний автором самостійно.

Обговорення та узагальнення отриманих результатів, формулювання положень наукової новизни, практичної значимості, а також висновків та практичних рекомендацій сформульовані спільно з науковим керівником к.мед.н., доцентом Н. В. Малачковою.

У наукових працях, опублікованих у співавторстві, здобувачу належала провідна роль у формулюванні мети, завдань, методології дослідження, статистичній обробці та аналізі результатів.

### **Апробація результатів дисертації**

Основні положення й результати роботи були представлені на науково-практичній конференції з міжнародною участю «Рефракційний пленер`18» (18-19 жовтня 2018р., м. Київ); науково-практичній конференції з міжнародною

участю «Глаукома+, 2019» (18-19 квітня 2019р., м. Київ); III Міжнародній науково-практичній конференції «Perspectives of world science and education» (27-29 листопада 2019 р. м. Осака, Японія).

### **Публікації**

Основні результати дисертації викладені в 7 наукових публікаціях. З них 2 роботи – статті в журналах відповідно до «Переліку наукових фахових видань України, в яких можуть публікуватися результати дисертаційних робіт на здобуття наукових ступенів доктора і кандидата наук», 2 – у закордонних наукових періодичних виданнях з напрямку, з якого підготовлено дисертацію, у тому числі одна, яка входить до бази SCOPUS; 3 роботи – тези у матеріалах науково-практичних конференцій.

### **Структура та обсяг дисертації**

Дисертація викладена українською мовою на 146 сторінках комп'ютерного тексту і містить вступ, шість розділів, висновки, практичні рекомендації, список використаних джерел та додатки. Дисертація ілюстрована 26 таблицями та 14 рисунками. Список літератури містить 222 джерела (28 кирилицею та 194 латиницею).

# РОЗДІЛ 1

## СУЧАСНІ АСПЕКТИ ДІАГНОСТИКИ ТА ПАТОГЕНЕЗУ ПЕРВИННОЇ ВІДКРИТОКУТОВОЇ ГЛАУКОМИ: РОЛЬ ГЕНЕТИЧНИХ ЧИННИКІВ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

### 1.1 Поширеність глаукоми в світі та Україні

Проблема глаукоми є однією з найбільш актуальних проблем сучасної офтальмології. Це пов'язано з цілим рядом причин: незворотністю втрати зору внаслідок хвороби, високими рівнями інвалідності, прогностичним зростанням захворюваності на глаукому у світі та в Україні, високовартісним, тривалим лікуванням та реабілітацією, недостатнім використанням системного підходу в профілактиці [8].

З кожним роком збільшується кількість хворих з первинною відкритокутовою глаукомою. На даний час у світі налічується близько 67 млн. хворих глаукомою і, згідно прогнозам, в 2020 році їх кількість становитиме близько 79,6 млн., а в 2040 році - 111,8 млн. [2, 3, 21, 22]. Також варто відмітити, що кількість людей, які частково чи повністю втратили зір внаслідок глаукоми складає 11,2 млн. Вона є другою провідною причиною сліпоти в світі. Це обумовлено тим, що на початкових стадіях перебіг захворювання, як правило, безсимптомний [26, 60, 133, 135]. За даними ВООЗ, 50% хворих у розвинених країнах та 90% у країнах, що розвиваються, не підозрюють про наявність у них проблеми, не отримують лікування і не спостерігаються у лікарів [179, 196, 205, 216].

Згідно Куарі і співавт. найбільш поширеним типом глаукоми є первинна відкритокутова глаукома [128]. Її частка складає 74% хворих в світі Серед азіатського населення глаукома складає 47% пацієнтів і з них 87% закритокутова глаукома, тоді як серед населення США 80% належить



первинній відкритокутовій глаукомі [64, 76]. Двостороння сліпота присутня у 4,5 мільйонів людей з ВКГ і 3,9 мільйона людей з ЗКГ. До 2020 року ці цифри збільшаться до 5,9 і 5,3 млн. відповідно [181, 193, 207].

Було проведено багато досліджень, які визначили розповсюдженість глаукоми в залежності від популяції та етнічних груп населення. Найвищий показник поширеності первинної відкритокутової глаукоми зустрічається у темношкірій популяції Африки, Карибських островів та США [36, 48, 64, 202]. Згідно мета – аналізу Bayesian, який розглянув взаємозв'язок між поширеністю ПБКГ і віку, статі та расової приналежності, також показав, що ПБКГ частіше зустрічається в темношкірого населення. З огляду на відсутність доказів того, що екологічні та поведінкові фактори ризику по'язані з глаукомою, ці дані свідчать про генетичну основу більшої сприйнятливості темношкірих до глаукоми. Генетичні основи глаукоми мають все більш широке визнання і генетичні дослідження в африканців зможуть пояснити деякі з варіацій та підвищений ризик виникнення глаукоми в темношкірій популяції [94, 124, 129]. Закритокутова глаукома є основним видом глаукоми в азіатській популяції, що призводить до сліпоти в 10 разів більше, ніж відкритокутова. Дослідження поширеності глаукоми серед азіатського населення знайшли більше випадків первинної закритокутової глаукоми, ніж у світлошкірих пацієнтів [130, 133, 191]. Останнім часом, на основі досліджень центра здоров'я серед корейської популяції, було встановлено, що захворюваність на ПБКГ за останні 5 років склала 0,72%. Rudnicka A. R. і ін. документально підтвердили, що показники ВКГ в Азії знаходяться в діапазоні від 1 до 4% [189]. В той час, як Ramakrishnan R. та ін. виявили, що поширеність ВКГ в Індії складає 1,7% [178]. Згідно досліджень George R. і ін., в Індії хворіють ПБКГ близько 6,48 млн. людей [96]. Таким чином, дослідження поширеності ПБКГ показують, що вона є більш поширеною в західній частині півкулі, ніж в східній, де частіше зустрічається ПЗКГ [196, 214, 216].

Ризик розвитку ПБКГ збільшується з віком у всіх етнічних групах.

Найвищий ризик розвитку ПВКГ за десятиліття у віці серед вихідців Латинської Америки, потім в населенні європеоїдної раси, найнижчий серед східних азіатів. Темношкіре населення має найвищі абсолютні показники поширеності ПВКГ у кожній віковій групі, за винятком людей старше 80 років, де поширеність є найвищою серед вихідців з Латинської Америки [76, 89]. Згідно досліджень Klein, Quigley та ін. ПВКГ частіше зустрічається у жінок, що становить 59,1 % від загального числа людей хворих на глаукому [123, 177]. Пов'язують це з їхньою більшою тривалістю життя. Також було виявлено, що люди, які живуть в містах, мають на 58% більше шансів захворіти ПВКГ, ніж люди в сільській місцевості [130, 179, 205].

В Україні первинна інвалідність унаслідок патології органа зору посідає сьоме місце та складає 4 % як серед дорослого так і серед працездатного населення. Інвалідність внаслідок сліпоти посідає провідне місце серед інших причин і становить 14–15%. Серед первинних інвалідів найвищі показники сліпоти та слабозорості мають інваліди на глаукому (I гр. – 36,7 %, II гр. – 14,8 %, III група – 48,6 %), яка займає третє місце в структурі офтальмологічної інвалідності населення (15%) [7, 15].

До областей з підвищеними показниками первинної інвалідності внаслідок глаукоми належать: Вінницька, Волинська, Кіровоградська, Хмельницька, Черкаська, Чернігівська (інтенсивний показник 0,38–0,28 на 10 тис. дорослого населення). Найнижчі показники – у Дніпропетровській, Закарпатській, Харківській, Чернівецькій областях (0,11–0,15 на 10 тис. дорослого населення). Таким чином, будь-яких регіональних особливостей формування первинної інвалідності внаслідок глаукоми не виявлено [7, 15].

## **1.2 Етіологія і патогенез первинної відкритокутової глаукоми: сучасні дані**

В поточний час первинну відкритокутову глаукому відносять до мультифакторіальних захворювань. Фактори ризику глаукоми включають в

себе системні та офтальмологічні чинники [126, 167, 184, 222].

Внаслідок проведених багатьох досліджень, було виявлено кілька факторів способу життя, які здатні змінювати внутрішньоочний тиск. До них відносять: гру на духових інструментах, вживання кофеїну, асани йоги, важка атлетика, туге носіння краватки [128, 164, 173, 202, 210].

У поточний час виділяють три основних теорії патогенезу первинної відкритокутової глаукоми: судинна, механічна та метаболічна. В межах судинної теорії в якості факторів ризику розвитку і прогресування глаукоми розглядають захворювання, що супроводжуються зміною судинного тонуусу - такі як вазоспазм, мігрень, артеріальна гіпертонія і гіпотонія, нічні зниження артеріального тиску (АТ), включаючи хворих з гіпертонією, які приймають гіпотензивні препарати. Останній фактор визнаний найбільш важливим, оскільки він найбільш часто зустрічається у людей, які схильні до вазоспазмів [1, 13, 17, 18]. Регуляція судинного тонуусу здійснюється різноманітними факторами, головними з яких є вегетативна нервова система і субстанції, що виділяються ендотелієм судин (ендотелін, оксид азоту, ангіотензин). Ендотелін-1, поряд з оксидом азоту, відіграє ключову роль в регуляції гемодинаміки ока, забезпечуючи регуляцію судинного тонуусу і обсяг місцевого кровотоку. Дисбаланс в їх продукції призводить до порушення кровотоку в судинах сітківки, хоріоїдеї і зорового нерва [34, 72, 88, 184].

Синдром вазоспазму частіше зустрічається у жінок, ніж у чоловіків. Підвищена сприйнятливність у жінок може бути пов'язана зі зниженням рівня естрогену в постменопаузі, який, як відомо, має вазопротективну дію [198].

Еричев В. П. з співавт. в якості самостійних чинників ризику прогресування глаукомної оптичної нейропатії виділяють підвищену варіабельність систолічного артеріального тиску протягом доби, а також виражене зниження середньої нічної величини діастолічного АТ. Нічна артеріальна гіпотонія сприяє зниженню перфузійного тиску, який також розглядають як самостійний фактор ризику прогресування глаукомного

оптичної нейропатії [10].

Завгородньою Н. Г. та Пасечніковою Н. В. було ретельно вивчено взаємозв'язок між станом мозкового та орбітального кровотоків при ПВКГ. Внаслідок цього вони встановили два клінічних типи ПВКГ: гіповолемічний та гіперволемічний. Перший, або ішемічний тип, розвивається на тлі порушень в судинах головного мозку і супроводжується порушенням гідродинаміки ока. Другий тип, гіперволемічний, розвивається при патологічних процесах, що відбуваються в інтракраніальних гілках внутрішньої сонної артерії, супроводжується збільшенням кровонаповнення очного яблука і збільшенням тиску у венозній системі ока [14].

У той же час деякі дослідники вважають, що зміни внутрішньоочного кровотоку вторинні по відношенню до зміни внутрішньоочного тиску (ВОТ), яке, в свою чергу, вторинне по відношенню до патології склери. Що стосується причин розвитку самої склеропатії, то висловлюється припущення про порушення синтезу колагену III, який підтримує еластичні властивості склери. Внаслідок втрати фіброзною оболонкою ока еластичних властивостей відбувається відносне підвищення ВОТ з віком. Відомо також, що пускову роль в механізмах дистрофічних змін дренажної системи ока і склеральної тканини грає фібронектин. Внаслідок проведених досліджень було виявлено прогресуюче зменшення вмісту фібронектину, що свідчить про розвиток процесу дезорганізації сполучної тканини склери при глаукомі [12, 23, 203].

Останнім часом внутрішньоочному тиску відводять роль лише одного з факторів ризику розвитку глаукоми. Однак більшість дослідників пов'язують прогресування глаукомної оптичної нейропатії не тільки з підвищеним рівнем індивідуально переносимого ВОТ, але і з його добовими коливаннями, при цьому особливу увагу звертають на пікові значення і розмах добової кривої. Підвищений внутрішньоочний тиск викликає механічне навантаження на задні структури ока, зокрема рішотчасту пластинку, що в свою чергу викликає її стиснення, деформацію та ремоделювання з подальшим механічним

пошкодженням аксонів. Однак достатня кількість спостережень доводить існування глаукоми нормального тиску, тому, на думку авторів, підвищений внутрішньоочний тиск є важливим, але не єдиним фактором, відповідальним за пошкодження зорового нерва [19, 33, 49, 216].

В якості однієї з теорій патогенезу ПВКГ в даний час розглядається і метаболічна. В рамках цієї теорії ПВКГ вважається частиною загального атеросклеротичного процесу в організмі, який призводить до розвитку морфологічних змін в трабекулярному апараті. Все більше і більше даних, дозволяють припустити, що глаукома повинна бути інтегрована в категорію нейродегенеративних захворювань, оскільки механізми, які беруть участь в клітинній дегенерації і загибелі нейронів, дуже схожі на механізми при хворобі Паркінсона та хворобі Альцгеймера. На думку деяких авторів одним з ключових ланок патогенезу нейродегенеративних захворювань, включаючи ПВКГ, може бути мітохондріальна патологія. Передбачається, що порушення функцій даних органел грає певну роль в розвитку глаукоми за допомогою прямої участі в ряді клітинних процесів. Вроджені чи набуті функціональні порушення мітохондрій можуть знижувати толерантність аксонів зорового нерва до впливу ВОТ [10, 34, 105, 208].

У патогенезі розвитку нейрооптикопатії при глаукомі важливу роль грає явище ексайтотоксичності. Ексайтотоксичність - пусковий механізм апоптичної загибелі зорового нерва при глаукомі в результаті надмірної стимуляції нейронів нейромедіатором глутаматом. В літературі існують спірні дані щодо ролі глутаматної ексайтотоксичності в розвитку нейродегенеративних змін при глаукомі. Деякими дослідниками було виявлено підвищення рівня глутамату в скловидному тілі при глаукомі, як при моделюванні її в експерименті, так і в клінічних дослідженнях. Тоді, як проведені дослідження Wamsley S. та ін. не виявили таких змін. Основою патології при ексайтотоксичності є порушення кальцієвого гомеостазу і активація N-метил-D-аспартату (NMDA) рецепторів. В результаті цього відбувається збільшення концентрації кальцію в клітинах, що

призводить до активації кальцій-залежних процесів: підвищення активності протеаз, кіназ, ендонуклеаз, ліпооксигеназ, фосфоліпази А2 та інших ферментів, що веде до значних змін у метаболізмі клітини, неконтрольованій дії вільних радикалів і може привести до незворотної загибелі клітини. Цей процес супроводжується також збільшенням перекисного окислення ліпідів та розвитком окислювального стресу [17, 33, 104, 165, 213].

Важлива роль в патогенезі глаукоми відводиться процесам вільно – радикального окислення, при яких вільні радикали кисню здійснюють цитотоксичну дію на сітківку та зоровий нерв, а також приводять до деструктивних змін в дренажній системі ока. Крім того, вільні радикали активують фактор росту TGF- $\beta$ , трансферитин, металопротеїнази та їх інгібіторів. В свою чергу трансферитин може утворювати амілоїдні відкладення, а тканинний інгібітор металопротеїнази -1 надмірний синтез екстраклітинного матриксу, які можуть перешкоджати відтоку внутрішньоочної рідини і призведе до підвищення внутрішньоочного тиску [17, 34, 101, 149, 168].

У той же час, на думку багатьох авторів, однією з основних причин порушення циркуляції ВОТ і, отже, розвитку ПВКГ, є псевдоексфоліативний синдром. Гранули пігменту осідають в трабекулярному апараті перешкоджаючи відтоку водянистої вологи та погіршуючи її фільтрацію. Ексфоліативний матеріал продукується клітинами юкстаканалікулярної тканини і ендотелієм внутрішньої стінки шлемового каналу, його накопичення там ускладнює відтік водянистої вологи. Це призводить до підвищення градієнта тиску між передньою камерою і шлемовим каналом, до звуження і часткової блокади каналу, і до подальшого підвищення ВОТ [25].

В даний час триває вивчення центральних механізмів регуляції ВОТ. При цьому було виявлено, що постійний вплив психоемоційного стресу призводить до зміни судин переднього відділу ока та очного дна. Припускають участь порушення проникності гематоенцефалічного бар'єру і серотонінового балансу

в системі зорового аналізатора і переднього відрізка ока у розвитку ПВКГ. При підвищеній проникності гематоенцефалічного бар'єру деякі метаболіти, які зазвичай не проникають в мозок, транспортуються в нього і блокують серотонінові рецептори, створюючи умови для розвитку ішемії і апоптозу зорового нерва і коркової частини зорового аналізатора. Ці ж метаболіти, ймовірно, блокуючи серотонінові рецептори кровоносних судин в райдужці і циліарних відростках, можуть призводити до підвищення ВОТ і порушення регуляції гідродинаміки ока. Серотонін також є попередником мелатоніну, який грає роль антиоксиданта та може знизити внутрішньоочний тиск і рівень NO [34, 62, 148, 223].

### 1.3 Генетичні аспекти розвитку глаукоми

Первинна відкритокутова глаукома - це складне захворювання, викликане численними генетичними й екологічними факторами, а також їх взаємодією. Останнім часом прогрес в молекулярній генетиці показав, що ПВКГ може бути викликана численними мутаціями генів у різних хромосомних локусах. Дослідження, проведене Song G. і співавторів підрахували, що на спадкові і сімейні випадки ПВКГ припадає близько 72% усіх випадків ПВКГ, але рідко з типом успадкування за Менделем [8, 60, 98, 99, 179].

Мутації, поліморфізми і варіації числа копій генів (copy number variations (CNVs)) можуть внести свій вклад в патогенез ПВКГ. CNVs визначаються як вставки або делеції великих сегментів ДНК, від 1 кб до декількох Мб; Останні дослідження виявили 11 підтверджених CNVs у пацієнтів з ПВКГ, але не в групі підібраний за віком, що вказує на потенційну роль, яку CNV-імplementовані гени можуть грати в патогенезі ПВКГ. Значний прогрес в розумінні генетичної основи ПВКГ був досягнутий в останні два десятиліття. Ray K. та Mookherjee S. представили 29 генетичних локусів для різних форм глаукоми. В 2013 р. GWAS (повногеномний пошук асоціацій) виявили 65

локусів з 76 генів, асоційованих з ПВКГ. А почалися докази генетичного ризику глаукоми з трьох генів, а саме MYOC, OPTN і WDR36. Понад 70 мутації MYOC, як повідомлялося, внесли свій вклад в патогенез ПВКГ, а мутації OPTN були пов'язані з нормотензивною глаукомою (НТГ). На цих два гена припадає близько 5% ПВКГ в популяції [84, 94, 107, 117, 158, 175, 182, 186, 200, 211].

Мутації в CYP1B1 також були ідентифіковані у пацієнтів з ПВКГ і також були запропоновані в якості модифікатора ПВКГ у носіїв мутацій MYOC. Крім того, були надані генетичні докази, що тільки мутація в гені CYP1B1 може привести до ПВКГ з аутосомно - рецесивним типом успадкування. Кілька досліджень оцінювали асоціацію однонуклеотидних поліморфізмів (SNP) в CYP1B1 з ПВКГ, результати суперечливі [32, 44, 153, 176].

Дослідження Fan В. та ін. показали, що принаймні 20 генетичних локусів пов'язані з ПВКГ. Серед них, було виявлено щонайменше 14 локусів і позначено від GLC1A до GLC1N. П'ять з них (GLC1A, GLC1J, GLC1K, GLC1M і GLC1N) сприяють ювенільній відкритокутовій глаукомі (ЮВКГ), в той час як інші викликають ПВКГ в дорослому віці. Останнім часом повідомляється про три нових локуси ПВКГ, які позначаються як GLC1O, GLC1P і GLC1Q [78, 136].

Мутації, які призводять до ПВКГ можна розділити на дві групи. Одні передаються головним чином в якості ознаки Менделя, часто з аутосомно-домінантним типом успадкування. Інша група включає алелі ризику, які в поєднанні з іншими факторами ризику розвитку глаукоми і факторами навколишнього середовища можуть сприяти розвитку ПВКГ, але не викликають хвороби самі по собі. Ці алелі або генетичні фактори ризику статистично частіше зустрічаються у пацієнтів з ПВКГ, хоча вони дуже часто виявляються і в контрольній групі [61, 86, 121]. Дані про кількість випадків глаукоми, викликані кожним геном з відомими мутаціями (MYOC, OPTN, WDR36, CYP1B1 і т.д.), були описані раніше в дослідженні Rao К. та Costa N., які спостерігали статистично значущий зв'язок між поліморфізмом CYP1A1m1 і



ПВКГ. Дослідження поліморфізму в локусі GSTM1 також показали зв'язок з розвитком ПВКГ серед естонського і турецького населення. Крім того, нещодавно були виявлені рідкісні мутації в новому гені Нейротрофін-4 (NTF4), які пов'язані з ПВКГ серед німецького та китайського населення [175, 181, 204, 211].

Міоцилін вперше був виявлений, як ген, що пов'язаний з глаукомою, в 1997 році. Мутації в міоциліні здатні викликати ЮВКГ, ПВКГ і нормотензивну глаукому. Міоцилін розташований на довгому плечі 1 хромосоми і синтезує білок розміром 504 амінокислоти (56,972 Da). Він відіграє певну роль у функціонуванні цитосклету, знаходячись у гранулярній ендоплазматичній сітці, клітинній мембрані і війках. Міоцилін виражається у вигляді 2,3 kb транскрипта в різних тканинах ока, включаючи трабекулярну мережу, рогівку, сітківку, зоровий нерв і циліарні нерви, Міоцилін містить три екзона з 604, 126 і 782 bp. [67, 81, 82, 108]. На сьогоднішній день серед трьох екзонів міоциліна, більшість мутацій, що викликають глаукому, було виявлено в третьому екзоні, кілька в першому і один в другому екзоні. Третій екзон міоциліна в основному кодується ольфактомединовим доменом та більшість міоцилінових мутацій в цій області вказує на активну роль в патогенезі ПВКГ [111, 141, 163]. МҮОС приймає участь в організації цитосклету і ремодуляції позаклітинного матриксу. Внутрішньоклітинне накопичення агрегатів МҮОС, за рахунок більш високої експресії МҮОС в клітинах трабекулярної пластинки (ТП) є шкідливим для неї, що призводить до погіршення її функції та подальшого підйому ВОТ. Також відомо, що МҮОС пов'язаний з мітохондріальним шляхом і надлишкова експресія мутації МҮОС (Pro370Leu) призводить до збільшення активних форм кисню, продукування якого викликає дисфункцію клітин ТП і їх загибель [199, 200, 220].

У більшості випадків, глаукома пов'язана з міоциліном мабуть передається як аутосомно-домінантна ознака і пов'язана з помітно підвищеним ВОТ. Глаукома, яка спричинена мутаціями в міоциліні була вперше виявлена в

дослідженні великих родоходів з ювенільною відкритокутовою глаукомою. З тих пір була опублікована серія випадків мутації міоциліна, які були знайдені в 8-36% хворих з ЮВКГ і 3-4% хворих з ПВКГ [83, 200, 220]. Спершу мутації МҮОС були виявлені в ЮВКГ з найбільш поширеною мутацією МҮОС - Gln368STOP, але пізніше дослідили, що ця мутація також пов'язана і з розвитком ПВКГ з пізнім початком. Багато мутацій спостерігається тільки в певних географічних або етнічних групах, але Gln368STOP мутація була виявлена майже у всіх обстежених популяціях ПВКГ, включаючи афроамериканців і кавказців зі Сполучених Штатів Америки, Канади, Австралії, Європи і Південної Америки, але не у пацієнтів Азії. Деякі дослідження виявили 3,4% мутації МҮОС під час скринінгу хворих ПВКГ з різних расових груп, в першу чергу кавказьких, афроамериканських і азіатських (японських) пацієнтів. У 1,6% пробандів глаукоми спостерігались мутації Gln368STOP, принаймні, одиничне виникнення такої мутації спостерігалось у всіх групах, крім японської [35, 41, 84, 185, 199].

У 2012 році мета-аналіз оцінював зв'язок між ризиком ПВКГ і поліморфізмами міоциліну, провівши розрахунки по п'яти мутаціях (R46X, R76K, Y347Y, T353I і Q368X). Внаслідок цих досліджень виявили, що два з них (Q368X і T353I) в значній мірі пов'язані з ПВКГ [57]. Нещодавно було виявлено нову гетерозиготну мутацію Thr377Arg МҮОС у великій пакистанській родині з ЮВКГ і нову мутацію МҮОС (Trp373) в австралійській сім'ї з відкритокутовою глаукомою. Також нещодавно повідомлялося про нову мутацію Ala447Thr (1339G>A), яка знаходиться в 3 екзоні. Виявлена вона була у австралійській та новозеландській популяції серед пацієнтів з розвиненою ПВКГ у індивідуумів з раннім розвитком глаукоми [63, 199, 215].

Крім того, Gly367Arg мутація МҮОС, яка викликає ПВКГ з аутосомно-домінантним типом успадкування, вперше була знайдена в китайському родоході. Серед китайських пацієнтів з ПВКГ у 4,23% поодиноких пацієнтів було виявлено мутації в першому екзоні МҮОС і Gly12Arg мутації найбільш

часто зустрічалася в цьому локусі. Значний зв'язок був виявлений між ризиком ПВКГ і МҮОС rs2075648 в кавказців. Guo та Williams виявили 3,3% темношкірих жителів Південної Африки з ПВКГ, що мають мутацію Gly374Val або Tyr453del МҮОС [30, 46, 53, 103, 219].

Оптиневрин (OPTN=GLC1E) є другим геном після МҮОС, в якому були ідентифіковані мутації, які викликають ПВКГ. OPTN розташований на короткому плечі 10 хромосоми (локус 10p13) і синтезує білок розміром 577 амінокислот (65,921 Da). Оптиневрину розташовується в цитоплазмі, перинуклеарній ділянці, апараті Гольджі. OPTN охоплює -37 kb геномної ділянки і містить три некодуючі екзони в 5' нетрансльованій області і 13 екзонів, які кодують білок. Альтернативний сплайсинг генерує, щонайменше, три різних ізоформи оптиневрину і, ймовірно, дисбаланс в експресії цих ізоформ призводить до глаукоми. Проте, будь-яких переконливих доказів дисбалансу варіантів сплайсингу OPTN досі не існує. В нормі оптиневрин взаємодіє з рядом білків: міозином VI, RAB 8, глутаматним рецептором mGluR1a, транскрипційним фактором III, протеїнкіназою ТВК1 [37, 69]. Park та ін. вивчили взаємозв'язок між генами глаукоми OPTN і МҮОС. Вони відзначили підвищену регуляцію ендогенного МҮОС в клітинах людської трабекулярної мережі, коли надмірно експресувався OPTN, але не навпаки. Внаслідок дослідження великих родоводів з нормотензивною глаукомою (НТГ) оптиневрин був ідентифікований як ген, що викликає глаукому. Мутації в OPTN були виявлені в 16,7% спадкових форм НТГ. В сім'ї досліджуваного глаукома була домінантно успадкована і викликана мутацією Glu50Lys в гені оптиневрину. Поширеність Glu50Lys може бути в <2% пацієнтів з НТГ і <1% в ПВКГ. Згодом, більшість досліджень оптиневрину у великій популяції пацієнтів з глаукомою припускають, що мутації в цьому гені можуть бути відповідальні за більше ніж 1,5% випадків НТГ [150, 171, 186].

Було також встановлено, що оптиневрин захищає клітини від окисного ушкодження і блокує вивільнення цитохрому с з мітохондрій. Цей захисний

ефект не спостерігається при надмірній експресії мутантного білка оптиневрину [57, 88]. Було виявлено, що мутація Glu50Lys викликає окислювальний стрес клітин і апоптоз. До того ж, нове дослідження показало, що індукцію апоптозу гангліонарних клітин сітківки шляхом мітохондріальної каспаз залежної загибелі клітин, викликає надмірна експресія мутантного оптиневрина (Glu50Lys). Park та ін. вивчали роль OPTN та можливий механізм мутації Clu50Lys в патогенезі глаукоми. Нове розуміння патогенезу мутації Glu50Lys і олігомерного стану OPTN останнім часом вивчалися в культивованих клітинах Gao та ін. [56, 105, 110, 177, 192].

ТВК1 розташований на довгому плечі 12 хромосоми і синтезує білок розміром 729 амінокислот (83,642 Da), який розташовується в цитоплазмі. Morton та ін. показали, що білок, який кодується оптиневрином, взаємодіє з ТВК1 і ця взаємодія впливає на мутацію оптиневрину (Glu50Lys), яка пов'язана з глаукомою. Ця взаємодія з оптиневрином додатково сприяє ролі ТВК1 в патогенезі глаукоми. Seo та ін. виявили білки, які взаємодіють з ТВК1 і викликають нормотензивну глаукому, але статистичних даних не вистачило [70, 155, 160, 194]. Згідно останніх досліджень було виявлено, що ТВК1 зустрічається у пацієнтів з нормотензивною глаукомою, а причиною цього є дублікат сегменту ТВК1 на 12q 14 хромосомі [39, 87]. Awadalla та ін. виявили збільшення ТВК1 у пацієнтів з нормотензивною глаукомою серед австралійського населення. Це підтверджує те, що копії варіацій ТВК1 викликають порушення регуляції передачі сигналів NF- $\kappa$ B, що в подальшому призводить до апоптозу гангліонарних клітин сітківки і розвитку НТГ [123, 137, 188].

В 2005 р. Monemi та ін. виявили ген WDR3G, мутації якого пов'язані з пізнім початком ПВКГ. Він розташований на довгому плечі 5 хромосоми і кодує білок розміром 951 амінокислот (105,322 Da). Цей ген охоплює приблизно 34,7 kb геномних ділянок і містить 23 екзона, виражених переважно у вигляді двох транскриптів (5,9 kb і 2,5 kb). Цей ген кодує білки з декількома

G-бета-WD40 повторами. Члени цього сімейства беруть участь в різних клітинних процесах, зокрема передачі сигналів, апоптозі і регуляції генів. WDR36 розташовується в ядрі і ядерці клітини. Він також був виявлений в ряді тканин ока, включаючи кришталик, райдужку, склеру, цилиарні м'язи, цилиарне тіло, трабекулярну сітку, зоровий нерв та сітківку [71, 158].

Локус цього гена для ПВКГ позначається як GLC1C. Він був виявлений за допомогою аналізу зчеплення в двох великих кавказьких сімей, який пізніше був названий білком WDR36, який в організмі людини кодується геном WDR36 [85, 107]. Monemi та ін. згідно проведеного ними скринінгу WDR36 у 130 сімей з ПВКГ, було виявлено 24 варіацій ДНК та охарактеризовано 4 мутації в гені WDR36 (N355S, A449T, R529Q і D658G) серед 17 пацієнтів з ПВКГ, не пов'язаних між собою. 11 з глаукомою з високим тиском і 6 з нормотензивною [158]. Тим не менш, багато подальших досліджень не змогли підтвердити це. Також є сім'ї, які пов'язані з локусом GLC1C, але мутація WDR36 в них не була виявлена [109, 161, 169, 190].

Miyazawa A. та ін. проводили дослідження серед японського та китайського населення. В результаті чого було виявлено два однонуклеотидних поліморфізма (SNP) в японській популяції з нормотензивною глаукомою і один SNP серед глаукоми з високим тиском у китайській популяції [154]. Fan B. J. та ін. досліджуючи китайське населення, виявили два нових несинонімічних SNP (L240V і I713V). Нова мутація I713V була виявлена в пацієнтів з глаукомою з високим тиском. Результати даного дослідження показують, що WDR36 асоціюється з спорадичною глаукомою з високим тиском, але не з нормотензивною чи ювенільною [79, 174]. Hauser M. A. і ін. повідомили про 32 послідовних варіанта WDR36, які були виявлені в популяції хворих з ПВКГ. Несинонімічні SNP, які викликали сприйнятливість до хвороби, були виявлені у 17% хворих ПВКГ з США і 4% в контрольній групі. Хоча розподіл варіантів WDR36 в родовах не показав послідовного розділення з цим захворюванням. Варіанти WDR36 послідовності були частіше виявлені у пацієнтів з важчим

перебігом хвороби. Вони прийшли до висновку, що дефект в WDR36 недостатній для причинно-наслідкового зв'язку з ПВКГ, а WDR36 є ген - модифікатор глаукоми. Досі механізм, за допомогою якого загальні варіанти WDR36 могли б призвести до розвитку ПВКГ, невідомий [90, 107, 109, 140, 159, 169].

CYP1B1 був вперше виявлений як ген, який викликає первинну закритокутову глаукому з аутосомно-рецесивним типом у спадкування. CYP1B1 розташований на короткому плечі хромосоми 2p21 в локусі GLC3A і синтезує білок розміром 543 амінокислоти (60,846 Da). В клітині CYP1B1 розташовується в ендоплазматичному ретикулумі, мікосомальній мембрані. CYP1B1 належить до групи білків цитохрому P450 (сім'я 1, підродина B, поліпептид 1) і функціонально різноманітний. Він бере участь в метаболізмі ліків, стероїдів та жирних кислот. CYP1B1 фермент, який пов'язаний з мембраною і відіграє певну роль у розвитку кута передньої камери ока. Можлива роль CYP1B1 - це їх участь в метаболізмі стероїдів, ретинолу, ретиналі, арахідонової кислот і мелатоніна, які можуть сприяти регуляції ВОР. Проте точна роль CYP1B1 в розвитку ока невідома [58, 65, 193, 209]. Проведені дослідження Chakrabarti S. та ін. виявили, що частота SNPs мутацій CYP1B1 (-13T>C, R48G, A119S, V432L, D449D, N453S, вперше виявлені Q144R, W434R, F445C, та g.8148-8152del5bp) частіше спостерігались в пацієнтів з ПВКГ (18,6%), ніж у ПЗКГ (11,1%) [32, 51]. Спектр мутацій спостерігався у пацієнтів з ПВКГ серед популяції Франції, Іспанії та Індії. За винятком чотирьох нових [58, 126, 139]. В ранніх дослідженнях причетності CYP1B1 з MYOC в сім'ях з ЮВКГ припустили, що CYP1B1 є модифікатором експресії MYOC. Було відзначено, що ці сім'ї мали більш ранній початок розвитку глаукоми, ніж ті, які мали лише мутацію MYOC. Ці дані привели до скринінгу CYP1B1 як гена-кандидата серед пацієнтів з ПВКГ і в основному з ЮВКГ [140, 153, 177].

Проведені дослідження на участь CYP1B1, MYOC і OPTN генів в етіології ПВКГ показали, що мутації в цих генах рідко спостерігаються у

пацієнтів з ПВКГ серед Індійської популяції. Проте одне дослідження виявило SNP мутацію L432V (rs1056836) в CYP1B1 з ПВКГ в індійській популяції. Аналогічним чином, дослідження Melki R. і ін. повідомили про значну асоціацію іншого загального SNP, N453S (rs180040) з ПВКГ у французьких пацієнтів. [75, 126, 153, 202]. Згідно досліджень Patel та ін. гетерозиготні зміни в CYP1B1 відбувались з більшою частотою, ніж в інших генах [176]. Bhattacharjee та ін. (2008) повідомляли про CYP1B1 c.1666G (Val432) в якості сприйнятливого алеля для ПВКГ і CGGTA як гаплотипний ризик для захворювання. Було також встановлено, що Val432 в QT1B1 викликає апоптозні зміни, що призводять до глаукоми. Крім того, був знайдений загальний Asn453Ser кодуючий варіант CYP1B1 як потенційний фактор важкості у хворих з ПВКГ. Всі ці дослідження показують, що CYP1B1 мають ширше значення для ПВКГ [45, 140, 153, 177].

Ген NTF-4 (GLC10) розташований на довгому плечі 19q13.33 хромосомі і синтезує білок нейротрофін – 4, розміром 210 амінокислот (22.427 Da). Цей ген є членом сімейства нейротрофічних факторів, нейротрофінів, які контролюють виживання і диференціацію нейронів ссавців [68]. Pasutto та ін. припустили, що загибель гангліонарних клітин сітківки при ПВКГ відбувається в основному не через підвищений ВОР, а що в цьому можуть також бути залучені фактори, які компрометують виживання таких клітин. Вони протестували NTF4 на наявність мутацій при ПВКГ на підставі його функції в якості нейротрофічного фактора захисту нейронів. І виявили сім гетерозиготних місенс мутацій в гені NTF4 (C7T, E84K, A88V, R90H, R206Q, R206W), які становили близько 2% від пацієнтів з ПВКГ європейського походження. Таких варіантів раніше не було описано. Pasutto та ін. продемонстрували порушену активацію TrkB (тирозин – кіназний рецептор B) в якості можливого шляху в патофізіології глаукоми. Ідентифікація мутацій в NTF4 також передбачає, що інші члени цього сімейства білків нейротрофінів і їх рецептори є можливими кандидатами для вивчення їх участі в патогенезі ПВКГ [68, 135, 175]. Ще одну мутацію (Leu113Ser) NTF4

було знайдено серед китайської раси. Це дослідження показує, що мутації в NTF4 становлять лише  $\leq 1\%$  китайських пацієнтів з ПБКГ. Досліджуючи японську популяцію, було виявлено декілька мутацій (VAV2 (rs2156323), VAV3 (rs2801219)) пов'язаних з ПБКГ, тоді як для індійської популяції такі зміни не були характерні [54, 211].

Ген GSTM1 кодує цитоплазматичний фермент глутатіон S-трансферазу (GSTs), розміром 218 амінокислот (25,712 Da), який належить до класу  $\mu$ . Функцій ферментів класу  $\mu$  полягають в детоксикації електрофільних з'єднань, в тому числі канцерогенів, лікарських препаратів, токсинів навколишнього середовища та продуктів окисного стресу при сполученні з глутатіоном. Гени, що кодують клас  $\mu$  ферментів розташовані на хромосомі 1p13.3 і, як відомо, є сильно поліморфними. GSTM1 розташовується в цитоплазмі та зустрічається в різних структурах ока, включаючи внутрішньоочну рідину, цилиарне тіло і кришталик. Продукція і виділення токсичних метаболітів може викликати зміни в білкових структурах, які присутні у внутрішньоочній рідині і трабекулярній пластинці, що призводить до зменшення відтоку і підвищення внутрішньоочного тиску. Внаслідок участі GST в інактивації кінцевих ендогенних продуктів, які утворюються в якості вторинних метаболітів в процесі окисного стресу, деякі дослідження показали, що поліморфізми GST є факторами ризику в розвитку ПБКГ [66, 116, 189].

Juronen E. і ін. були першими, хто вивчив можливий зв'язок між поліморфізмом генотипів GST і ПБКГ в естонського населення. Вони припустили, що позитивний фенотип GSTM1 може бути генетичним фактором ризику для розвитку ПБКГ [119]. Аналогічні результати були представлені в дослідженні Abu-Amero K. K. та ін. серед арабського населення [29]. Внаслідок дослідження Unal M. та ін, було знайдено підвищений ризик розвитку ПБКГ серед турецьких пацієнтів, які мали позитивний генотип GSTM1 і нульовий генотип GSTT1 (глутатіон S-трансферази тета-1). Нульовий генотип GSTM1 був знайдений як генетичний фактор ризику для розвитку ПБКГ у пацієнтів з



Мерсіна (Туреччина) [80, 121]. Встановлено зв'язок між нульовим поліморфізмом GSTM1 та ПБКГ у пацієнтів зі штату Баїя та Гоянії (Бразилія). На противагу цьому, Jansson M. і ін. вивчаючи шведське населення [118], а Fan B. J. та ін. - китайське населення, не виявили ніяких істотних зв'язків між ПБКГ і поліморфізмами GST. Вважають, що поєднання поліморфізмів GST, а не виявлення окремо кожного робить людину більш сприйнятливою до хвороби [189, 204, 221, 224]. Результати дослідження іранської популяції та Східної Азії виявили зв'язок між нульовим генотипом GSTM1 і ризиком ПБКГ. Мета-аналіз Yu Y. та ін. показав, що поєднання GSTM1 і GSTT1, алельного генотипу GSTP1 105-Val і нульового GSTM1 пов'язані з підвищеним ризиком розвитку глаукоми у кавказької та латиноамериканської популяції. Для підтвердження ролі GSTM1 в патогенезі ПБКГ необхідно провести дослідження з більшою вибіркою пацієнтів [113, 143, 192, 222].

В останні роки GWASs виявили кілька локусів, які пов'язані з ПБКГ включаючи CAV1 / CAV2, TMC01, CDKN2B-AS1, Cdc7-TGFBR3, Six1 / Six6, GAS7 і АТОН7. Зв'язок між CDKN2B (-AS1) локусу на хромосомі 9p21 і ПБКГ широко встановлений в різних популяціях і являє собою важливий генетичний фактор ризику для ПБКГ [31, 48, 206].

Для того, щоб визначити нові сприйнятливі локуси до ПБКГ, GWAS провели мета-аналіз восьми незалежних досліджень, включаючи сінгапурсько - китайське та дослідження проведені в Сполучених Штатах, Австралії, Європі. Згідно цих досліджень було визначено три нових локуси асоційованих з ПБКГ: rs35934224 [T] в TXNRD2, rs7137828 [T] в ATXN2 і rs2745572 [A] FoxC1. TXNRD2, який кодує мітохондріальний білок, необхідний для окисно-відновного гомеостазу [40, 50, 55]. Клітинний окислювальний стрес є причиною ретинальної дисфункції гангліозних клітин при глаукомі, а надлишкова експресія тіоредоксина2, субстанції з тіоредоксинредуктази2 (кодується TXNRD2), підвищує виживання гангліозних клітин сітківки в експериментальній моделі глаукоми. Ці дані свідчать про те, що зниження

рівнів реактивних форм кисню за допомогою TXNRD2 може запобігти мітохондріальній дисфункції і апоптозу гангліонарних клітин сітківки при глаукомі. TXNRD2 є першим мітохондріальним білком, який пов'язаний з ризиком глаукоми. ATXN2 належить до групи генів, які пов'язані із класом неврологічних і нервово – м'язових захворювань. ATXN2 (атаксин 2) являє собою ген, що кодує білок, з яким пов'язані такі захворювання, спиноцеребеллярна атаксія 2 з атрофією зорового нерва і хвороба Паркінсона з пізнім початком. FOXC1 є членом сімейства факторів транскрипції, рідкісні мутації (міссенс, нонсенс і число копій варіації (CNV)) якого, як відомо, викликають дисгенез переднього сегмента ока і глаукому з раннім початком з домінантним типом успадкування. За допомогою ЗТ-ПЛР та імуногістохімії виявлено ATXN2 в рогівці, трабекулярній сітці, циліарному тілі, гангліонарних клітинах сітківки та зоровому нерві, а TXNRD2 лише в гангліонарних клітинах сітківки та зоровому нерві. Дослідження цих генів допоможуть виявити нові шляхи патогенезу глаукоми [59, 74, 115, 132].

Виявлення генетичних факторів, які беруть участь у розвитку глаукоми сприятиме більш ранній діагностиці і профілактиці глаукомних ушкоджень з використанням як традиційного лікування, так і генної терапії. Розуміння генетики глаукоми має важливе значення для зниження ризику розвитку захворювання.

### **Резюме**

Таким чином, проведений аналіз сучасної літератури показав, що первинна глаукома являється однією з основних причин сліпоти та слабкозорості у світі, яка призводить до незворотної сліпоти в 14-20 % випадків. У світі налічується близько 67 млн. хворих глаукомою і, згідно прогнозам, в 2020 році їх кількість становитиме близько 79,6 млн., а в 2040 році - 111,8 млн. В Україні поширеність глаукоми у дорослих віком 18 років та старше склала в 2016 р. – 452,7, в 2017 році – 458,0 на 100 тис. населення відповідно. ПВКГ є мультифакторним захворюванням, одним із чинників якої є

генетичні порушення. Розробка нових методів діагностики та прогнозування ПВКГ на підставі дослідження нових молекулярно-генетичних механізмів її розвитку та прогресування є актуальною задачею сучасної офтальмології.

## РОЗДІЛ 2

### МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

#### 2.1. Дизайн дослідження і клінічна характеристика хворих

Дослідження було просте когортне дослідження типу «випадок-контроль» та носило проспективний характер.

Дослідження розпочиналось після отримання згоди пацієнта.

Клінічні дослідження за хворими на первинну відкритокутову глаукому виконувались в період з 2016 по 2017 роки у Вінницькій обласній клінічній лікарні ім. Пирогова – клінічній базі кафедри очних хвороб Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова.

Критеріями включення були:

- вік пацієнта 40 років та більше;
- наявність підтвердженої ПВКГ (основна група) або її відсутність (контрольна група);
- інформована письмова згода пацієнта (представника пацієнта) на участь в дослідженні;

Критеріями виключення були:

- цукровий діабет;
- системні, аутоімунні захворювання;
- хронічні інфекційні захворювання;
- очні хвороби та травми (все що може привести до порушення гідродинаміки і вторинної глаукоми, в тому числі катаракта, що набухає);
- вітреоретинальні або інші інтраокулярні операції в анамнезі.

Дослідження проведені у 184 пацієнта, які були розділені на дві групи. Перша група – контрольна, склала 91 особу, які були набрані серед літніх осіб,

що зверталися на первинний прийом з приводу профілактичного огляду, за умов відповідності критеріям виключення та відсутності глаукоми. Генотипування було проведене 89 особам. Вік пацієнтів контрольної групи склав  $71,1 \pm 1,1$  років, гендерний розподіл: чоловіків – 56 (61,5%), жінок – 35 (38,5%). Другу групу склали 93 пацієнта з первинною відкритокутовою глаукомою I-IV стадій і різним рівнем ВОТ. Вік пацієнтів другої групи склав  $68,1 \pm 9,26$  років, гендерний розподіл: чоловіків – 58 (62,37%), жінок – 35 (37,63%). Всіх пацієнтів додатково розділили на IV досліджуваних підгрупи відповідно до стадії ПВКГ.

Розподіл хворих основної групи за статтю, віком, стадією первинної відкритокутової глаукомою та рівнем ВОТ представлений в табл. 2.1.

Таблиця 2.1 - Розподіл хворих основної групи спостереження за статтю, віком, стадією ПВКГ, рівнем ВОТ і тривалістю захворювання (%) (n=93)

Стать	1	Чоловіки	58 (38,5%)
	2	Жінки	35 (61,5%)
Стадія ПВКГ	3	I стадія	24(25,8%)
	4	II стадія	32(34,4%)
	5	III стадія	24(25,8%)
	6	IV стадія	13(14%)
Рівень ВОТ	7	Нормальне (до 23,0 мм рт. ст.)	38(40,8%)
	8	Помірно підвищене (до 32,0 мм рт. ст.)	40(43%)
	9	Високе (вище 32,0 мм рт. ст.)	15(16,1%)

У процесі клінічних досліджень використовували класифікацію первинної глаукоми А. П. Нестерова і А. Я. Буніна (1976 р.) і класифікацію периметричних змін за стадіями глаукоми [20]. Виділяли чотири стадії: I – початкова, з відсутністю змін периферичних полів зору; II – розвинута, з крайовою екскавацією, дугоподібною скотоною, звуженням полів зору більше

ніж на 10 град в назальному сегменті, або концентричне, але не більше 15 град від точки фіксації; III – різко виражена, із різким звуженням полів зору; IV – термінальна, з повною відсутністю зору або неправильною світлопроекцією.

### **Класифікація периметричних вимірів за стадіями глаукоми [17]:**

#### Початкова глаукома:

- MD < -6 дБ;
- менше 18 точок зі зниженою світловою чутливістю при достовірності P<5% і менше 10 точок зі зниженою світловою чутливістю при достовірності P<1%;
- відсутність точок зі світловою чутливістю менше 15 дБ в центральному полі зору (5° від центру фіксації).

#### Розвинена глаукома:

- MD < -12 дБ;
- менше 37 точок зі зниженою світловою чутливістю при достовірності P<5% і менше 20 точок зі зниженою світловою чутливістю при достовірності P<1%;
- відсутність абсолютних скотом (точок зі світловою чутливістю 0 дБ в центральному полі зору);
- зниження світлової чутливості менше 15 дБ в центральному полі зору тільки в одній гемісфері поля зору.

#### Далеко зайдена глаукома:

- MD > -12 дБ;
- більше 37 точок зі зниженою світловою чутливістю при достовірності P<5% і більше 20 точок зі зниженою світловою чутливістю при достовірності P<1%;
- наявність абсолютних скотом (точок зі світловою чутливістю 0 дБ в центральному полі зору);
- зниження світлової чутливості менше 15 дБ в центральному полі зору тільки в обох гемісферах поля зору

Хворі основної та контрольної групи народилися і постійно проживали в Україні. Обидві групи були статистично порівняні за статтю та віком.

Усім пацієнтам досліджуваної і контрольної груп було проведено комплексне офтальмологічне обстеження.

Всі отримані дані об'єктивних та суб'єктивних методів та дані допоміжних досліджень були занесені в «Протокол обстеження пацієнта», яку було спеціально розроблено для даної роботи.

## 2.2 Офтальмологічні дослідження

Офтальмологічне обстеження проводилося на базі відділення мікрохірургії ока Вінницької обласної клінічної лікарні М.І. Пирогова і ТОВ «Оптимал–М» (м. Вінниця).

Згідно з загальноприйнятим протоколом обстеження хворих із ПВКГ у кожного пацієнта ретельно збирали скарги та анамнез, виконували візометрію, комп'ютерну периметрію, пневмотонометрію, авторефрактометрію, офтальмоскопію, кератопахіметрію, біомікроскопію, гоніоскопію, оптичну когерентну томографію.

### *Дослідження гостроти зору та суб'єктивної рефракції*

Візометрію при попередньому відборі пацієнтів проводили за допомогою таблиць Головіна-Сівцева.

*Дослідження суб'єктивної рефракції* проводили за допомогою набору офтальмологічних пробних очкових лінз «Біомед» (комплект з 266 лінз) виробництва Jiangsu Yuuyue Medical Equipment & Supply Co., Ltd (КНР).

### *Рефрактометрія*

Визначення об'єктивної рефракції проводили за допомогою автокераторефрактометрії на автоматичному кераторефрактометрі HUVITZ, HRK-7000, Auto-Ref/Keratometer (Корея).

### *Периметрія*

Визначення полів зору виконували за допомогою проекційного периметра PTS 1000 "Optopol technology" (Польща). Відповідно до стандартів Всесвітньої глаукомної асоціації (2002) статична периметрія є найбільш інформативним методом обстеження в порівнянні з кінетичною периметрією.

#### *Тонометрія*

Визначення внутрішньоочного тиску при попередньому огляді пацієнтів проводили за допомогою автоматичного пневмотонометра "Торсон" СТ-80 (Японія), робота якого основана на визначенні потоку повітря відбитого від передньої поверхні рогівки. За норму вважали тиск 16-21 мм рт. ст.

#### *Ультразвукова кератопахіметрія*

Ультразвукову кератопахіметрію виконували на апараті Bio & Pachy Meter AL-1000 фірми «Томеу» (Японія).

#### *Біомікроскопія*

Біомікроскопію виконували за допомогою щілинної лампи SL-1E "Торсон" (Японія).

#### *Офтальмоскопія*

Огляд очного дна виконували за допомогою тієї ж щілинної лампи (Торсон) та асферичної безконтактної лінзи 90дптр. (OCULAR MaxField®) в умовах медикаментозного мідріазу за загальноприйнятою методикою. А за необхідності = контактним методом за допомогою трьохдзеркальної лінзи Гольдмана та щілинної лампи SL-1E "Торсон" (Японія).

#### *Гоніоскопія*

Огляд кута передньої камери ока проводили за допомогою трьохдзеркальної лінзи Гольдмана.

#### *Оптична когерентна томографія*

Оптичну когерентну томографію виконували за допомогою спектрального оптичного когерентного топографа SOCT Corneicus "Optopol" з можливістю ангиографії (Польща) для визначення показників диску зорового нерву: товщина шару нервових волокон (mean TSNIT  $\mu\text{m}$ ) та об'єм



нейроретинального обідка ( $V_{rim}$  mm<sup>3</sup>). Також оцінювали коефіцієнт відношення площі екскавації до площі диска зорового нерва ( $Area_{cup} / disc$  ratio). Нормальним вважали значення цього коефіцієнта від 0,0 до 0,9 [17, 18].

### 2.3 Методи молекулярно-генетичних досліджень

Генотипування за ОНП *rs35934224 TXNRD2*, *rs2745599 FOXC1*, *rs984253 FOXC1* було проведено у 93 осіб та 89 контрольної групи. Дослідження проводили з дотриманням основних положень Конвенції Ради Європи про права людини та біомедицину, Хельсінкської декларації Всесвітньої медичної асоціації про етнічні принципи проведення наукових медичних досліджень за участю людини (1964, з подальшими доповненнями, Сеул, 2008) та відповідних наказів МОЗ України (№ 281 від 01.11.2000 № 355 від 25.09.2002 № 356 від 22.05.2009 р. в редакції наказу МОЗ України № 574 від 05.08.2009 р. № 1118 від 21.12.2012 р.).

Використовували вакуутайнери, які містили калієву сіль етилендіамінтетраоцтової кислоти (EDTA, 11,7 мМ); пробірки маркували та заморожували при температурі -20°C. Забір крові проводили після повного ознайомлення пацієнта з метою та завданнями дослідження та підписання ним інформативної згоди.

Виділення геномної ДНК проводили з цільної венозної крові з використанням реактивів PureLink® Genomic DNA Kits For purification of genomic DNA (Invitrogen, США), відповідно до інструкції виробника.

Генотипування поліморфних ДНК-локусів здійснювали з використанням уніфікованих тест-систем TaqMan Mutation Detection Assays Life-Technology (США) на автоматичному ампліфікаторі Gene Amp® PCR System 2400 (Applied Biosystems, США). Режим ампліфікації: первинна денатурація - 93°C, 2 хв.; 30 циклів: денатурація - 96°C, 10 сек., відпал праймерів - 62°C, 15 сек., елонгація - 72°C, 20 сек; фінальна елонгація – 72°C, 10 сек. Дані з ампліфікатора обробляли

програмою RealTime\_PCR яка синхронізована з ампліфікатором. Отримані результати значень порогів (Ct – cycle threshold) циклів ампліфікації обробляються автоматично.

Поліморфізм *rs35934224* локалізується у інтроні гена *TXNRD2* на 22 хромосомі: chr22:19885122 (GRCh38.p12). Сіквенс ділянки що аналізується – *GGCACCGCATGGGCCTCTTCATAGC[C/T]GAACAGCCAGCAGAGGTCCTTTC* T, поліморфний кодон CCG/CTG. Цей однонуклеотидний поліморфізм (ОНП) представляє собою просту нуклеотидну заміну C на T. Алель T є мінорною, загальна частота якої складає  $f=0.176$  (879/5008) за даними MAF Source: 1000 Genomes (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs35934224>).

Поліморфізм *rs2745599* гена *FOXC1* локалізується у 3'некодуючій ділянці (3'-UTR) гена *FOXC1* на 6 хромосомі: chr6:1613451 (GRCh38.p12). Сіквенс ділянки – *GTTGGAAAGGGATATTTAATCTTTG[A/G]GAAACTATTTTAGAAAATATGTTTG*, поліморфний кодон GAG/GGG. Цей однонуклеотидний поліморфізм представляє собою просту нуклеотидну заміну A на G. Алель G є мінорною, загальна частота якої складає  $f=0.286$  (1430/5008 за даними MAF Source: 1000 Genomes (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs2745599>)).

Поліморфізм *rs984253* гена *FOXC1* локалізується у 3'некодуючій ділянці (3'-UTR) гена *FOXC1* на 6 хромосомі: chr6:1613294 (GRCh38.p12). Сіквенс ділянки – *CCTGTGAGCCAGATGCTGAATAGAT[AT]TTTTCTATTATTTTCAGTCCTTTAT*, поліморфний кодон TAT/TTT. Цей однонуклеотидний поліморфізм представляє собою просту нуклеотидну заміну A на T. Алель T є мінорною, загальна частота якої складає  $f=0.182$  (909/5008) за даними MAF Source: 1000 Genomes (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs984253>).

## 2.4 Методи статистичних досліджень

Статистичний аналіз результатів клінічних досліджень проводили за допомогою пакета програм MedCalc (MedCalc SoftWare bvba, 1993-2013).

Статистична обробка кількісних даних включала розрахунок середнього значення та стандартної похибки середнього ( $\pm m$ ). Для якісних ознак розраховувався показник частоти виникнення, який виражався в абсолютному значенні і у % та стандартна похибка частоти ( $\pm m\%$ ).

При порівнянні кількісних ознак у двох групах використовували параметричні критерії (в разі нормального закону розподілу) або непараметричний критерій Манна-Уїтні (у разі відмінності закону розподілу від нормального). При порівнянні частоти для якісних ознак у двох групах використовувався точний критерій Фішера. Кількісна оцінка величини ефекту для якісних ознак проводилася за показником відношення шансів (ВШ; Odds Ratio – OR), для узагальнення отриманих результатів розраховувався також 95 % довірчий інтервал (95 % ДІ; Confidence Interval – CI).

Встановлення тенденції певних алелей одного поліморфного локусу перебувати поруч з певними алелями іншого поліморфного локусу з частотою, що перевищує очікувану, було розраховано за допомогою програмного забезпечення MIDAS v1 (Multiallelic Interallelic Disequilibrium Analysis Software); homepage: <http://www.genes.org.uk/software/midas>) [93].

У всіх випадках проведення аналізу критичний рівень значущості був прийнятий рівним 0,05.

### РОЗДІЛ 3

## ЗВ'ЯЗОК ПЕРВИННОЇ ВІДКРИТОКУТОВОЇ ГЛАУКОМИ З ПОЛІМОРФІЗМОМ *rs35934224* ГЕНА *TXNRD2*

### 3.1 Зв'язок ризику розвитку первинної відкритокутової глаукоми з ОНП *rs35934224* гена *TXNRD2*

Генотипування ОНП *rs35934224* гена *TXNRD2* було проведено у 89 осіб контрольної групи та 93 пацієнтів з ПБКГ різних клінічних варіантів. За результатами генотипування визначали частоти генотипів і алелей в загальній групі пацієнтів з ПБКГ та в контрольній групі. Для аналізу можливої асоціації ОНП *rs35934224* гена *TXNRD2* з прогресуванням ПБКГ додатково розраховували частоти генотипів і алелей в групах з різними клінічними варіантами (згідно до ступеня периметричних змін за класифікацією А.П. Нестерова) [20]. Статистичний аналіз відмінностей розподілу генотипів і частот алелей проводили між всіма дослідженими групами. Зокрема, між контрольною групою та загальною групою пацієнтів з ПБКГ, між контролем і кожною групою окремо (стадії I – IV) і, а також всіх груп між собою.

Результати генотипування представлені в таблиці 3.1.

Привертає увагу відхилення розподілу генотипів від популяційної рівноваги в групі пацієнтів з ПБКГ ( $\chi^2 = 5,17$ ;  $p = 0,02$ ), на відміну від відповідності закону Харді-Вайнберга в контрольній групі ( $\chi^2 = 0,01$ ;  $p = 0,95$ ).

У порівнянні з контролем (див. табл. 3.1), у групах хворих з різними клінічними варіантами захворювання відмічена тенденція до зменшення частоти гомозиготних носіїв мажорної алелі (*C/C*) та зростання частоти гомозигот за мінорною алеллю (*T/T*) при збільшенні стадії ПБКГ ( $p=0,012$ ). Найбільшого ступеня вираженості ця тенденція проявляється у хворих 3-ї групи, серед яких частота осіб з генотипом *C/C* була найменшою (0,44 проти 0,66 у контролі), а частота осіб гомозиготних за мінорним алеллем (*T/T*) –

найбільшою (0,13 проти 0,03 у контролі).

Таблиця 3.1 - Розподіл генотипів і алелей ОНП rs35934224 гена TXNRD2 в загальній групі пацієнтів з ПВКГ та в групах з різними клінічними варіантами захворювання

Генотипи	Контроль (n = 89)	1-а гр. (n = 24)	2-а гр. (n = 32)	3-я гр. (n = 24)	4-а гр. (n = 13)	$\chi^2$	ПВКГ (n = 93)	$\chi^{2*}$
<i>C/C</i>	0,66	0,76	0,64	0,44	0,50	19,59 p=0,012;	0,57	7,59 p=0,022
<i>C/T</i>	0,30	0,24	0,26	0,44	0,36		0,32	
<i>T/T</i>	0,03	0,00	0,10	0,13	0,10		0,10	
Алелі								
<i>C</i>	0,81	0,88	0,77	0,65	0,68	18,00 p=0,001	0,74	6,55 p=0,010
<i>T</i>	0,19	0,12	0,23	0,35	0,32		0,26	

Примітка. Група ПВКГ об'єднує всі спостереження (1-а – 4-а групи); n – кількість осіб; статистична значущість відмінностей між частотами для всієї таблиці генотипів (крім стовпчика «ПВКГ»):  $\chi^2=19,59$ ; p=0,012; статистична значущість відмінностей між частотами для всієї таблиці алелей (крім стовпчика «ПВКГ»):  $\chi^2=18,00$ ; p=0,001;  $\chi^{2*}=7,59$ ; p=0,022;  $\chi^2=6,55$ ; p=0,010; статистична значущість відмінностей між частотами генотипів та алелей групи Контроля та ПВКГ.

Дискримінантний аналіз виявив вагомий внесок відмінностей в розподілі генотипів ОНП rs35934224 у розподіл хворих по групам (F=4,21; p=0,002). Результати дисперсійного аналізу також підтвердили статистичну значущість відмінностей в розподілі генотипів ОНП rs35934224 на груповий показник (F=6,83; p=0,001).

Частоти алелей ОНП rs35934224 в різних групах дослідження представлені в табл. 3.1. Відмічена тенденція до зменшення частоти мажорної алелі *C* та збільшення частоти мінорної алелі *T* при збільшенні стадії ПВКГ (p=0,001). Найбільшого ступеня вираженості ця тенденція також проявляється у хворих 3-ї

групи, в якій частота мажорної алелі *C* була найменшою (0,65 проти 0,81 у контролі), а частота мінорної алелі *T* – найбільшою (0,35 проти 0,19 у контролі).

Оцінка статистичної значущості відмінностей в розподілі генотипів та частот алелей між групами наведена у таблиці 3.2. Результати аналізу виявили достовірні відмінності між контрольною групою та загальною групою пацієнтів з ПВКГ як в розподілі генотипів ( $\chi^2=7,59$ ;  $p=0,022$ ), так і частот алелей ( $\chi^2=6,55$ ;  $p=0,01$ ).

При порівнянні груп з різними клінічними варіантами захворювання та контролем статистичну значущість мали розбіжності за розподілом генотипів та алелей 3-ї (відповідно,  $\chi^2 = 12,35$ ;  $p = 0,002$  і  $\chi^2 = 12,42$ ;  $p = 4,2 \cdot 10^{-4}$ ) та 4-ї (відповідно,  $\chi^2 = 7,16$ ;  $p = 0,028$  і  $\chi^2 = 5,52$ ;  $p=0,019$ ) груп.

Таблиця 3.2 - Статистична значущість відмінностей в розподілі частот генотипів та алелей rs35934224 між групами

Група		Генотипи			Алелі		
		$\chi^2$	df	p	$\chi^2$	df	p
Контроль	ПВКГ	7,59	2	0,022	6,55	1	0,010
Контроль	1-а	1,25	2	0,535	1,13	1	0,288
Контроль	2-а	4,77	2	0,092	1,29	1	0,256
Контроль	3-я	12,35	2	0,002	12,42	1	$4,2 \cdot 10^{-4}$
Контроль	4-а	7,16	2	0,028	5,52	1	0,019
1-а	2-а	2,46	2	0,292	2,44	1	0,118
1-а	3-я	7,30	2	0,026	7,68	1	0,005
1-а	4-а	4,90	2	0,086	5,47	1	0,019
2-а	3-я	5,82	2	0,054	4,49	1	0,034
2-а	4-а	1,76	2	0,414	1,91	1	0,167
3-я	4-а	0,48	2	0,786	0,10	1	0,757

Примітка. Група ПВКГ об'єднує всі спостереження (1-а – 4-а групи);  $\chi^2$  – критерій  $\chi$ -квадрат за Pearson; df – число ступенів свободи; p – значущість відмінностей.

Отже, при стратифікації хворих за ступенем периметричних змін було з'ясовано, що розподіл генотипів і частота алелей ОНП *rs35934224* достовірно відрізняються від контролю лише при вираженій ПБКГ – у хворих з III та IV ступенем. Останнє свідчить про зв'язок поліморфізму ОНП *rs35934224* гена *TXNRD2* з ризиком розвитку важких форм ПБКГ.

При порівнянні груп з різними клінічними варіантами захворювання між собою були виявлені відмінності між 1-ю та 3-ю групами як за розподілом генотипів ( $\chi^2=7,30$ ;  $p=0,026$ ) так і по частоті алелей ( $\chi^2=7,68$ ;  $p=0,005$ ). Частота мінорної алелі T в 4-й групі, була достовірно більша, ніж в 1-й – 0,32 та 0,12, відповідно ( $\chi^2=5,47$ ;  $p=0,019$ ). Відмінності в розподілі генотипів між цими групами мали недостатній рівень статистичної значущості ( $\chi^2 = 4,09$ ;  $p = 0,086$ ). При порівнянні 2-ї і 3-ї груп достовірні відмінності також були виявлені лише по частоті алелей ( $\chi^2=4,49$ ;  $p=0,034$ ), а відмінності в розподілі генотипів між цими групами мали недостатній рівень статистичної значущості ( $\chi^2 = 5,82$ ;  $p = 0,054$ ).

Враховуючі отримані результати, надалі більш детально було проаналізовано відмінності в частоті генотипів і алелей ОНП *rs35934224* гена *TXNRD2* між контрольною групою і загальною групою хворих на ПБКГ (рис. 3.1).

Частота гомозиготних (C/C) та гетерозиготних (C/T) носіїв мажорної алелі в контрольній групі та у хворих на ПБКГ статистично не відрізнялась ( $p=0,098$  і  $p=0,376$  відповідно). Частота гомозигот за мінорною алелю T/T у хворих з ПБКГ була у 3,3 рази вищою, ніж в контрольній групі ( $p=0,008$ ).

Частота мажорної алелі C у хворих з ПБКГ була у 1,1 рази нижче ( $p=0,013$ ), а частота мінорної алелі T – у 1,4 рази вище, ніж у контролі ( $p=0,013$ ).

Результати оцінки ступеня асоціації ОНП *rs35934224* гена *TXNRD2* з ПБКГ представлені в таблиці 3.3.

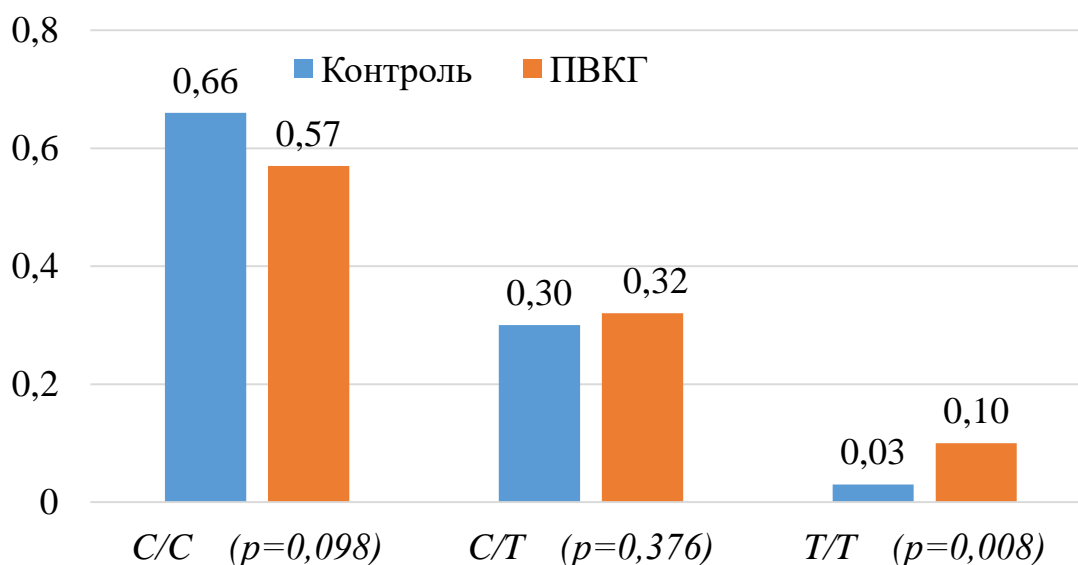


Рисунок 3.1 - Статистична значущість відмінностей між частотами генотипів *rs35934224* контрольної групи і хворих на ПВКГ. Відмінності між групами вірогідні за частотою носіїв генотипу *T/T* ( $p=0,008$ ) за критерієм  $\chi^2$ -квадрат Pearson з поправкою Yates.

Таблиця 3.3 - Зв'язок ОНП *rs35934224* гена *TXNRD2* з розвитком ПВКГ

Генотипи Алелі	ПВКГ	Контроль	$\chi^2$	p	ВШ	95% ДІ
<i>C/C</i>	0,57	0,66	7,59	0,022	0,68	0,45 - 1,04
<i>C/T</i>	0,32	0,30			1,10	0,71 - 1,72
<i>T/T</i>	0,10	0,03			3,28	1,28 - 8,42
<i>C</i>	0,74	0,81	6,55	0,010	0,63	0,44 - 0,90
<i>T</i>	0,26	0,19			1,58	1,11 - 2,25

Примітка.  $\chi^2$  – критерій  $\chi^2$ -квадрат за Pearson; p – значущість відмінностей; ВШ – відношення шансів; 95% ДІ – 95% довірчий інтервал для величини ВШ.

Як видно з таблиці 3.3 наявність мінорної алелі *T* у 1,6 рази збільшує шанси розвитку ПВКГ (ВШ=1,58; 95% ДІ 1,11-2,25), тоді як носійство мажорної алелі *C* має протективний характер щодо розвитку цієї патології: ВШ = 0,63; 95% ДІ 0,44-0,90, p = 0,01. При цьому наявність мінорної алелі



адитивно збільшує шанси розвитку ПБКГ. Так, у гомозиготних носіїв мажорної алелі *C* показник ВШ = 0,68 (95% ДІ 0,45-1,04),  $p = 0,022$ ; що вказує на протектвний вплив щодо розвитку патології (шанси розвитку ПБКГ зменшуються у 1,5 рази). У гетерозиготних за ОНП *rs35934224* гена *TXNRD2* осіб шанси розвитку ПБКГ збільшуються в 1,1 рази (ВШ = 1,1 (95% ДІ 0,71-1,72),  $p = 0,022$ ). Гомозиготне носійство мінорної алелі *T* у 3,3 рази збільшує шанси розвитку ПБКГ (ВШ=3,28; 95% ДІ 1,28-8,42).

Таким чином, наявність та гомозиготне носійство мінорної алелі *T* ОНП *rs35934224* гена *TXNRD2* можна розглядати як фактор ризику розвитку ПБКГ в українській популяції.

### **3.2 Зв'язок ризику розвитку первинної відкритокутової глаукоми з ОНП *rs35934224* гена *TXNRD2***

Для поглибленого аналізу асоціації ОНП *rs35934224* гена *TXNRD2* з розвитком різних клінічних варіантів та прогресуванням захворювання проводили порівняння окремо по групах хворих з різними стадіями ПБКГ (проведено для порівнянь, які мали статистичну вірогідність – див. табл. 3.2).

Згідно до отриманих даних, достовірні відмінності в розподілі генотипів були виявлені між контрольною та 3-ю групами (рис. 3.2).

Частота осіб гомозиготних за мажорною алелю (*C/C*) серед хворих 3-ї групи була у 1,5 рази нижче ( $p=0,004$ ), а частота гомозиготних за мінорною алелю (*T/T*) – у 4,3 рази вище ( $p = 0,021$ ), ніж в контрольній групі. Збільшення частоти хворих 3-ї групи гетерозиготних за ОНП *rs35934224* (*C/T*) у 1,5 рази, порівняно з контрольною групою, не набувало статистичної значущості ( $p=0,096$ ).

Результати оцінки ступеня асоціації поліморфізму ОНП *rs35934224* гена *TXNRD2* з ПБКГ 3-ї стадії представлені в таблиці 3.4

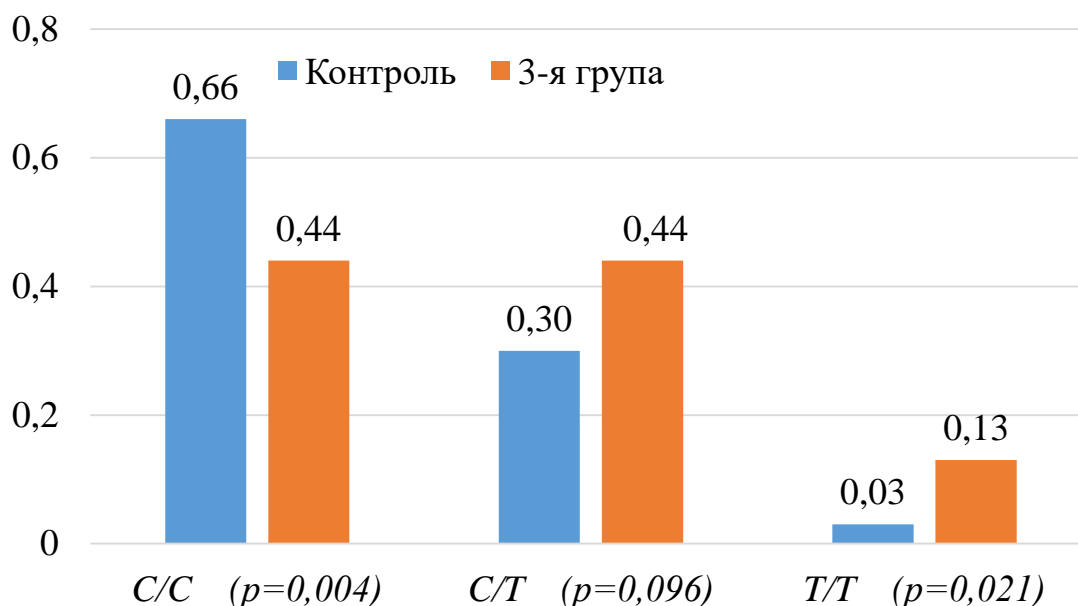


Рисунок 3.2 - Статистична значущість відмінностей між частотами генотипів і алелей *rs35934224* хворих контрольної і 3-ї груп. Відмінності між групами вірогідні при порівнянні розподілів генотипів *C/C* ( $p=0,004$ ), *T/T* ( $p=0,021$ ) критерієм ксі-квадрат Pearson з поправкою Yates.

Таблиця 3.4 - Зв'язок поліморфізму ОНП *rs35934224* гена *TXNRD2* з розвитком ПВКГ 3-ї стадії

Генотипи Алелі	3-я група	Контроль	$\chi^2$	p	ВШ	95% ДІ
<i>C/C</i>	0,44	0,66	12,35	0,002	0,39	0,21 – 0,73
<i>C/T</i>	0,44	0,30			1,78	0,96 – 3,31
<i>T/T</i>	0,13	0,03			4,18	1,34 – 13,02
<i>C</i>	0,65	0,81	12,42	p-0,0004	0,43	0,27 – 0,69
<i>T</i>	0,35	0,19			2,32	1,44 – 3,73

Примітка.  $\chi^2$  – критерій  $\chi$ -квадрат за Pearson; p – значущість відмінностей; ВШ – відношення шансів; 95% ДІ – 95% довірчий інтервал для величини ВШ.

При порівнянні контрольної групи з 3-ю групою хворих відмічено збільшення частоти мінорної алелі *T* у 1,8 рази – 0,19 та 0,35, відповідно

( $p=0,001$ ) і зменшення частоти мажорної алелі *C* у 1,2 рази – 0,81 та 0,65, відповідно ( $p=0,001$ ). Як видно з таблиці 3.4 носійство мінорної алелі (незалежно від алельного статусу) збільшує у 2,32 рази шанси розвитку ПБКГ 3-ї стадії (ВШ = 2,32; 95% ДІ 1,44 – 3,73), тоді як носійство мажорної алелі має протективний характер щодо розвитку цієї стадії захворювання: ВШ = 0,43; 95% ДІ 0,27 – 0,69,  $p = 0,0004$ . Наявність мінорної алелі адитивно збільшує шанси розвитку ПБКГ 3-ї стадії. Так, у гомозиготних носіїв мажорної алелі *C* показник ВШ = 0,39 (95% ДІ 0,21 – 0,73),  $p = 0,002$ ; що вказує на протективний вплив щодо розвитку цієї стадії патології (шанси розвитку ПБКГ 3-ї стадії зменшуються у 2,6 рази). У гетерозиготних за ОНП *rs35934224* гена *TXNRD2* осіб шанси розвитку ПБКГ 3-ї стадії збільшуються у 1,78 рази (ВШ = 1,78, 95% ДІ 0,96 – 3,31),  $p = 0,022$ . Гомозиготне носійство мінорної алелі *T* у 4,18 рази збільшує шанси розвитку ПБКГ 3-ї стадії (ВШ=4,18; 95% ДІ 1,34 – 13,02),  $p = 0,022$ .

Таким чином, наявність та гомозиготне носійство мінорної алелі *T* ОНП *rs35934224* гена *TXNRD2* можна розглядати як фактор ризику розвитку ПБКГ 3-ї стадії в українській популяції. При цьому слід зазначити, що сила асоціативного зв'язку ОНП *rs35934224* із збільшенням ступеня периметричних змін (у хворих ПБКГ 3-ї стадії) збільшувалася (порівняно з результатами аналізу щодо загальної групи пацієнтів з ПБКГ), що вказувало, на наш погляд, на асоціацію цього поліморфізму не тільки з виникненням, а й з прогресуванням ПБКГ.

Згідно до наведених у таблиці 3.2 даних, статистично значущі відмінності були виявлені в розподілі генотипів між контрольною та 4-ю групою (рис. 3.3).

В данному випадку, вірогідним було збільшення частоти осіб гомозиготних за мінорною алелю (*T/T*) в цій групі хворих, порівняно з контролем – 0,10 та 0,03, відповідно ( $p=0,043$ ). Зміни частот інших генотипів, хоча і відповідали загальним тенденціям, але статистичної значущості не мали.

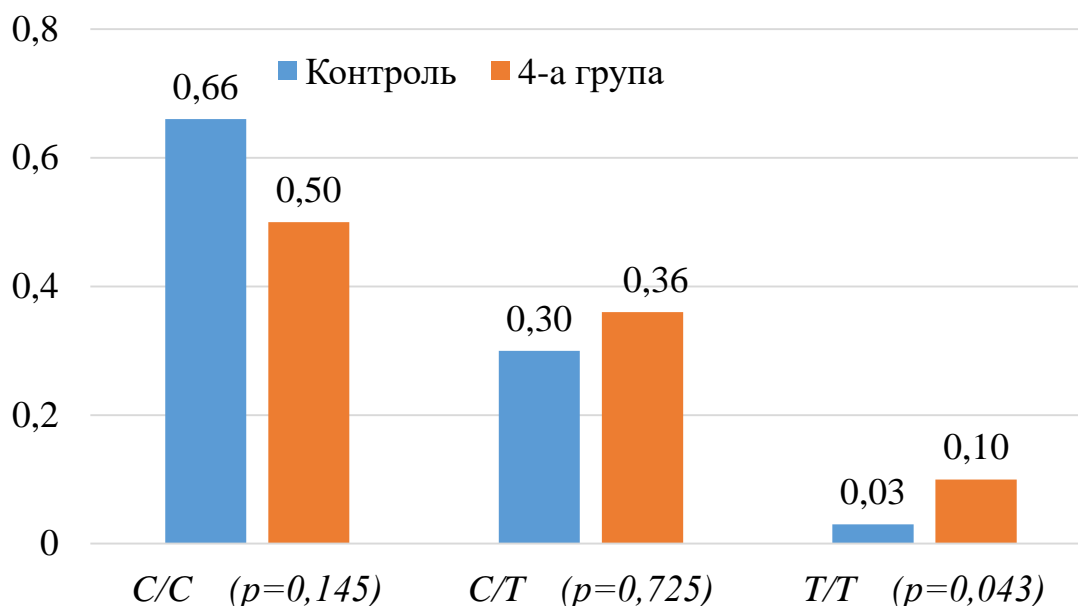


Рисунок 3.3 - Статистична значущість відмінностей між частотами генотипів і алелей *rs35934224* в контрольній і в 4-й групах. Відмінності між групами значущі при порівнянні розподілів генотипів *T/T* ( $p=0,043$ ) за критерієм  $\chi$ -квадрат Pearson з поправкою Yates.

Результати оцінки ступеня асоціації поліморфізму ОНП *rs35934224* гена *TXNRD2* з ПБКГ 4-ї стадії представлені в таблиці 3.5.

Таблиця 3.5 - Зв'язок поліморфізму ОНП *rs35934224* гена *TXNRD2* з розвитком ПБКГ 4-ї стадії

Генотипи Алелі	4-а група	Контроль	$\chi^2$	p	ВШ	95% ДІ
C/C	0,50	0,66	7,16	0,028	0,51	0,23 – 1,14
C/T	0,36	0,30			1,28	0,55 – 2,94
T/T	0,10	0,03			4,78	1,26 – 18,16
C	0,68	0,81	5,52	0,019	0,48	0,26 – 0,89
T	0,32	0,19			2,08	1,12 – 3,87

Примітка.  $\chi^2$  – критерій  $\chi$ -квадрат за Pearson; p – значущість відмінностей; ВШ – відношення шансів; 95% ДІ – 95% довірчий інтервал для величини ВШ.

При порівнянні контрольної групи з 4-ю групою хворих відмічено збільшення частоти мінорної алелі *T* у 1,7 рази – 0,19 та 0,32, відповідно ( $p=0,03$ ) і зменшення частоти мажорної алелі у 1,2 рази – 0,81 та 0,68, відповідно ( $p=0,03$ ). Як видно з таблиці 3.5 наявність мінорної алелі (збільшує у 2,08 рази шанси розвитку ПВКГ 4-ї стадії (ВШ = 2,08; 95% ДІ 1,12 – 3,87), тоді як носійство мажорної алелі має протективний характер щодо розвитку цієї стадії захворювання, зменшуючи шанси її розвитку у 2,1 рази (ВШ=0,48; 95% ДІ 0,26-0,89),  $p = 0,019$ . Наявність мінорної алелі адитивно збільшує шанси розвитку ПВКГ 4-ї стадії. У гомозиготних носіїв мажорної алелі *C* показник ВШ = 0,51 (95% ДІ 0,23 – 1,14),  $p = 0,028$ ; що вказує на протективний вплив щодо розвитку цієї стадії патології (шанси розвитку ПВКГ 4-ї стадії зменшуються у 2 рази). У гетерозиготних за ОНП *rs35934224* гена *TXNRD2* осіб шанси розвитку ПВКГ 4-ї стадії збільшуються у 1,28 разів (ВШ = 1,78, 95% ДІ 0,55 – 2,94),  $p=0,028$ . Гомозиготне носійство мінорної алелі *T* у 4,78 рази збільшує шанси розвитку ПВКГ 4-ї стадії (ВШ=4,78; 95% ДІ 1,26 – 18,16),  $p = 0,028$ .

При оцінці результатів аналізу можна було б очікувати більш сильний асоціативний зв'язок ОНП *rs35934224* з ПВКГ 4-ї стадії, ніж 3-ї стадії. Але, як видно з таблиць 3.4 та 3.5 ступінь асоціації суттєво не відрізнявся. Вірогідних відмінностей в розподілі генотипів і частот алелей за дослідженим поліморфізмом у цих групах за даними таблиць 3.1 та 3.2 також відмічено не було.

У зв'язку з цим, можна висунути припущення про те, що патогенетичне значення поліморфізму *rs35934224* проявлявся саме при переході ПВКГ з II стадії у III. Дійсно, достовірних відмінностей в частоті генотипів і алелей ОНП *rs35934224* між групою контролю та хворими на ПВКГ з I-ю та II-ю стадією не виявлено (див. табл. 3.1 і 3.2). З іншого боку, не виявлено вірогідної різниці за цими показниками й між хворими з III і IV стадіями. На наш погляд, такі закономірності можуть бути пов'язані з формуванням й прогресуванням саме при III-й стадії патологічної ексавації диску зорового нерву, що відображає

незворотнє зменшення кількості нервових волокон, кровоносних судин та гліальних клітин [20].

Для дослідження можливого зв'язку ОНП *rs35934224* гена *TXNRD2* з прогресуванням ПВКГ був проведений порівняльний аналіз між 1-ю та 3-ю (рис. 3.4) і 4-ю групами за результатами якого виявлені статистично значущі відмінності (див табл. 3.2). Зокрема, мало місце зменшення частоти пацієнтів гомозиготних за мінорною алелю (*C/C*) у 3-й групі у 1,7 рази, порівняно з 1-ю ( $p=0,022$ ). Частота гетерозиготних за ОНП *rs35934224* пацієнтів 3-ї групи хоча й збільшувалася (у 1,8 рази) у порівнянні з 1-ю групою, але відмінності були статистично недостовірними ( $p=0,184$ ).

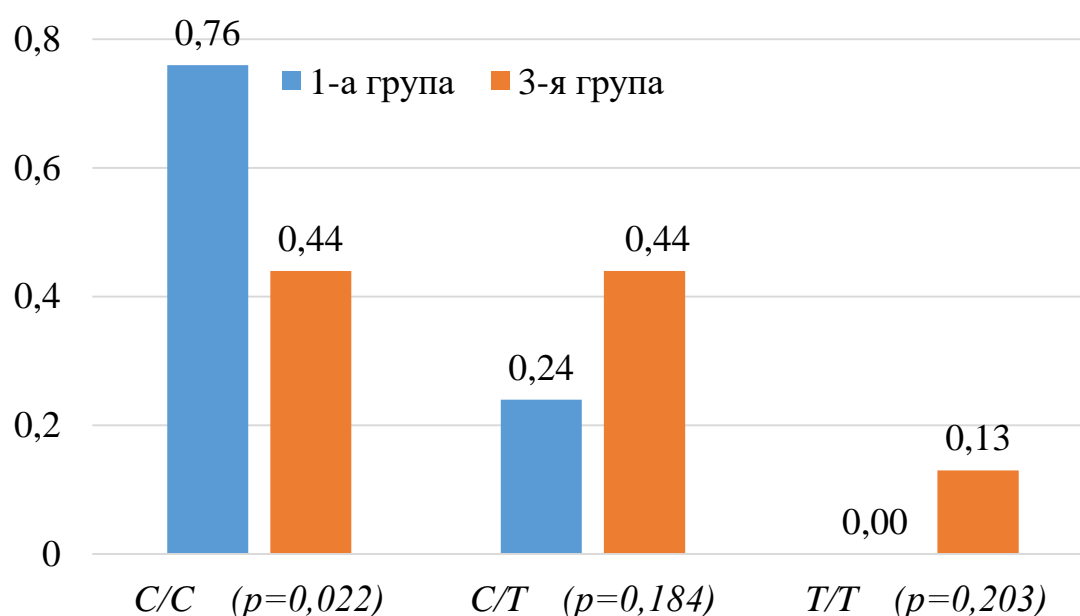


Рисунок 3.4 - Статистична значущість відмінностей між частотами генотипів і алелей *rs35934224* хворих 1-ї і 3-ї груп. Відмінності між групами вірогідні при порівнянні розподілів генотипів *C/C* ( $p=0,022$ ) за критерієм  $\chi$ -квадрат Pearson з поправкою Yates.

Гомозиготних за мінорною алелю (*T/T*) пацієнтів у 1-й групі виявлено не було, однак внаслідок малої чисельності цієї групи ( $n=11$ ), відмінності від 3-ї групи були статистично недостовірними ( $p=0,203$ ).

Як і при порівнянні з контрольною групою, частота мажорної алелі *C* у

хворих 3-ї групи була нижчою (у 1,4 рази),  $p = 0,01$ , а частота мінорної алелі  $T$  – вищою (у 2,9 рази)  $p=0,01$ , ніж в 1-й групі. Сила асоціації з ПВКГ у хворих 3-ї групи (табл. 3.6) була суттєво вищою за таку у хворих 1-ї групи ( $\chi^2=7,30$ ;  $p=0,026$ ). Гомозиготне носійство мінорної алелі ( $T/T$ ) у 6,7 рази збільшувало шанси розвитку III стадії ПВКГ, ніж I-ї (ВШ=6,65; 95% ДІ 1,36-121,75), тоді як у гомозиготних за мажорною алелю ( $C/C$ ) пацієнтів такі шанси зменшувались у 4,2 рази (ВШ=0,24; 95% ДІ 0,08-0,75).

Таблиця 3.6 - Вплив генотипів і алелей rs35934224 на розвиток ПВКГ у хворих 1-ї і 3-ї груп і ступінь їх асоціації з захворюванням

Генотипи Алелі	3-я група	1-а група	$\chi^2$	p	ВШ	95% ДІ
$C/C$	0,44	0,76	7,30	0,026	0,24	0,08 – 0,75
$C/T$	0,44	0,24			2,48	0,79 – 7,72
$T/T$	0,13	0,00			6,65	1,36 – 121,75
$C$	0,65	0,88	7,68	0,005	0,26	0,09 – 0,71
$T$	0,35	0,12			3,91	1,42 – 10,76

Примітка.  $\chi^2$  – критерій  $\chi$ -квадрат за Pearson; p – значущість відмінностей; ВШ – відношення шансів; 95% ДІ – 95% довірчий інтервал для величини ВШ.

При порівнянні 3-ї групи з 1-ю було встановлено, що й гетерозиготне носійство мінорної алелі  $T$  суттєво підвищує шанси розвитку III-ї стадії ПВКГ, ніж I-ї – у 2,5 рази (ВШ=2,48; 95% ДІ 0,79-7,72).

Наявність мінорної алелі  $T$  (незалежно від алельного статусу) у 3,9 рази збільшує шанси розвитку ПВКГ III-ї стадії, ніж I-ї (ВШ=3,91; 95% ДІ 1,42-10,76),  $p = 0,005$ . Носійство мажорної алелі  $C$  такі шанси зменшує у 3,8 рази (ВШ=0,26; 95% ДІ 0,09-0,71).

Достовірні відмінності були виявлені в частоті алелей ОНП rs35934224 при порівнянні 4-ї і 1-ї груп (рис 3.5). Частота мажорної алелі  $C$  у хворих 4-ї групи була у 1,3 рази нижче ( $p=0,036$ ), а частота мінорної алелі  $T$  – у 2,7 рази

вище ( $p=0,036$ ), ніж в 1-й. Достовірних відмінностей між групами в частоті генотипів за дослідженим поліморфізмом не було виявлено.

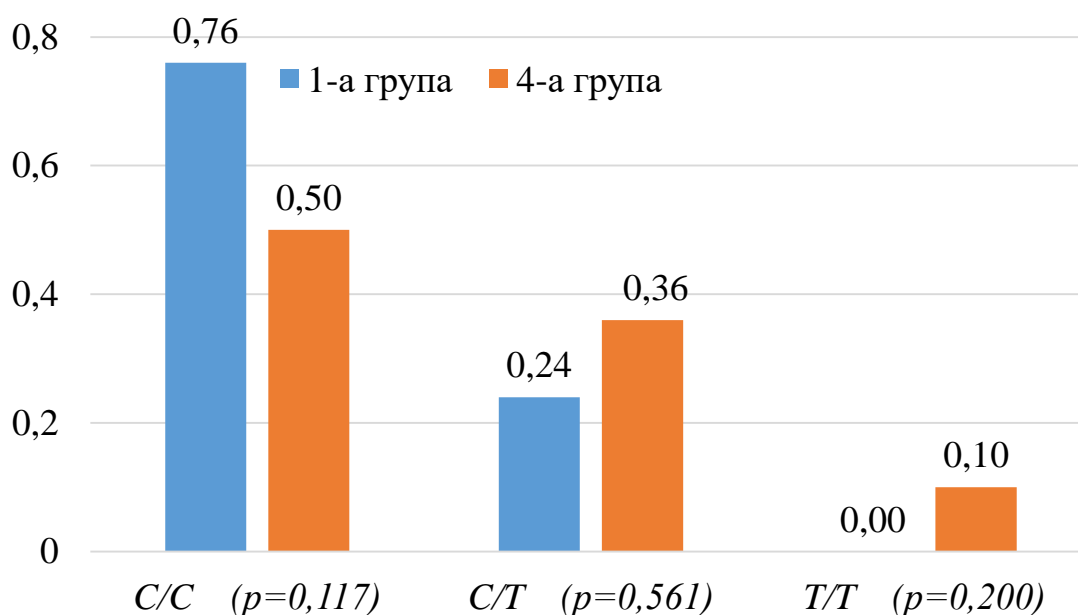


Рисунок 3.5 - Статистична значущість відмінностей між частотами генотипів *rs35934224* хворих 1-ї і 4-ї груп. Відмінності між групами вірогідні при порівнянні за критерієм  $\chi^2$ -квадрат Pearson з поправкою Yates.

Асоціація з ПБКГ у хворих 4-ї групи (табл. 3.7) у порівнянні з хворими 1-ї групи була статистично не значущою ( $\chi^2=4,90$ ;  $p=0,086$ ).

Таблиця 3.7 - Вплив генотипів і алелей *rs35934224* на розвиток ПБКГ у хворих 1-ї і 4-ї груп і ступінь їх асоціації з захворюванням

Генотипи Алелі	4-а група	1-а група	$\chi^2$	p	ВШ	95% ДІ
C/C	0,50	0,76	4,90	0,086	0,31	0,09 – 1,09
C/T	0,36	0,24			1,78	0,50 – 6,31
T/T	0,10	0,00			7,90	0,40 – 155,28
C	0,68	0,88	5,47	0,019	0,29	0,10 – 0,85
T	0,32	0,12			3,51	1,18 – 10,42

Примітка.  $\chi^2$  – критерій  $\chi^2$ -квадрат за Pearson; p – значущість відмінностей; ВШ – відношення шансів; 95% ДІ – 95% довірчий інтервал для величини ВШ.



Разом з тим, наявність мінорної алелі *T* (незалежно від алельного статусу) у 3,5 рази збільшує шанси розвитку ПБКГ IV-ї стадії, ніж I-ї (ВШ=3,51; 95% ДІ 1,18 – 10,42),  $p = 0,019$ . Носійство мажорної алелі *C* такі шанси зменшує у 3,4 рази (ВШ=0,29; 95% ДІ 0,10-0,85),  $p = 0,019$ .

Таким чином, проведений аналіз підтверджує припущення про асоціацію ОНП *rs35934224* не тільки з ПБКГ, але й з прогресуванням цієї патології, оскільки частота мінорного алеля в проаналізованих групах зростала із збільшенням тяжкості патологічного процесу. При цьому, стратифікація за стадіями периметричних змін при ПБКГ показала, що асоціація дослідженого поліморфізму з захворюванням була значущою на III і IV стадіях. Більш того, шанси розвитку III стадії ПБКГ були суттєво вищими у порівнянні з I стадією у носіїв генотипів *C/T* і *T/T* та алелі *T*. У цьому ж плані посилювалася і протекторний вплив гомозиготного носійства мажорної алелі (*C/C*).

Аналіз відмінностей в розподілі генотипів та частот алелей ОНП *rs35934224* між II та III стадіями ПБКГ, дозволив би чітко провести лінію розподілу по наявності асоціації з захворюванням. Проведене дослідження показало, що загальна тенденція змін частот генотипів і алелей була аналогічною при порівнянні 1-ї групи з 3-ю та 4-ю.

При порівнянні 2-ї і 3-груп (рис. 3.6) виявлено зменшення частоти носіїв генотипів *C/C* і *C/T* у 3-й групі у порівнянні з 2-ю (відповідно,  $p=0,028$  і  $p=0,049$ ). Також встановлено збільшення частоти мінорної алелі *T* в 3-групі, порівняно з 2-ю – 0,35 та 0,23, відповідно ( $p=0,047$ ).

За розподілом генотипів сила асоціації з ПБКГ у хворих 3-ї групи (табл. 3.8) не відрізнялася від такої у хворих 2-ї групи ( $p=0,054$ ). Але при порівнянні частот алелей така відмінність набувала статистичної значущості ( $\chi^2=4,49$ ;  $p=0,034$ ). Носійство мінорної алелі *T* (незалежно від алельного статусу) збільшувало у 1,8 рази шанси розвитку III-ї стадії ПБКГ, ніж II-ї (ВШ=1,78; 95% ДІ 1,04-3,05), тоді як наявність мажорної алелі *C* такі шанси зменшувала у 1,8 рази (ВШ=0,56; 95% ДІ 0,33-0,96).

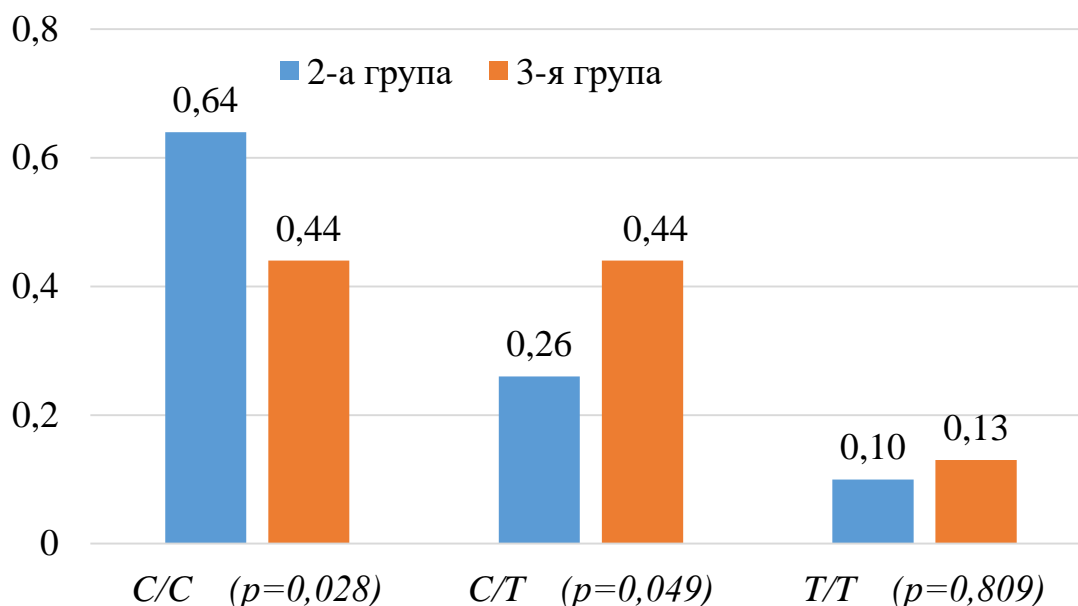


Рисунок 3.6 - Статистична значущість відмінностей між частотами генотипів *rs35934224* хворих 2-ї і 3-ї груп. Відмінності між групами вірогідні при порівнянні генотипів C/C ( $p=0,028$ ), C/T ( $p=0,049$ ) за критерієм  $\chi$ -квадрат Pearson з поправкою Yates.

Таблиця 3.8 - Вплив генотипів і алелей *rs35934224* на розвиток ПБКГ у хворих 2-ї і 3-ї груп і ступінь їх асоціації з захворюванням

Генотипи Алелі	3-я група	2-а група	$\chi^2$	p	ВШ	95% ДІ
C/C	0,44	0,64	5,82	0,054	0,43	0,21 – 0,87
C/T	0,44	0,246			2,21	1,07 – 4,58
T/T	0,13	0,10			1,33	0,45 – 3,91
C	0,65	0,77	4,49	0,034	0,56	0,33 – 0,96
T	0,35	0,23			1,78	1,04 – 3,05

Примітка.  $\chi^2$  – критерій  $\chi$ -квадрат за Pearson; p – значущість відмінностей; ВШ – відношення шансів; 95% ДІ – 95% довірчий інтервал для величини ВШ.

Додаткова інформація була отримана при аналізі асоціації ОНП *rs35934224* гена *TXNRD2* з ПБКГ в домінантній та рецесивній моделях

успадкування (табл. 3.9).

Таблиця 3.9 - Значущість відмінностей в розподілі генотипів rs35934224 за домінантною та рецесивною моделями успадкування ступінь їх асоціації з захворюванням

Генотипи		ПВКГ	Контроль	$\chi^2$	p	ВШ	95% ДІ
Дом.	<i>C/C</i>	0,573	0,663	3,11	0,078	0,68	0,45 – 1,04
	<i>C/T+T/T</i>	0,427	0,337			1,47	0,96 – 2,24
Рец.	<i>C/C+C/T</i>	0,897	0,966	6,73	0,009	0,30	0,12 – 0,78
	<i>T/T</i>	0,103	0,034			3,28	1,28 – 8,42

Примітка. Рец. – рецесивна модель, Дом. – домінантна модель;  $\chi^2$  – критерій  $\chi$ -квадрат за Pearson; p – значущість відмінностей; ВШ – відношення шансів; 95% ДІ – 95% довірчий інтервал для величини ВШ.

Розподіл генотипів rs35934224 за домінантною моделлю успадкування (*C/C* проти *C/T + T/T*) не мав статистичної значущості за критерієм  $\chi^2$  Пірсона ( $p=0,078$ ). Розподіл генотипів за рецесивною моделлю успадкування (*C/C + C/T* проти *T/T*) був значущим ( $\chi^2=6,73$ ;  $p=0,009$ ), що вказувало на наявність асоціації з ПВКГ. Генотипом ризику був мінорний генотип *T/T*, за наявності якого ризик розвитку ПВКГ відповідно до рецесивної моделі успадкування був 3,3 рази вищий, ніж у носіїв мажорної алелі (незалежно від алельного статусу): ВШ=3,28; 95% ДІ 1,28-8,42,  $p = 0,009$ .

### Резюме

Одже проведені нами дослідження встановили вперше в українській популяції асоціацію ОНП rs35934224 гена *TXNRD2* з ПВКГ. Носійство мінорної алелі Т збільшує ризик захворювання в 1,6 рази (ВШ=1,58, 95% ДІ 1,11-2,25,  $p = 0,01$ ). Носійство мажорної алелі С має протективний характер щодо розвитку цієї патології: ВШ = 0,63; 95% ДІ 0,44-0,90,  $p = 0,01$ .

Також було встановлено, що наявність мінорного алельного варіанта rs35934224 гена *TXNRD2* адитивно збільшує шанси розвитку ПВКГ. Для

гетерозигот за ОНП *rs35934224* гена *TXNRD2* ВШ = 1,1 (95% ДІ 0,71-1,72). Для гомозиготних носіїв мінорної алелі ВШ=3,28; (95% ДІ 1,28-8,42),  $p = 0,022$ .

При стратифікації за ступенем периметричних змін було встановлено, що достовірні відмінності розподілу генотипів та частот алелей ОНП *rs35934224* гена *TXNRD2* від контрольної групи виявлені лише у хворих на ПБКГ III та IV ступенів.

Дослідження показало, що асоціація ОНП *rs35934224* гена *TXNRD2* з ПБКГ посилюється із збільшенням тяжкості захворювання. Гомозиготне носійство мінорної алелі (*T/T*) у 6,7 рази збільшує шанси розвитку III стадії ПБКГ (ВШ=6,65; 95% ДІ 1,36-121,75),  $p = 0,026$ .

Даний розділ висвітлений у матеріалах наступних публікацій здобувача: [27, 144, 146].

## РОЗДІЛ 4

### ЗВ'ЯЗОК ПЕРВИННОЇ ВІДКРИТОКУТОВОЇ ГЛАУКОМИ З ПОЛІМОРФІЗМАМИ *rs2745599* та *rs984253* ГЕНА *FOXC1*

#### 4.1 Зв'язок ризику розвитку та перебігу первинної відкритокутової глаукоми з ОНП *rs2745599* гена *FOXC1*

Генотипування ОНП *rs2745599* та *rs984253* гена *FOXC1* було проведено у 89 осіб контрольної групи та 93 пацієнтів з ПВКГ різних клінічних варіантів. За результатами генотипування визначали частоти генотипів і алелей в загальній групі пацієнтів з ПВКГ та в контрольній групі. Для аналізу можливої асоціації досліджених ОНП з прогресуванням ПВКГ додатково розраховували частоти генотипів і алелей в групах з різними клінічними варіантами (згідно до ступеня периметричних змін за класифікацією А.П. Нестерова) [20]. Статистичний аналіз відмінностей розподілу генотипів і частот алелей проводили між всіма дослідженими групами.

Результати генотипування ОНП *rs2745599* гена *FOXC1* представлені в таблиці 4.1.

Слід зазначити, що аналіз розподілу генотипів виявив невідповідність рівновазі Харді-Вайнберга як в контрольній групі ( $\chi^2=8,56$ ;  $p=0,003$ ), так і в групі хворих на ПВКГ ( $\chi^2=8,47$ ;  $p=0,004$ ).

У порівнянні з контролем (див. табл. 4.1), як у всіх хворих (стовпчик «ПВКГ»), так і по окремим групам була відмічена тенденція до зменшення частоти предкового гомозиготного генотипу *G/G* та збільшення частоти мінорного генотипу *A/A*, що відображено на рисунку 4.1, однак ці відмінності не були статистично значущими ( $p=0,156$ ).

У порівнянні з контролем (див. табл. 4.1), у групах хворих з різними клінічними варіантами захворювання відмічена тенденція до збільшення

частоти носіїв генотипу *A/A* при збільшенні стадії ПВКГ, однак ці відмінності не були статистично значущими ( $p=0,156$ ).

Таблиця 4.1 - Розподіл генотипів і алелей ОНП rs2745599 гена FOXC1 в загальній групі пацієнтів з ПВКГ та в групах з різними клінічними варіантами захворювання

Генотипи	Контроль (n = 89)	1-а гр. (n = 24)	2-а гр. (n = 32)	3-я гр. (n = 24)	4-а гр. (n = 13)	$\chi^2$	ПВКГ (n = 93)	$\chi^{2*}$
<i>G/G</i>	0,24	0,14	0,14	0,14	0,14	11,88;	0,14	9,01
<i>G/A</i>	0,38	0,33	0,38	0,33	0,21	$p=0,156$	0,34	$p=0,011$
<i>A/A</i>	0,38	0,52	0,48	0,53	0,64		0,52	
Алелі								
<i>G</i>	0,43	0,31	0,33	0,31	0,25	12,11;	0,31	11,04
<i>A</i>	0,57	0,69	0,67	0,69	0,75	$p=0,016$	0,69	$p=0,0008$

Примітка. Група ПВКГ об'єднує всі спостереження (1-а – 4-а групи); n – кількість осіб; статистична значущість відмінностей між частотами для всієї таблиці генотипів (крім стовпчика «ПВКГ»):  $\chi^2=11,88$ ;  $p=0,156$ ; статистична значущість відмінностей між частотами для всієї таблиці алелей (крім стовпчика «ПВКГ»):  $\chi^2=12,11$ ;  $p=0,016$ ;  $\chi^{2*}=9,01$ ;  $p=0,011$ ;  $\chi^{2*}=11,04$ ;  $p=0,0008$ ; статистична значущість відмінностей між частотами генотипів та алелей групи контролю та ПВКГ.

Необхідно відзначити, що найбільшого ступеня вираженості ця тенденція мала у 4-й групі, де частота гомозигот за мажорною алелю (*G/G*) була найменшою (0,14 проти 0,24 у контролі), а частота гомозиготних носіїв мінорної алелі (*A/A*) – найбільшою (0,64 проти 0,38 у контролі). Також у цій групі зменшувалася й частота гетерозиготних за даним поліморфізмом пацієнтів (0,21 проти 0,38 у контролі).

Дискримінантний аналіз виявив вагомий внесок відмінностей в розподілі генотипів ОНП rs2745599 у розподіл хворих по групам ( $F=2,50$ ;  $p=0,042$ ).

Результати дисперсійного аналізу також підтвердили статистичну значущість відмінностей в розподілі генотипів ОНП *rs2745599* на груповий показник ( $F=4,76$ ;  $p=0,009$ ).

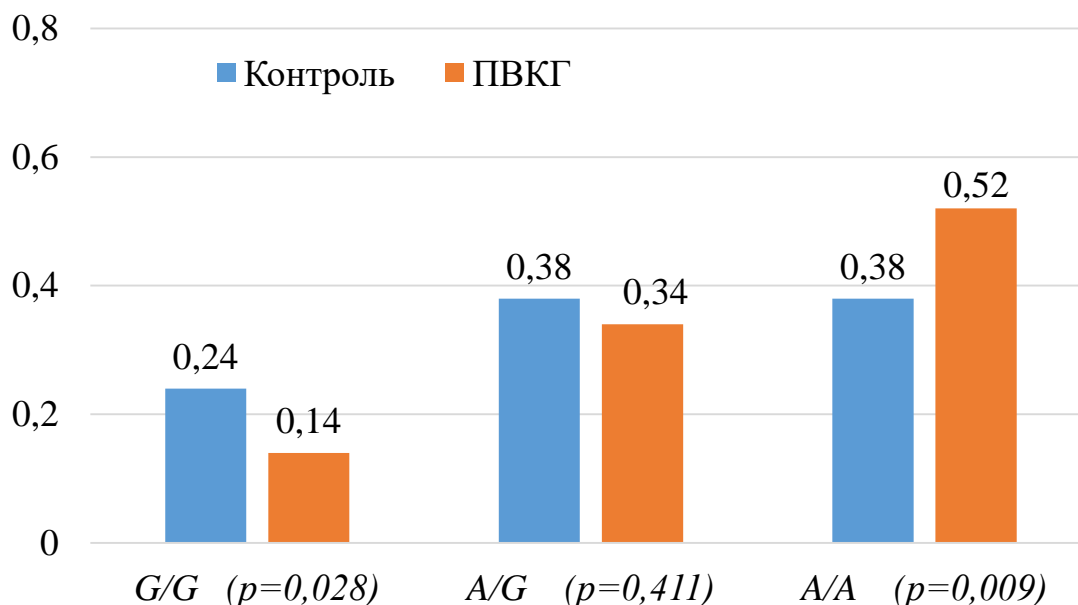


Рисунок 4.1 - Статистична значущість відмінностей між частотами генотипів *rs2745599* контрольної групи і груп хворих на ПВКГ. Відмінності між групами вірогідні при порівнянні частот генотипів G/G ( $p=0,028$ ), A/A ( $p=0,009$ ) за критерієм  $\chi$ -квадрат Pearson з поправкою Yates.

Розподілу генотипів відповідав й розподіл алелей: як у всіх хворих, так і у окремих групах хворих була відмічена чітка тенденція до зменшення частоти алелі G та збільшення частоти мінорної алелі A але, на відміну від розподілу генотипів, ці відмінності були статистично значущі ( $p=0,016$ ). Найбільшого ступеня ця тенденція також проявлялась у 4-й групі, в якій частота алелі G була найменшою (0,31 проти 0,43 у контролі), а частота мінорної алелі A – найбільшою (0,75 проти 0,57 у контролі) (див. табл. 4.1).

Оцінка статистичні значущості відмінностей в розподілі частот генотипів та алелей між групами за критерієм  $\chi^2$  Пірсона наведена у таблиці 4.2.

Результати аналізу показали значущість відмінностей між хворими на ПВКГ та контрольною групою за розподілом частот генотипів ( $\chi^2=9,01$ ;

$p=0,011$ ) і алелей ( $\chi^2=11,04$ ;  $p=0,0008$ ). Такий результат вказував на те, що розподіл частоти поліморфних варіантів *rs2745599* був пов'язаний з розвитком ПВКГ та визначав її прогресування за стадіями патологічного процесу.

Таблиця 4.2 - Статистична значущість відмінностей в розподілі частот генотипів та алелей *rs2745599* між групами

Група		Генотипи			Алелі		
		$\chi^2$	df	p	$\chi^2$	df	p
Контроль	ПВКГ	9,01	2	0,011	11,04	1	8,9-4
Контроль	1-а	1,79	2	0,409	2,13	1	0,144
Контроль	2-а	4,06	2	0,131	4,63	1	0,031
Контроль	3-я	4,07	2	0,130	4,87	1	0,027
Контроль	4-а	6,78	2	0,034	6,30	1	0,012
1-а	2-а	0,18	2	0,916	0,05	1	0,828
1-а	3-я	0,01	2	0,999	0,01	1	0,996
1-а	4-а	0,93	2	0,629	0,43	1	0,514
2-а	3-я	0,44	2	0,803	0,10	1	0,754
2-а	4-а	2,78	2	0,249	1,16	1	0,281
3-я	4-а	1,26	2	0,533	0,63	1	0,427

Примітка. Група ПВКГ об'єднує всі спостереження (1-а – 4-а групи);  $\chi^2$  – критерій  $\chi$ -квадрат за Pearson; df – число ступенів свободи; p – значущість відмінностей.

При порівнянні груп з різними клінічними варіантами захворювання між собою були виявлені відмінності між 1-ю та 4-ю групами як за розподілом генотипів ( $\chi^2=6,78$ ;  $p=0,034$ ) так і по частоті алелей ( $\chi^2=6,30$ ;  $p=0,012$ ). Для 2-ї та 3-ї груп також була виявлена статистична значущість відмінностей в частоті алелей, порівняно з контролем ( $\chi^2=4,63$ ;  $p=0,031$  і  $\chi^2=4,87$ ;  $p=0,027$ , відповідно).

Враховуючі отримані результати, більш детально було проаналізовано відмінності в розподілі частот генотипів і алелей між контрольною групою і загальною групою хворих на ПВКГ та результати оцінки ступеня асоціації



поліморфізму *rs2745599* гена *FOXC1* з ризиком розвитку захворювання (рис. 4.1 та табл. 4.3

Згідно до даних, наведених на рисунку 4.1 значущими були відмінності в частоті генотипів *G/G* і *A/A*, а також частоті алелей ОНП *rs2745599*. У порівнянні з контролем частота носіїв генотипу *G/G* у хворих на ПВКГ була зниженою у 1,7 рази ( $p=0,028$ ), частота гомозиготних носіїв мінорної алелі (*A/A*) була збільшеною у 1,4 рази ( $p=0,009$ ). Відповідно до цього, частота алелі *G* була зменшена (у 1,4 рази;  $p=0,001$ ), а частота мінорної алелі *A* – збільшена (у 1,2 рази;  $p=0,001$ ).

Отже, отримані дані дозволили вважати, що розподіл поліморфних варіантів *rs2745599* мав зв'язок з ПВКГ.

Це підтверджується результатами аналізу, представленими у таблиці 4.3.

Таблиця 4.3 - Вплив генотипів і алелей *rs2745599* на розвиток ПВКГ і ступінь їх асоціації з захворюванням

Генотипи/ Алелі	ПВКГ	Контроль	$\chi^2$	p	ВШ	95% ДІ
<i>G/G</i>	0,14	0,24	9,01	0,011	0,53	0,31 – 0,91
<i>A/G</i>	0,34	0,38			0,82	0,53 – 1,25
<i>A/A</i>	0,52	0,38			1,78	1,17 – 2,71
<i>G</i>	0,31	0,43	11,04	0,0008	0,60	0,44 – 0,81
<i>A</i>	0,69	0,57			1,67	1,23 – 2,27

Примітка.  $\chi^2$  – критерій  $\chi$ -квадрат за Pearson; p – значущість відмінностей; ВШ – відношення шансів; 95% ДІ – 95% довірчий інтервал для величини ВШ.

Як видно з таблиці 4.3 у гомозигот за мінорною алелю (*A/A*) у 1,8 рази збільшуються шанси розвитку ПВКГ (ВШ=1,78; 95% ДІ 1,17-2,71), тоді як гомозиготне носійство алелі *G* має протективний вплив щодо ризику розвитку захворювання (ВШ=0,53; 95% ДІ 0,31-0,91). Наявність мінорної алелі *A* підвищує шанси розвитку ПВКГ у 1,7 рази (ВШ=1,67; 95% ДІ 1,23-2,27).

Згідно до даних, наведених в таблиці 4.2 статистична значущість відмінностей розподілу частот алелей у порівнянні з контролем мала місце у 2-й та 3-й групах (відповідно,  $\chi^2=4,63$ ;  $p=0,031$  і  $\chi^2=4,87$ ;  $p=0,027$ ).

Розрахунок асоціації та генетичного ризику дозволив встановити, що у 2-й групі наявність мінорної алелі *A* збільшує у 1,5 рази шанси розвитку ПВКГ (ВШ=1,53; 95% ДІ 1,04-2,26), тоді як носійство алелі *G* такі шанси зменшує у 1,5 рази (ВШ=0,65; 95% ДІ 0,44-0,96).

У 3-й групі результати аналізу були аналогічними: наявність мінорної алелі *A* збільшує у 1,7 рази шанси розвитку ПВКГ (ВШ=1,67; 95% ДІ 1,06-2,63), тоді як носійство алелі *G* такі шанси зменшує у 1,7 рази (ВШ=0,60; 95% ДІ 0,38-0,95).

Ці результати показали відповідність загальній тенденції відмінностей розподілу частот поліморфних варіантів *rs2745599* гена *FOXCI* у 2-й та 3-й групах хворих.

При стратифікації за ступенем тяжкості ПВКГ зв'язок поліморфізму *rs2745599* гена *FOXCI* був виявлений лише з ризиком розвитку ПВКГ 4-ї стадії (див. табл. 4.2). На рисунку 4.2 показано, що статистично значущими у порівнянні з контролем були відмінності тільки в частоті гомозиготних носіїв мінорної алелі (*A/A*).

У порівнянні з контролем, частота мінорного генотипу *A/A* у хворих 4-ї групи була збільшеною у 1,7 рази ( $p=0,017$ ); частота предкової алелі *G* в цій групі була зменшена (у 1,7 рази;  $p=0,018$ ), а частота мінорної алелі *A* – збільшена (у 1,3 рази;  $p=0,018$ ).

Дані, що було отримано у 4-й групі показали, що поліморфізм *rs2745599* гена *FOXCI* мав відношення до формування ПВКГ найбільш тяжкого (IV) ступеня, а ризик швидкого прогресування захворювання був більшим саме у носіїв мінорної алелі *A*.

Це підтверджується результатами аналізу, наведеними в табл. 4.4., відповідно до яких виявлена асоціація поліморфізму *rs2745599* гена *FOXCI* з

ризиком розвитку ПВКГ IV ступеня.

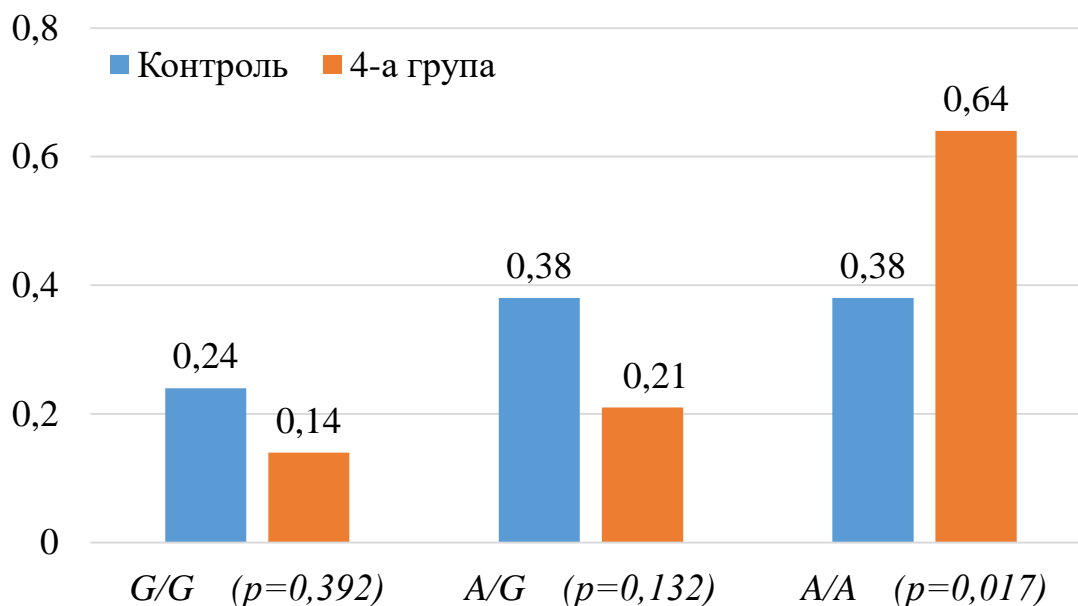


Рисунок 4.2 - Статистична значущість відмінностей між частотами генотипів *rs2745599* контрольної і 4-ї груп. Відмінності між групами вірогідні при порівнянні частот генотипу *A/A* ( $p=0,017$ ) за критерієм  $\chi$ -квадрат Pearson з поправкою Yates.

Таблиця 4.4 - Вплив генотипів і алелей *rs2745599* на розвиток ПВКГ у хворих контрольної та 4-ї груп і ступінь їх асоціації з захворюванням

Генотипи/ Алелі	4-а група	Контроль	$\chi^2$	p	ВШ	95% ДІ
<i>G/G</i>	0,14	0,24	6,78	0,034	0,54	0,18 – 1,64
<i>A/G</i>	0,21	0,38			0,44	0,17 – 1,14
<i>A/A</i>	0,64	0,38			2,91	1,27 – 6,68
<i>G</i>	0,25	0,43	6,30	0,012	0,60	0,24 – 0,86
<i>A</i>	0,75	0,57			2,24	1,18 – 4,24

Примітка.  $\chi^2$  – критерій  $\chi$ -квадрат за Pearson; p – значущість відмінностей; ВШ – відношення шансів; 95% ДІ – 95% довірчий інтервал для величини ВШ.

Як видно з табл. 4.4, у гомозигот за мінорною алелю (*A/A*) шанси розвитку ПВКГ IV ступеня збільшується у 2,9 рази (ВШ=2,91; 95% ДІ 1,27-6,68), а гомозиготність за мажорною алелю *G* має проєктивний характер (ВШ=0,54; 95% ДІ 0,18-1,64). Носійство мінорної алелі *A* є фактором ризику розвитку ПВКГ (ВШ=2,24; 95% ДІ 1,18-4,24).

Отже результати, що було отримано при стратифікації хворих за ступенем тяжкості ПВКГ показали, що у носіїв алелі *A* *rs2745599*, у порівнянні з контролем був не тільки збільшений ризик виникнення ПВКГ, але і ризик швидкого її прогресування та розвитку IV стадії захворювання.

Порівняння домінантної та рецесивної моделей успадкування захворювання представлено у таблиці 4.5.

Таблиця 4.5 - Значущість відмінностей в розподілі генотипів *rs2745599* за домінантною та рецесивною моделями успадкування і ступінь їх асоціації з захворюванням

Генотипи		ПВКГ	Контроль	$\chi^2$	p	ВШ	95% ДІ
Дом.	<i>G/G</i>	0,14	0,24	5,42	0,020	0,53	0,31 – 0,85
	<i>A/A+A/G</i>	0,86	0,76			1,89	1,10 – 3,24
Рец.	<i>A/G+G/G</i>	0,48	0,62	7,41	0,007	0,56	0,37 – 0,85
	<i>A/A</i>	0,52	0,38			1,78	1,17 – 2,71

Примітка. Рец. – рецесивна модель, Дом. – домінантна модель;  $\chi^2$  – критерій  $\chi$ -квадрат за Pearson; p – значущість відмінностей; ВШ – відношення шансів; 95% ДІ – 95% довірчий інтервал для величини ВШ.

Розподіл генотипів *rs2745599* за домінантною моделлю успадкування (*G/G* проти *G/A + A/A*) мав статистичну значущість за критерієм  $\chi^2$  Пірсона ( $\chi^2=5,42$ ;  $p=0,020$ ). Також і розподіл генотипів за рецесивною моделлю успадкування (*G/G + G/A* проти *A/A*) був значущим ( $\chi^2=7,41$ ;  $p=0,007$ ). Це фактично підтверджувало стійку асоціацію поліморфізму *rs2745599* з ПВКГ та

вказувало, на наш погляд, на відсутність впливу гетерозиготного носійства поліморфних варіантів *rs2745599* гена *FOXC1* на ризик розвитку ПВКГ.

#### 4.2 Зв'язок ризику розвитку та перебігу первинної відкритокутової глаукоми з ОНП *rs984253* гена *FOXC1*

Результати генотипування за ОНП *rs984253* гена *FOXC1* представлені в таблиці 4.6.

При цьому визначена відповідність розподілу генотипів до рівноваги Харді-Вайнберга в контрольній групі ( $\chi^2=0,53$ ;  $p=0,467$ ) і її відсутність в групі хворих на ПВКГ ( $\chi^2=33,89$ ;  $p=0,000000006$ ).

Таблиця 4.6 - Розподіл генотипів і алелей поліморфізму *rs984253* гена *FOXC1* у хворих з ПВКГ та у групах

Генотипи	Контроль	1-а гр.	2-а гр.	3-я гр.	4-а гр.	$\chi^2$	ПВКГ	$\chi^{2*}$
<i>T/T</i>	0,53	0,05	0,12	0,13	0,21	$71,35$ ; $p=0,01$	0,13	$65,83$ $p<0,001$
<i>T/A</i>	0,38	0,86	0,68	0,69	0,54		0,68	
<i>A/A</i>	0,09	0,09	0,20	0,19	0,25		0,19	
Алелі								
<i>T</i>	0,72	0,48	0,46	0,47	0,48	$46,60$ ; $p=0,01$	0,47	$46,52$ $p<0,001$
<i>A</i>	0,28	0,52	0,54	0,53	0,52		0,53	

Примітка. Група ПВКГ об'єднує всі спостереження (1-а – 4-а групи); статистична значущість відмінностей між частотами для всієї таблиці генотипів (крім стовпчика «ПВКГ»):  $\chi^2=71,35$ ;  $p=0,01$ ; статистична значущість відмінностей між частотами для всієї таблиці алелей (крім стовпчика «ПВКГ»):  $\chi^2=46,60$ ;  $p=0,01$ ;  $\chi^{2*}=65,83$   $p<0,001$ ;  $\chi^{2*}=46,52$ ;  $p<0,001$ ; статистична значущість відмінностей між частотами генотипів та алелей групи контролю та ПВКГ.

Розподіл генотипів за ОНП *rs984253* гена *FOXC1* у контрольній групі не досить суттєво відрізнявся від середньопопуляційних значень цього показника.

Так середньопопуляційна частота генотипу  $T/T$  в світі становить 0,695 (у наших дослідженнях – 0,53), генотипу  $T/A$  – 0,246 (у наших дослідженнях – 0,38), генотипу  $A/A$  – 0,059 (у наших дослідженнях – 0,09), Розподіл алелей у контрольній групі також був зрівняний з середньопопуляційними показниками у світі. Зокрема, середньопопуляційна частота алелі  $A$  – 0,182 (у наших дослідженнях – 0,28), Отже, дані отримані у контрольній групі, в цілому, відповідали середньопопуляційним даним.

Загалом, при порівнянні з контролем (див. табл. 4.6), у групах хворих відмічено чітке зменшення частоти гомозиготних носіїв мажорної алелі ( $T/T$ ) – у 2,5-10,6 рази (для всіх хворих – у 4,1 рази), що мало статистичну значущість на рівні  $p < 0,001$ . Частота гетерозигот ( $T/A$ ) та гомозиготних носіїв мінорної алелі ( $A/A$ ) суттєво збільшується – у 1,1-2,8 рази (для всіх хворих, відповідно – у 1,8 рази та 2,1 рази), що також було статистично значущим ( $p < 0,001$ ).

Найменший ступінь вираженості ця тенденція мала у 4-й групі, де частота носіїв гетотипу  $T/T$  серед інших груп була найбільшою (0,21 проти 0,53 у контролі), як і частота носіїв генотипу  $A/A$  (0,25 проти 0,09 у контролі). Отже, загальна тенденція відмінностей розподілу генотипів по групах хворих була однотипною.

Дискримінантний аналіз виявив дуже суттєвий внесок генетичного поліморфізму  $rs984253$  у розподіл хворих по групах ( $F=15,02$ ;  $p=0,00000000002$ ), Дисперсійний аналіз показав високий вплив генотипів поліморфізму  $rs984253$  на групи ( $F=26,36$ ;  $p=0,00000000002$ ).

На відміну від розподілу генотипів, розподіл алелей був майже однаковим у кожній групі при порівнянні з контролем та кількісно відповідав загальним даним. Це, на наш погляд, вже на даному етапі дослідження, свідчило щодо наявності прямого відношення поліморфізму  $rs984253$  до виникнення ПВКГ, але без впливу на її розвиток та прогресування.

Подальша оцінка статистичні значущості відмінностей розподілу генотипів та алелей між групами за критерієм  $\chi^2$  Пірсона наведена у таблиці 4.7.

Аналіз розрахованих показників показав статистичну значущість відмінностей контрольної групи як зі всіма хворими на ПВКГ, так і з кожною групою окремо, що стосувалося і генотипів (для всіх хворих  $\chi^2=65,83$ ;  $p<0,001$ ), і алелей (для всіх хворих  $\chi^2=46,52$ ;  $p<0,001$ ).

При порівнянні груп між собою було з'ясовано, що вірогідних відмінностей не було визначено в жодному випадку ( $p>0,05$ ).

Таким чином, було доведено, що поліморфізм *rs984253* гена *FOXC1* має сильну асоціацію з розвитком ПВКГ, але не має відношення до її прогресування по стадіям патологічного процесу у дослідженій когорті хворих.

Таблиця 4.7 - Статистична значущість відмінностей в розподілі частот генотипів та алелей *rs984253* між групами

Група		Генотипи			Алелі		
		$\chi^2$	df	p	$\chi^2$	df	p
Контроль	ПВКГ	65,83	2	0,001	46,52	1	0,001
Контроль	1-а	18,90	2	0,00007	10,43	1	0,001
Контроль	2-а	38,26	2	0,001	31,66	1	0,01
Контроль	3-я	27,57	2	0,000001	22,76	1	0,000002
Контроль	4-а	11,88	2	0,003	12,63	1	0,0003
1-а	2-а	2,62	2	0,270	0,02	1	0,878
1-а	3-я	2,21	2	0,332	0,01	1	0,969
1-а	4-а	5,74	2	0,057	0,01	1	0,953
2-а	3-я	0,05	2	0,974	0,02	1	0,874
2-а	4-а	2,11	2	0,349	0,06	1	0,804
3-я	4-а	2,02	2	0,365	0,01	1	0,909

Примітка. Група ПВКГ об'єднує всі спостереження (1-а – 4-а групи);  $\chi^2$  – критерій  $\chi$ -квадрат за Pearson; df – число ступенів свободи; p – значущість відмінностей.

На рисунку 4.3 представлено результати статистичного аналізу

відмінностей в частоті генотипів за поліморфними варіантами *rs984253* між контрольною групою і хворими на ПВКГ. Частоти носіїв генотипів *T/T* та *T/A* в контрольній групі та у хворих з ПВКГ відрізнялися ( $p < 0,001$  у обох випадках). При цьому частота носіїв геотипу *T/T* суттєво знижувалася (у 4,1 рази), а частота носіїв генотипу *T/A* – збільшувалася (у 1,8 рази). Не дивлячись на те, що частота гомозигот за мінорною алелю (*A/A*) у хворих збільшувалася (у 2,1 рази), ці відмінності не були статистично значущими ( $p = 0,232$ ).

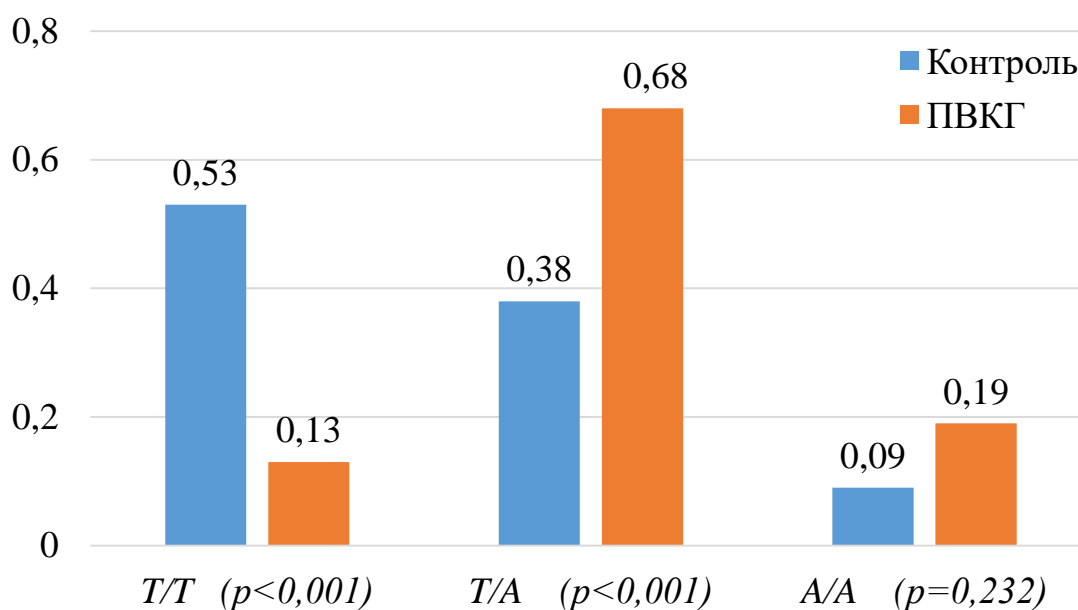


Рисунок 4.3 - Статистична значущість відмінностей між частотами генотипів *rs984253* контрольної групи і хворих всіх груп (ПВКГ). Відмінності між групами вірогідні при порівнянні генотипів *T/T*, *T/A* ( $p < 0,001$ ) за критерієм  $\chi$ -квадрат Pearson з поправкою Yates.

Результати оцінки ступеня асоціації поліморфізму ОНП *rs984253* з ПВКГ представлені в таблиці 4.8. Виявлено статистично значуще збільшення частоти мінорної алелі *A* в групі хворих ( $p < 0,001$ ). У гомозиготних (*AA*) та гетерозиготних (*T/A*) носіїв мінорного алеля виявлено збільшення шансів розвитку ПВКГ: ВШ=1,69 (95% ДІ 0,87-3,28) та ВШ = 4,16 (95% ДІ 2,66-6,51), відповідно,  $< 0,001$ . Гомозиготне носійство мажорної алелі (*T/T*) суттєво знижує шанси розвитку ПВКГ – у 7,1 рази (ВШ=0,14; 95% ДІ 0,08-0,24).



Таблиця 4.8 - Вплив генотипів і алелей rs984253 на розвиток ПВКГ і ступінь їх асоціації з захворюванням

Генотипи/ Алелі	ПВКГ	Контроль	$\chi^2$	p	ВШ	95% ДІ
<i>T/T</i>	0,13	0,53	65,83	<0,001	0,14	0,08 – 0,24
<i>T/A</i>	0,68	0,38			4,16	2,66 – 6,51
<i>A/A</i>	0,19	0,09			1,69	0,87 – 3,28
<i>T</i>	0,47	0,72	46,52	<0,001	0,39	0,28 – 0,53
<i>A</i>	0,53	0,28			2,59	1,90 – 3,54

Примітка.  $\chi^2$  – критерій  $\chi$ -квадрат за Pearson; p – значущість відмінностей; ВШ – відношення шансів; 95% ДІ – 95% довірчий інтервал для величини ВШ.

Аналіз порівняння контрольної групи з окремими групами хворих показав аналогічні результати розподілу генотипів та алелей, їх асоціації з захворюванням та шансів розвитку ПВКГ.

Так, у 1-й групі для генотипів  $\chi^2=18,90$  ( $p=0,00007$ ), а для алелей –  $\chi^2=10,43$  ( $p=0,001$ ). У гетерозиготних (*T/A*) за поліморфними варіантами rs984253 осіб шанси розвитку ПВКГ є більшими у 9,7 рази (ВШ=9,71; 95% ДІ 2,76-34,19), для гомозиготних носіїв мінорної алелі (*A/A*) ВШ=1,07 (95% ДІ 0,23-5,00). Гомозиготне носійство алелі *T* суттєво (у 25 разів) знижує шанси розвитку ПВКГ (ВШ=0,04; 95% ДІ 0,01-0,34).

У 2-й групі статистична значущість відмінностей в розподілі генотипів  $\chi^2=38,26$  ( $p=0,001$ ), а для частот алелей –  $\chi^2=31,66$  ( $p=0,001$ ). У гетерозиготних (*T/A*) за поліморфними варіантами rs984253 осіб шанси розвитку ПВКГ є більшими у 3,4 рази (ВШ=3,42; 95% ДІ 1,96-5,97), у гомозиготних за мінорною алелю (*A/A*) – у 2,5 рази (ВШ=2,49; 95% ДІ 1,18-5,28). Гомозиготне носійство алелі *T* знижує шанси розвитку ПВКГ у 7,7 рази (ВШ=0,13; 95% ДІ 0,06-0,26).

У 3-й групі статистична значущість відмінностей в розподілі генотипів  $\chi^2=25,57$  ( $p=0,000001$ ), а для частот алелей –  $\chi^2=22,76$  ( $p=0,000002$ ). У гетерозиготних (*T/A*) за поліморфними варіантами rs984253 осіб шанси

розвитку ПВКГ є більшими у 3,6 рази (ВШ=3,62; 95% ДІ 1,89-6,91), для гомозиготних носіїв мінорної алелі ( $A/A$ ) ВШ=2,25 (95% ДІ 0,96-5,30). Гомозиготне носійство алелі  $T$  знижує шанси розвитку ПВКГ у 7,7 рази (ВШ=0,13; 95% ДІ 0,06-0,30).

У 4-й групі статистична значущість відмінностей в розподілі генотипів  $\chi^2=11,88$  ( $p=0,003$ ), а для частот алелей –  $\chi^2=12,63$  ( $p=0,0003$ ). У гетерозиготних ( $T/A$ ) за поліморфними варіантами  $rs984253$  осіб шанси розвитку ПВКГ, на відміну від інших груп, є більшими лише у 1,9 рази (ВШ=1,94; 95% ДІ 0,76-4,95). Предкова гомозигота  $T/T$  знижувала шанси розвитку ПВКГ – у 1,9 рази (ВШ=0,53; 95% ДІ 0,16-1,78). Мінорна алель  $A$  збільшувала у 1,04 рази шанси розвитку ПВКГ (ВШ=1,04; 95% ДІ 0,55-1,98), для гомозиготних носіїв алелі  $T$  ВШ=0,96 (95% ДІ 0,51-1,83).

Порівнюючи ці дані, необхідно відзначити ідентичність показників 1-ї – 3-ї груп при майже відсутності впливу поліморфізму у 4-й групі. На наш погляд, це було пов'язане з тим, що даний поліморфізм пов'язаний саме з виникненням ПВКГ, але не впливав на його прогресію.

Порівняння домінантної та рецесивної моделей успадкування генотипів  $rs984253$  показало суттєву перевагу домінантної моделі (табл. 4.9).

Таблиця 4.9 - Значущість відмінностей в розподілі генотипів  $rs984253$  за домінантною та рецесивною моделями успадкування і ступінь їх асоціації з захворюванням

Генотипи		ПВКГ	Контроль	$\chi^2$	p	ВШ	95% ДІ
Дом.	$T/T$	0,14	0,53	60,61	<0,001	0,14	0,08 – 0,24
	$T/A+A/A$	0,86	0,47			7,04	4,18 – 11,86
Рец.	$T/T+T/A$	0,86	0,91	2,41	0,120	0,59	0,30 – 1,15
	$A/A$	0,14	0,09			1,69	0,87 – 3,28

Примітка. Рец. – рецесивна модель, Дом. – домінантна модель;  $\chi^2$  – критерій  $\chi$ -квадрат за Pearson; p – значущість відмінностей; ВШ – відношення шансів; 95% ДІ – 95% довірчий інтервал для величини ВШ.

Розподіл генотипів *rs944253* за домінантною моделлю успадкування (*T/T* проти *T/A + A/A*) мав статистичну значущість за критерієм  $\chi^2$  Пірсона ( $\chi^2=60,61$ ;  $p<0,001$ ). Розподіл генотипів за рецесивною моделлю успадкування (*T/T + T/A* проти *A/A*) значущим не був ( $\chi^2=2,41$ ;  $p=0,120$ ). Отже, можна було чітко визначитися з тим, що наявність алелі *A* саме й обумовлювала розвиток ПБКГ. Дія проєктивної алелі *T* проявлялась тільки у гомозиготному стані.

### Резюме

На підставі отриманих результатів можна стверджувати, що вперше в українській популяції виявлена асоціація ОНП *rs2745599* гена *FOXC1* з ПБКГ. Носійство мінорної алелі (*A*) *rs2745599* гена *FOXC1* асоціюється з підвищеним ризиком розвитку ПБКГ (ВШ = 1,7; 95% ДІ: 1,23 – 2,27,  $p < 0,001$ ). Гомозиготне носійство мажорної алелі (*G/G*) має протективний вплив щодо розвитку захворювання (ВШ = 0,53, 95% ДІ: 0,31 – 0,91,  $p = 0,01$ ).

При стратифікації за ступенем периметричних змін виявлена асоціація гомозиготного носійства мінорного алельного варіанта (*A/A*) *rs2745599* гена *FOXC1* лише з ризиком розвитку ПБКГ IV стадії (ВШ = 2,91, 95% ДІ: 1,27 – 6,68,  $p = 0,01$ ).

Вперше в українській популяції виявлена асоціація ОНП *rs984253* гена *FOXC1* з ПБКГ. Показано, що у носіїв мінорного алельного варіанта (*A*) *rs984253* гена *FOXC1* в 7,04 разів збільшується ризик розвитку ПБКГ. Гомозиготне носійство мажорної алелі (*T/T*) має сильний протективний вплив щодо розвитку захворювання: ВШ = 0,14 (95% ДІ: 0,08 – 0,24),  $p < 0,001$ .

Даний розділ висвітлений у матеріалах наступних публікацій здобувача:  
[145, 147]

**РОЗДІЛ 5**

**АНАЛІЗ СТРУКТУРИ НЕРІВНОВАГИ ЗА ЗЧЕПЛЕННЯМ І АСОЦІАЦІЇ СПОЛУЧЕНЬ ПОЛІМОРФНИХ ВАРІАНТІВ *rs35934224* ГЕНА *TXNRD2*, *rs2745599* І *rs984253* ГЕНА *FOXC1* З ПЕРВИННОЮ ВІДКРИТОКУТОВОЮ ГЛАУКОМОЮ**

**5.1 Зв'язок первинної відкритокутової глаукоми з сполученнями генотипів ОНП генів *rs35934224 TXNRD2*, *rs2745599 FOXC1*, *rs984253 FOXC1***

Дослідження прогностичного значення сполучень алельних варіантів генів-кандидатів є високопродуктивним підходом, що дозволяє ідентифікувати функціональні варіанти, які лежать в основі схильності до мультифакторіальних захворювань. У останніх роботах, присвячених генетичним дослідженням при ПВКГ [40, 171], було розглянуто вплив сполучень поліморфних генотипів та нерівноважне зчеплення алелей генів, що мають відношення до розвитку ПВКГ.

Частоти зустрічальності різних варіантів сполучень генотипів трьох досліджених поліморфних локусів *rs35934224* гена *TXNRD2*, *rs2745599* і *rs984253* гена *FOXC1* у контролі та групах хворих наведені в таблиці 5.1 (надалі генотипи у сполученнях позначаються саме у такий послідовності).

У контрольній групі найбільш частими виявились наступні варіанти сполучень генотипів (в порядку зменшення частоти): *C/C\*G/G\*T/T* (0,15), *C/C\*A/A\*T/T* (0,11), *C/C\*G/A\*T/T* (0,11), *C/C\*A/A\*T/A* (0,10), *C/C\*G/A\*T/A* (0,08), *C/T\*G/A\*T/A* (0,07), *C/T\*G/A\*T/T* (0,07) і *C/T\*A/A\*T/A* (0,06). Порівняння зустрічальності зазначених сполучень генотипів в контрольній групі і у хворих на ПВКГ показало її зменшення у останніх. Зокрема, частота сполучення *C/C\*G/G\*T/T* у хворих склала 0,022 (проти 0,146 у контролі); частота

сполучення  $C/C*A/A*T/T$  – 0,032 (проти 0,112 у контролі); частота сполучення  $C/C*G/A*T/T$  – 0,032 (проти 0,112 у контролі); частота сполучення  $C/T*G/A*T/T$  – 0,011 (проти 0,067 у контролі). Такі відмінності в частоті сполучень генотипів за дослідженими поліморфізмами вказують на їх протективну роль щодо ризику виникнення ПВКГ.

Таблиця 5.1 - Розподіл сполучень генотипів rs35934224 гена TXNRD2, rs2745599 і rs984253 гена FOXC1 між групами

Генотипи	Контроль	ПВКГ	1-а група	2-а група	3-я група	4-а група	$\chi^2*$
1	2	3	4	5	6	7	8
$C/C*A/A*A/A$	0,034	0,032	0,000	0,062	0,000	0,036	151,99, p=0,00008
$C/C*A/A*T/A$	0,101	0,238	0,476	0,222	0,200	0,179	
$C/C*A/A*T/T$	0,112	0,032	0,000	0,037	0,018	0,071	
$C/C*G/A*A/A$	0,011	0,011	0,000	0,025	0,000	0,000	
$C/C*G/A*T/A$	0,079	0,141	0,143	0,198	0,091	0,071	
$C/C*G/A*T/T$	0,112	0,032	0,048	0,025	0,018	0,071	
$C/C*G/G*A/A$	0,011	0,022	0,048	0,012	0,036	0,000	
$C/C*G/G*T/A$	0,056	0,043	0,048	0,037	0,036	0,071	
$C/C*G/G*T/T$	0,146	0,022	0,000	0,025	0,036	0,000	
$C/T*A/A*A/A$	0,022	0,032	0,000	0,025	0,036	0,071	
$C/T*A/A*T/A$	0,056	0,114	0,048	0,086	0,182	0,107	
$C/T*A/A*T/T$	0,056	0,022	0,000	0,000	0,036	0,071	
$C/T*G/A*A/A$	0,011	0,011	0,048	0,000	0,018	0,000	
$C/T*G/A*T/A$	0,067	0,081	0,095	0,074	0,109	0,036	
$C/T*G/A*T/T$	0,067	0,011	0,000	0,012	0,018	0,000	
$C/T*G/G*A/A$	0,000	0,022	0,000	0,025	0,018	0,036	
$C/T*G/G*T/A$	0,011	0,032	0,048	0,037	0,018	0,036	

## Продовження таблиці 5.1

1	2	3	4	5	6	7	8
C/T*G/G*T/T	0,011	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	
T/T*A/A*A/A	0,000	0,032	0,000	0,025	0,036	0,071	
T/T*A/A*T/A	0,000	0,011	0,000	0,000	0,018	0,036	
T/T*A/A*T/T	0,000	0,011	0,000	0,025	0,000	0,000	
T/T*G/A*A/A	0,000	0,027	0,000	0,025	0,036	0,036	
T/T*G/A*T/A	0,011	0,022	0,000	0,025	0,036	0,000	
T/T*G/A*T/T	0,022	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	

Примітка. статистична значущість відмінностей між частотами для всієї таблиці генотипів, крім стовпчика «ПВКГ»):  $\chi^2=151,99$ ;  $df=92$ ;  $p = 0,00008$ .

Розгляд складових протективних сполучень показав, що найбільш частим з них було сполучення трьох гомозиготних за мажорними алелями варіантів C/C\*G/G\*T/T (0,146 в контролі). До протективних також можна віднести сполучення генотипів C/C\*A/A\*T/T та C/C\*G/A\*T/T.

Частоти декількох інших сполучень, у групі хворих зустрічалися значно частіше, ніж у контролі: C/C\*A/A\*T/A (0,238 проти 0,101 у контролі), C/C\*G/A\*T/A (0,141 проти 0,079 у контролі), C/T\*A/A\*T/A (0,114 проти 0,056 у контролі) і C/T\*A/A\*A/A (0,032 проти 0,022 у контролі але у 3-й групі – 0,036 і у 4-й групі – 0,071) . Всі ці сполучення мали мінорні алелі по двом або трьом поліморфізмам. На нашу думку, такі сполучення можна віднести до ризикових по відношенню до ризику розвитку ПВКГ.

Варіант сполучення генотипів гомозиготних за мінорними алелями всіх трьох досліджених поліморфізмів T/T\*A/A\*A/A, частота зустрічальності якого у хворих на ПВКГ становила 0,032 у контрольній групі не був виявлений. В контрольній групі не було також виявлено двох варіантів сполучень генотипів, гомозиготних за двома з трьох досліджених поліморфізмів, які зустрічались у хворих на на ПВКГ: T/T\*G/A\*A/A (частота зустрічальності 0,027) і C/T\*G/G\*A/A (частота зустрічальності у загальній групі хворих - 0,022, у 4-й групі – 0,036

Крім цих сполучень, виявлено ще один варіант, який зустрічалися у хворих на ПВКГ але був дуже рідким в контрольній групі:  $C/T*G/G*T/A$  (0,032 проти 0,011 у контролі). Вищевказані чотири варіанти сполучення генотипів можна віднести до ризикових. Причому, сила їх зв'язку з захворюванням може бути більшою, адже же у контрольній групі вони майже не виявляються.

За результатами аналізу визначена група з чотирьох варіантів сполучень генотипів, які досить часто зустрічалися у контрольній групі і майже з той же частотою зустрічалися у хворих. До таких віднесені  $C/C*A/A*A/A$  (0,032 проти 0,034 у контролі),  $C/C*G/G*T/A$  (0,043 проти 0,056 у контролі),  $C/T*A/A*T/T$  (0,022 проти 0,056 у контролі, але у хворих 3-ї і 4-ї груп частота склала, відповідно, 0,036 і 0,071),  $C/T*G/A*T/A$  (0,081 проти 0,067 у контролі). Такі варіанти сполучення генотипів можна визначити як нейтральні по відношенню до ризику розвитку ПВКГ.

Результати аналізу дозволили виділити вісім варіантів сполучень генотипів, які зустрічалися дуже рідко (частота не більш 0,02):  $C/C*G/A*A/A$ ,  $C/C*G/G*A/A$ ,  $C/T*G/A*A/A$ ,  $C/T*G/G*T/T$ ,  $T/T*A/A*T/A$ ,  $T/T*A/A*T/T$ ,  $T/T*G/A*T/A$  і  $T/T*G/A*T/T$ . Ще три генотипи –  $T/T*G/G*A/A$ ,  $T/T*G/G*T/A$  і  $T/T*G/G*T/T$  у наших дослідженнях загалом не зустрічалися (у таблиці 5.1 вони не наведені). Отже, всі ці одинадцять сполучень генотипів можна визначити як дуже рідкі.

Як видно з таблиці 5.1, відмінності між частотами сполучень генотипів в контролі і групах хворих були статистично значущими ( $p = 0,0008$ ). Результати проведеного дисперсійного аналізу також показали статистичну значущість значення сполучень генотипів на груповий показник ( $F=3,78$ ;  $p=0,00000003$ ).

Таким чином, всі сполучення генотипів, як були виявлені за результатами генотипування можна розподілити на п'ять груп (рис. 5.1):

- 1) захисні (протективні) – 15% випадків;
- 2) ризикові (частота яких зростала у хворих) – 15%;
- 3) потенціюючи (які зустрічалися тільки у хворих) – 15%,

4) нейтральні – 15% та

5) дуже рідкісні – 40%.

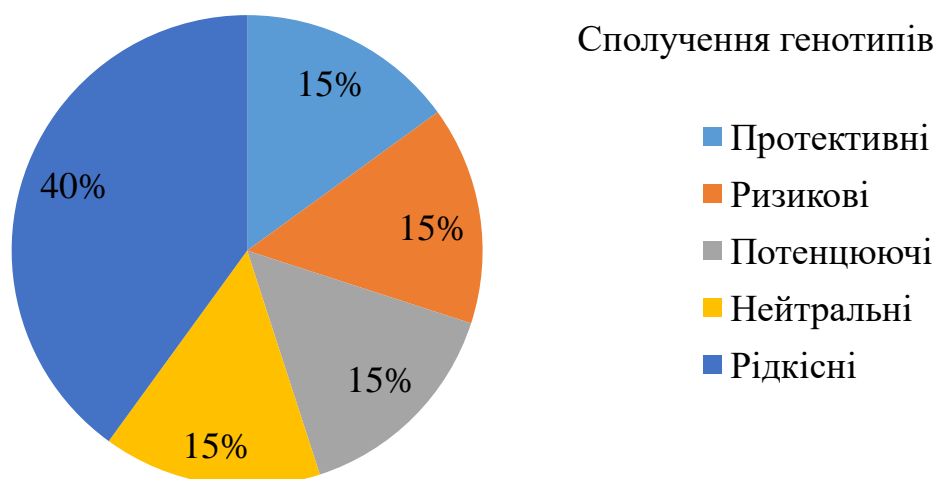


Рисунок 5.1 - Розподіл сполучень генотипів у хворих на ППКГ.

Інтегруючи ці дані по відношенню до розвитку ППКГ, можна вважати, що частка протективних сполучень генотипів склала 15%, частка генотипів з негативним впливом (ризикові та потенціюючі) – 30% і частка тих, що впливу не мали (нейтральні та дуже рідкі) – 55%.

Результати аналізу статистичної значущості виявлених міжгрупових відмінностей в частоті зустрічальності сполучень генотипів наведені у таблиці 5.2.

Статистично значущою виявилася відмінність розподілу частот сполучень генотипів при ППКГ у порівнянні з контрольною групою:  $\chi^2=88,52$  ( $p<0,001$ ). При стратифікації по групах статистична значущість відмінностей у порівнянні з контролем була підтверджена для кожної з груп: для 1-ої групи  $\chi^2=36,02$  ( $p=0,007$ ), для 2-ої  $-\chi^2=63,47$  ( $p=0,000007$ ), для 3-ої  $-\chi^2=55,46$  ( $p=0,0001$ ) і для 4-ої  $-\chi^2=46,6$  ( $p=0,002$ ). Відмінності частот зустрічальності генотипів при порівнянні груп між собою мали недостатній рівень статистичної значущості.



Таблиця 5.2 - Статистична значущість відмінностей розподілу частот сполучень генотипів між групами («випадок-контроль»)

Контрольна група	Випадки група	$\chi^2$	df	P( $\chi^2$ )
Контрольна	ПВКГ	88,52	23	<0,001
Контрольна	1-а	36,02	18	0,007
Контрольна	2-а	63,47	22	0,000007
Контрольна	3-я	55,46	22	0,0001
Контрольна	4-а	46,60	22	0,002
1-а	2-а	16,29	19	0,631
1-а	3-я	14,21	18	0,715
1-а	4-а	17,22	16	0,372
2-а	3-я	19,94	21	0,525
2-а	4-а	20,13	20	0,450
3-я	4-а	13,52	19	0,811

Примітка.  $\chi^2$  – критерій ксі-квадрат за Pearson; df – число ступенів свободи; p – значущість відмінностей.

Отже, результати аналізу підтверджують наявність асоціації сполучень генотипів *rs35934224* гена *TXNRD2*, *rs2745599* і *rs984253* гена *FOXC1* з ПВКГ. У зв'язку з цим на наступному етапі був проведений аналіз виявлення конкретних сполучень генотипів, асоційованих з ПВКГ та з'ясований характер зв'язку сполучень генотипів з захворюванням (табл. 5.3 та рис. 5.2) та при стратифікації по групах (табл. 5.4).

Статистично достовірна асоціація з підвищеним ризиком ровитку ПВКГ була підтверджена тільки для сполучень генотипів *C/C\*A/A\*T/A* та *T/T\*A/A\*A/A*. Вище було показано, що сполучення генотипів *C/C\*A/A\*T/A* зустрічається у контрольній групі з частотою 0,101, а при ПВКГ – з частотою 0,238, тобто у 2,4 рази частіше (p=0,00009). Сполучення генотипів *C/C\*A/A\*T/A* підвищувало шанси розвитку ПВКГ у порівнянні з контролем у 2,8 рази (ВШ=2,77; 95 % ДІ=1,53-5,02). Сполучення генотипів *T/T\*A/A\*A/A* достеменно

підвищувало ризик розвитку ПВКГ ( $p=0,044$ ), при цьому у контрольній групі такого варіанту виявлено не було.

Таблиця 5.3 - Вплив сполучень генотипів на розвиток ПВКГ і ступінь їх асоціації з захворюванням

Генотипи	ПВКГ	Контроль	$\chi^2$	p	ВШ	95% ДІ
<i>C/C*A/A*T/A</i>	0,24	0,10	11,03	0,00009	2,77	1,53-5,02
<i>C/C*A/A*T/T</i>	0,03	0,11	7,55	0,006	0,26	0,10-0,68
<i>C/C*G/A*T/T</i>	0,03	0,11	7,55	0,006	0,26	0,10-0,68
<i>C/C*G/G*T/T</i>	0,02	0,15	16,93	3,9E-5	0,13	0,04-0,38
<i>C/T*G/A*T/T</i>	0,01	0,07	6,39	0,011	0,15	0,03-0,69
<i>T/T*A/A*A/A</i>	0,03	0,00	4,04	0,044	max.	N/A-max.

Примітка.  $\chi^2$  – критерій ксі-квадрат за Pearson з поправкою Yates; p – статистична значущість відмінностей; ВШ – відношення шансів; 95% ДІ – 95% довірчий інтервал для величини ВШ.

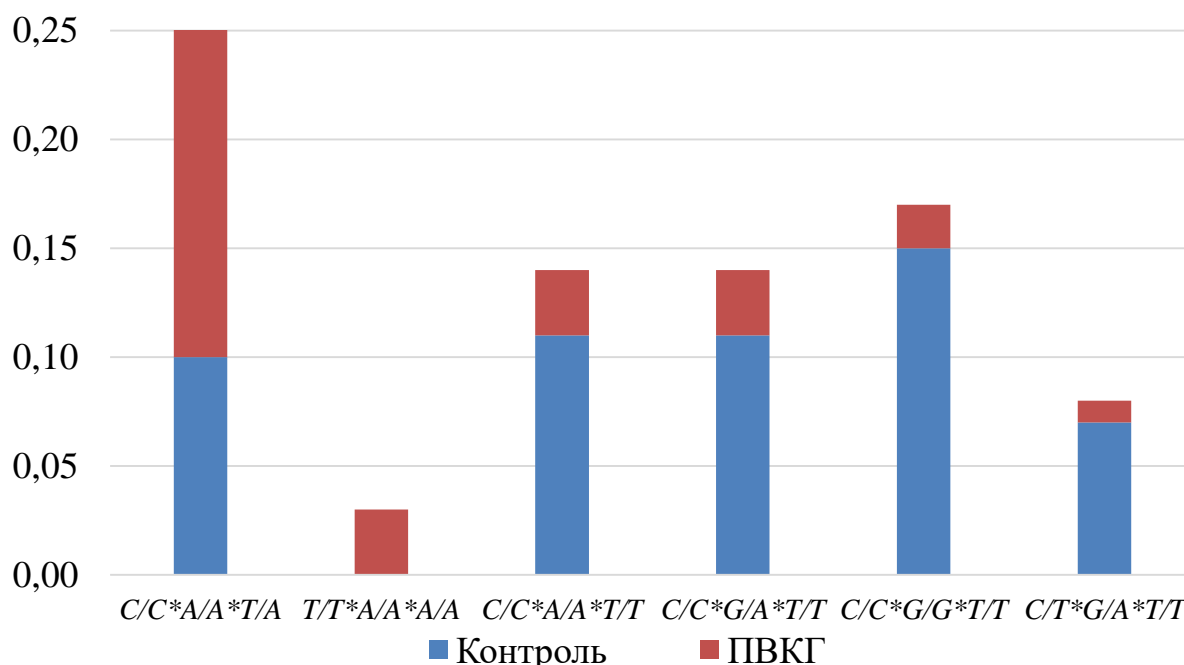


Рисунок 5.2 - Розподіл частот сполучень генотипів в групі хворих на ПВКГ і контрольній групі. До діаграми залучено результати порівнянь, для яких виявлена значущість відмінностей між частотами сполучень генотипів ( $p<0,05$ ) та довірчий інтервал (ДІ) для величини ВШ не включав 0,00.

Таблиця 5.4 - Вплив сполучень генотипів на розвиток ПБКГ і ступінь їх асоціації з захворюванням у групах хворих

Генотипи	Група	Контроль	$\chi^2$	p	ВШ	95% ДІ
1-а група						
<i>C/C*A/A*T/A</i>	0,48	0,10	18,86	0,00001	8,08	3,02-21,65
2-а група						
<i>C/C*A/A*T/A</i>	0,22	0,10	5,85	0,016	2,54	1,24-5,19
<i>C/C*G/A*T/A</i>	0,20	0,08	6,56	0,010	2,88	1,33-6,24
<i>C/C*G/A*T/T</i>	0,02	0,11	4,43	0,035	0,20	0,05-0,88
<i>C/C*G/G*T/T</i>	0,02	0,15	7,29	0,007	0,15	0,03-0,64
3-я група						
<i>C/T*A/A*T/A</i>	0,18	0,06	6,93	0,008	3,73	1,46-9,52
<i>C/C*G/G*T/T</i>	0,04	0,15	3,88	0,049	0,22	0,05-0,96
4-а група						
<i>T/T*A/A*A/A</i>	0,07	0,00	6,48	0,011	max.	N/A-max.

Примітка.  $\chi^2$  – критерій ксі-квадрат за Pearson з поправкою Yates; p – статистична значущість відмінностей; ВШ – відношення шансів; 95% ДІ – 95% довірчий інтервал для величини ВШ.

Згідно даним таблиці 5.3, протективний вплив щодо ризику розвитку ПБКГ для чотирьох варіантів сполучення генотипів *C/C\*A/A\*T/T*, *C/C\*G/A\*T/T*, *C/C\*G/G\*T/T* і *C/T\*G/A\*T/T* був статистично значущим. Максимальна сила зв'язку була визначена для сполучення генотипів *C/C\*G/G\*T/T*, яке у 7,7 рази зменшувало шанси розвитку ПБКГ (ВШ=0,13; 95 % ДІ=0,04-0,38). Сполучення генотипів *C/T\*G/A\*T/T* зменшувало шанси у 6,7 рази (ВШ=0,15; 95 % ДІ=0,03-0,69), а сполучення генотипів *C/C\*A/A\*T/T* і *C/C\*G/A\*T/T* – у 3,8 рази для обох випадків (ВШ=0,26; 95 % ДІ=0,10-0,68).

У зв'язку з цим на наступному етапі був з'ясований характер розподілу (рис. 5.3) та зв'язку (табл. 5.4) сполучень генотипів з ПБКГ при стратифікації по групам.

Серед сполучень генотипів ризику асоціація з захворюванням була підтверджена тільки для варіанта *C/C\*A/A\*T/A*. Вище було показано, що цей варіант сполучення генотипів зустрічався у контрольній групі з частотою 0,101, а при ПВКГ – з частотою 0,238, тобто у 2,4 рази частіше ( $p=0,00009$ ).

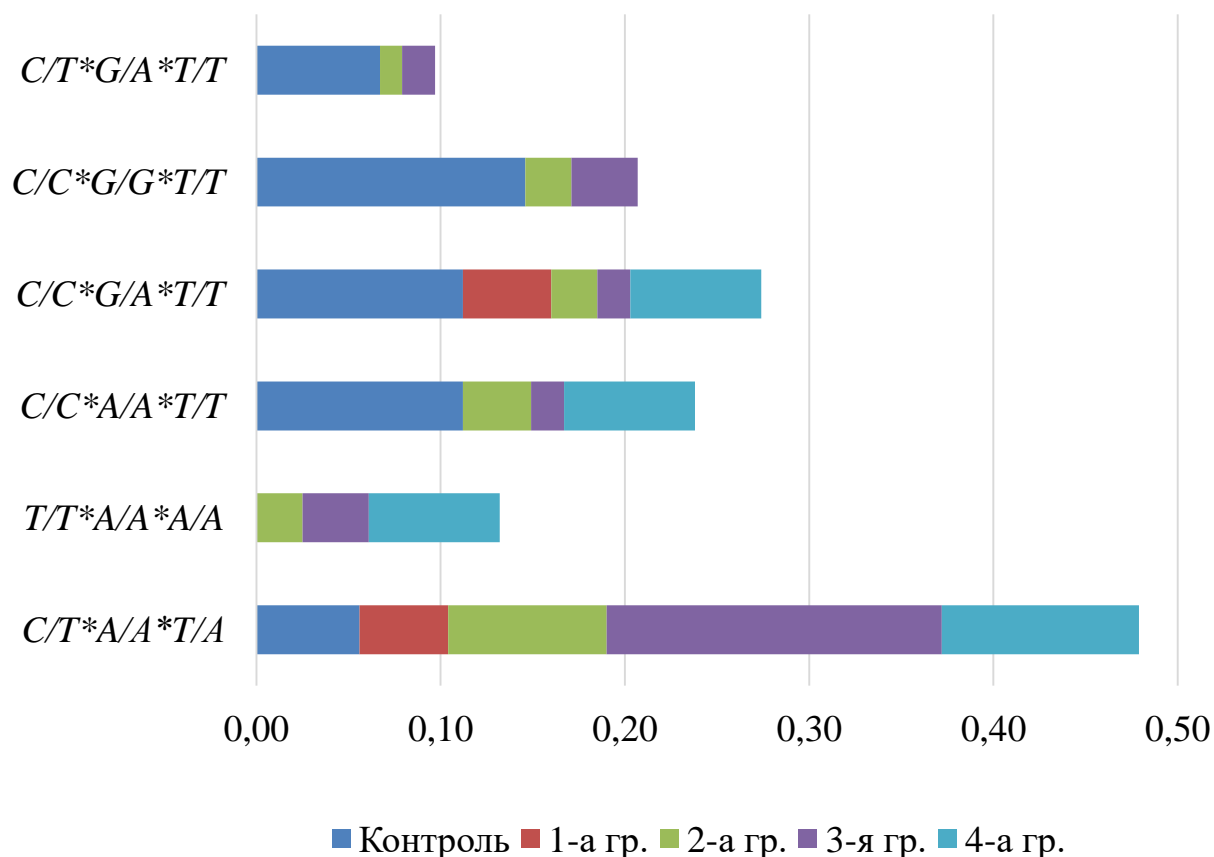


Рисунок 5.3 - Розподіл частот сполучень генотипів в контрольній групі і у хворих на ПВКГ при стратифікації на групи. На діаграмі представлені сполучення генотипів, для яких виявлена статистична значущість відмінностей на рівні  $p<0,05$  в групах порівнянь, а також асоціативний зв'язок із захворюванням ( $VШ>0$ ) згідно до таблиць 5.3 та 5.4

Надалі було встановлено характер зв'язку сполучень генотипів з захворюванням при стратифікації по групам (табл. 5.4).

У 1-й групі, як і у всіх хворих з ПВКГ, асоціація з захворюванням була визначена тільки для сполучення генотипів *C/C\*A/A\*T/A* ( $\chi^2=18,86$ ;  $p=0,00001$ ), яке у 8,1 рази збільшувало шанси розвитку ПВКГ ( $VШ=8,08$ ; 95 % ДІ= 3,02-21,65).

У 2-й групі сполучення генотипів  $C/C*A/A*T/A$  ( $\chi^2=5,85$ ;  $p=0,016$ ) у 2,5 рази збільшувало шанси розвитку ПВКГ (ВШ=2,54; 95 % ДІ=1,24-5,19), також як і сполучення генотипів  $C/C*G/A*T/A$  ( $\chi^2=6,56$ ;  $p=0,010$ ), яке у 2,9 рази збільшувало такі шанси (ВШ=2,88; 95 % ДІ=1,33-6,24).

Два інших варіанта сполучення генотипів, які у 2-й групі мали статистично значущий зв'язок з ПВКГ, зменшували шанси її розвитку:  $C/C*G/G*T/T$  ( $\chi^2=7,29$ ;  $p=0,007$ ) – у 6,7 рази (ВШ=0,15; 95 % ДІ=0,03-0,64) та  $C/C*G/A*T/T$  ( $\chi^2=4,43$ ;  $p=0,035$ ) – у 5,0 рази (ВШ=0,20; 95 % ДІ=0,05-0,88).

У 3-й групі статистично значущі відмінності виявлені для ризикового сполучення генотипів  $C/T*A/A*T/A$  ( $\chi^2=6,93$ ;  $p=0,008$ ), яке у 3,7 рази збільшувало шанси розвитку ПВКГ (ВШ=3,73; 95 % ДІ=1,46-9,52) та для протективного сполучення генотипів  $C/C*G/G*T/T$  ( $\chi^2=3,88$ ;  $p=0,049$ ), яке у 4,5 рази зменшувало шанси розвитку ПВКГ (ВШ=0,22; 95 % ДІ=0,05-0,96).

У 4-й групі проявилася потенціуюча дія сполучення генотипів, гомозиготних за мінорними алелями всіх трьох досліджених поліморфізмів:  $T/T*A/A*A/A$  ( $\chi^2=6,48$ ;  $p=0,011$ ), яке збільшувало шанси розвитку ПВКГ.

Таким чином, асоціація з захворюванням була виявлена для сполучення генотипів  $C/T*A/A*T/A$  як при порівнянні контролю зі всіма хворими, так і при стратифікації – з 1-ю, 2-ю і 3-ю групами хворих. На наш погляд, це переконливо свідчило про доказовий вплив значення цього сполучення генотипів щодо ризику виникнення ПВКГ і на її прогресування за стадіями периметричних змін. Ризик виникнення ПВКГ у носіїв сполучення генотипів  $C/T*A/A*T/A$  збільшений у 2,8 рази ( $p=0,00009$ ). Цікаво, що у цьому сполученні два поліморфізми мали гетерозиготні генотипи (rs35934224 –  $C/T$ , rs984253 –  $T/A$ ), а генотип rs2745599 – гомозиготним за мінорним алелем  $A/A$ .

Для прогресування захворювання до II стадії мало значення також сполучення генотипів  $C/C*G/A*T/A$ , яке збільшувало ризик розвитку II стадії ПВКГ у 2,9 рази ( $p=0,010$ ) у порівнянні з контролем.

Ризик як загалом ПВКГ, так і розвитку IV стадії підвищувала наявність

сполучень трьох мінорних генотипів  $T/T^*A/A^*A/A$ , яке зустрічалось тільки у хворих на ПБКГ (при II стадії  $f=0,025$ , при III стадії –  $f=0,036$ , а при IV –  $f=0,071$ ). На наш погляд, це свідчило про те, що чим більше у сполученні досліджених поліморфізмів мінорних алелей, тим сильніший асоціативний зв'язок такого сполучення з ризиком розвитку та прогресування ПБКГ.

## **5.2 Зв'язок первинної відкритокутової глаукоми з сполученнями алелей ОНП генів *rs35934224 TXNRD2*, *rs2745599 FOXC1*, *rs984253 FOXC1***

Для адекватного аналізу асоціації сполучення алельних варіантів досліджених поліморфізмів з ПБКГ необхідно перевірити нерівновагу за зчепленням. Нерівноважне зчеплення алелей (Linkage disequilibrium – LD), представляє собою не випадковий розподіл частот алелей різних генетичних локусів, яке обумовлено не тільки щільним генетичним зчепленням генів, але також й адаптивною (еволюційне набутою) перевагою певної комбінації алелей. Частота такої комбінації за певних умов (наприклад у хворих на ПБКГ) вище, ніж частота, що може бути очікувана при випадковому розподілі алелей [131]. Таким чином, нерівноважним можна вважати таке зчеплення, при якому поширення комбінації алелей в групі хворих статистично перевищує частоту, очікувану (розраховану) на підставі частот рекомбінації між алелями, які входять в таку комбінацію. Розрахунок LD є важливою задачею медичної генетики, оскільки він необхідний для асоціативного картування ознак або локусів хвороби і індикатором взаємодії проміж генами та впливом різних еволюційних сил на порушення генетичної мінливості та генетичної історії популяцій [93].

Отже, у рамках даного дослідження, було розглянуто частоту сполучень алелей ОНП поліморфізмів *rs35934224* гена *TXNRD2*, *rs2745599* і *rs984253* гена *FOXC1* в контрольній групі та у хворих на ПБКГ (табл. 5.5 і 5.6).

Таблиця 5.5 - Оцінювання ступеню нерівноважного зчеплення (LD) алелей у контрольній групі

Алелі			<i>f</i> (n=178)	+/-	D'	r <sup>2</sup>	χ <sup>2</sup>	P
<i>rs35934224</i>	<i>rs2745599</i>	<i>rs984253</i>						
<i>C</i>	<i>A</i>		0,44	-	0,368	0,023	3,341	0,067
<i>C</i>	<i>G</i>		0,38	+				
<i>T</i>	<i>A</i>		0,13	+				
<i>T</i>	<i>G</i>		0,05	-				
<i>C</i>		<i>T</i>	0,59	+	0,065	0,002	0,205	0,651
<i>C</i>		<i>A</i>	0,22	-				
<i>T</i>		<i>T</i>	0,12	-				
<i>T</i>		<i>A</i>	0,06	+				
	<i>A</i>	<i>T</i>	0,37	-	0,337	0,033	5,086	0,024
	<i>G</i>	<i>T</i>	0,34	+				
	<i>A</i>	<i>A</i>	0,20	+				
	<i>G</i>	<i>A</i>	0,08	-				

Примітка. *f* – частота парних поєднань алелей; D' (коефіцієнт LD) і r<sup>2</sup> (коефіцієнт кореляції Пірсона) – показники для оцінювання ступеню вираженості LD; +/- – знак для D', відповідно до парних поєднань алелей; χ<sup>2</sup> – критерій χ-квадрат Pearson з поправкою Yates для розрахунку статистичної значимості (p) LD (приймається при p<0,05).

Таблиця 5.6 - Оцінювання ступеню нерівноважного зчеплення (LD) алелей у хворих на ПВКГ

Алелі			<i>f</i> (n=185)	+/-	D'	r <sup>2</sup>	χ <sup>2</sup>	p
<i>rs35934224</i>	<i>rs2745599</i>	<i>rs984253</i>						
1	2	3	4	5	6	7	8	9
<i>C</i>	<i>A</i>		0,50	-	0,082	0,001	0,070	0,791
<i>C</i>	<i>G</i>		0,23	+				
<i>T</i>	<i>A</i>		0,19	+				
<i>T</i>	<i>G</i>		0,07	-				

Продовження таблиці 5.6

1	2	3	4	5	6	7	8	9
<i>C</i>		<i>T</i>	0,40	+	0,446	0,064	10,677	0,001
<i>C</i>		<i>A</i>	0,33	-				
<i>T</i>		<i>A</i>	0,20	+				
<i>T</i>		<i>T</i>	0,07	-				
	<i>A</i>	<i>A</i>	0,36	-	0,048	0,001	0,065	0,798
	<i>A</i>	<i>T</i>	0,33	+				
	<i>G</i>	<i>A</i>	0,17	+				
	<i>G</i>	<i>T</i>	0,14	-				

Примітка.  $f$  – частота парних поєднань алелей;  $D'$  (коефіцієнт LD) і  $r^2$  (коефіцієнт кореляції Пірсона) – показники для оцінювання ступеню вираженості LD; +/- – знак для  $D'$ , відповідно до парних поєднань алелей;  $\chi^2$  – критерій  $\chi$ -квадрат Pearson з поправкою Yates для розрахунку статистичної значимості ( $p$ ) LD (приймається при  $p < 0,05$ ).

Оцінка ступеня LD у контрольній групі показала відсутність відмінностей фактичного розподілу алелей з очікуваним при порівнянні сполучень алелей ОНП *rs35934224* гена *TXNRD2* з обома ОНП гена *FOXC1*: *rs2745599* ( $p=0,067$ ) і *rs984253* ( $p=0,651$ ).

Алельні варіанти обох поліморфних локусів гена *FOXC1* показали нерівноважність зчеплення на рівні статистичної значущості  $p=0,024$ . Перевищували очікувану частоту алельні гаплотипи  $G^*T$  ( $fG^*T=0,34$ ) та  $A^*A$  ( $fA^*A=0,20$ ; тут та далі у комбінації алелей на першому місці *rs2745599* на другому – *rs984253*). Ці комбінації об'єднували пари мажорних ( $G^*T$ ) та мінорних ( $A^*A$ ) алелей.

З найбільшою частотою у контрольній групі зустрічався гаплотип  $A^*T$ , частота якого склала  $fA^*T=0,37$ . При цьому, його частота була меншою за очікувану, згідно до випадкового рівноважного зчеплення.

Таким чином, у контрольній групі (рис. 5.4) було виявлено нерівноважне зчеплення алелей локусів гена (*FOXC1*) із збільшенням частоти мажорних і



мінорних алельних гаплотипів ( $D'=+0,34$ ;  $p=0,024$ ).

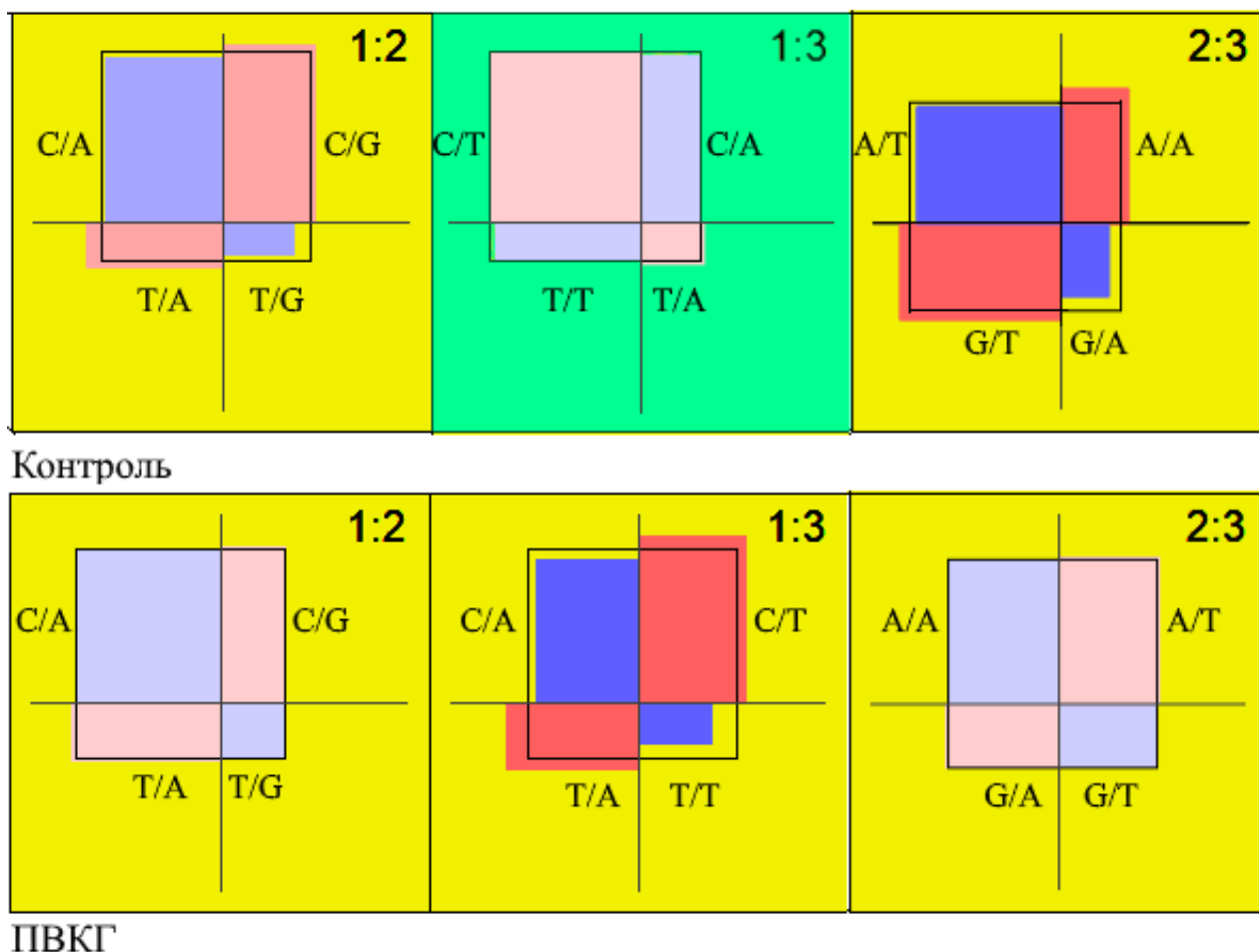


Рисунок 5.4 - Подання частот алельних гаплотипів і LD у програмі MIDAS v.1. Позначення на зображенні: «1» – алелі *rs35934224*; «2» – алелі *rs2745599*; «3» – алелі *rs984253*; «Контроль» – контрольна група; «ПВКГ» – пацієнтів з ПВКГ (1-а – 4-а групи); зелений фон – поєднання алелей для яких дотримується HWE, жовтий – поєднання алелей для яких не дотримується HWE. Прямокутник з чорними межами – частоти алельних гаплотипів для кожної комбінації алелей, які мають бути очікувані при рівноважному зчепленні ( $D'=0,00$ ;  $r^2=0,00$ ); червоні (для  $D'\geq 0$ ) і сині (для  $D'< 0$ ) прямокутники – частоти алельних гаплотипів, які отримані в результаті розрахунків з врахуванням відповідного  $D'$  (числові значення див. у табл. 5.5 та 5.6); яскравий колір застосовано при відображенні результатів, які мають статистичну значимість при оцінюванні LD (приймається при  $p<0,05$ ).

Оцінка ступеня LD у групі хворих (табл. 5.6) показала відсутність різниці фактичного розподілу алелей з очікуваним при порівнянні сполучень алелей ОНП *rs35934224* гена *TXNRD2* та *rs2745599* гена *FOXC1* ( $p=0,791$ ).

Також, на відміну від контрольної групи, не було виявлено різниці фактичного розподілу алелей у порівнянні з очікуваним для обох поліморфних локусів гена *FOXC1* ( $p=0,798$ ).

У хворих на ПБКГ сполучення алелей поліморфізму *rs35934224* гена *TXNRD2* показали нерівноважність зчеплення на рівні статистичної значущості  $p=0,001$  з поліморфізмом *rs984253* гена *FOXC1*:  $D'=0,446$ ;  $r^2=0,064$ .

Перевищувала очікувану частоту зустрічальність алельних гаплотипів  $C^*T$  ( $fG^*T=0,40$ ) та  $T^*A$  ( $fT^*A=0,20$ ; тут та далі у комбінації алелей на першому місці *rs35934224* на другому – *rs984253*). Ці комбінації об'єднували пари мажорних ( $C^*T$ ) та мінорних ( $T^*A$ ) алелей (див. рис. 5.4).

Були виявлені статистично значущі відмінності розподілу комбінацій алелей *rs35934224* гена *TXNRD2* і *rs984253* гена *FOXC1*, (див. таблицю 5.7).

Таблиця 5.7 - Значущість відмінностей в розподілі комбінацій алелей *rs35934224* гена *TXNRD2* і *rs984253* гена *FOXC1* між контрольною групою і хворими на ПБКГ

Алелі		ПБКГ	Контроль	$\chi^2$	df	p
<i>rs35934224</i>	<i>rs984253</i>	<i>f</i>	<i>f</i>	26,41	3	0,000008
<i>C</i>	<i>T</i>	0,40	0,59			
<i>C</i>	<i>A</i>	0,33	0,22			
<i>T</i>	<i>T</i>	0,20	0,12			
<i>T</i>	<i>A</i>	0,07	0,06			

Примітка. *f* – частота парних комбінацій алелей; *n* – абсолютна кількість;  $\chi^2$  – критерій  $\chi$ -квадрат Pearson з поправкою Yates; *p* – значущість відмінностей (приймається при  $p<0,05$ ).

Графічно такі розподіли алельних комбінацій відображено на рис. 5.5.

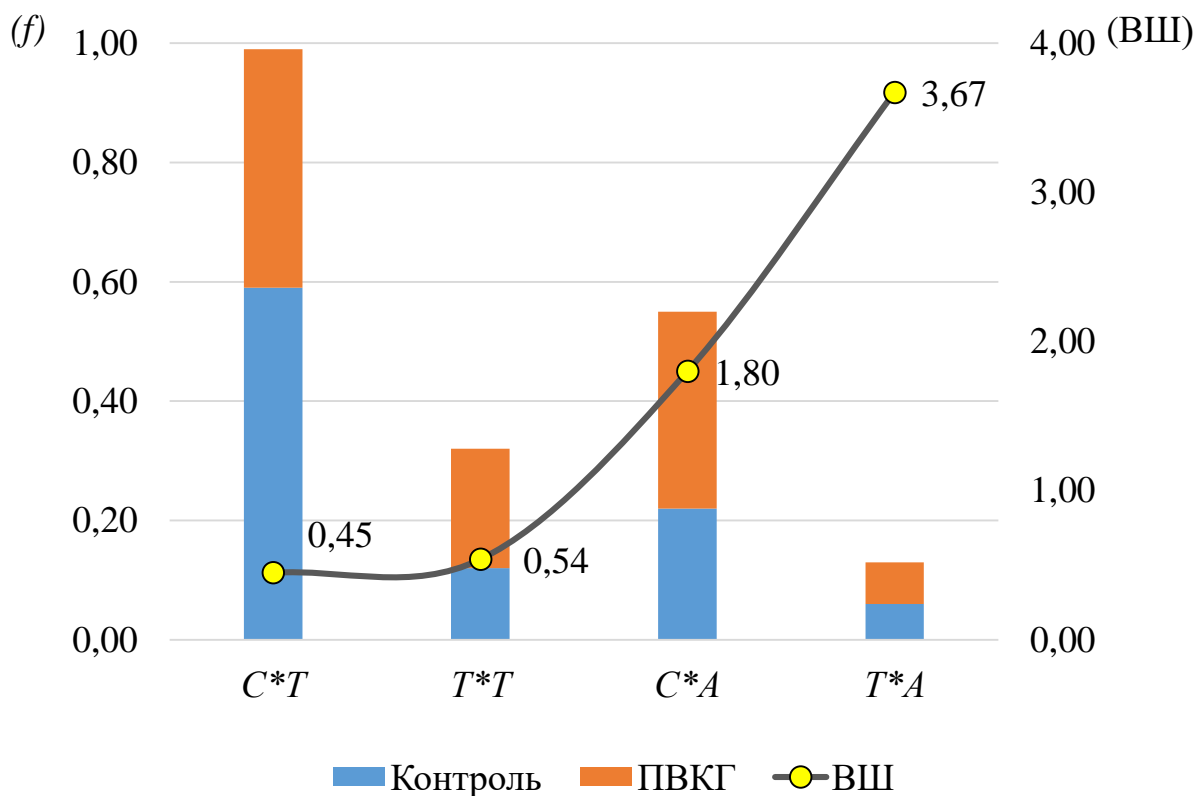


Рисунок 5.5 - Відмінностей розподілу комбінацій алелей *C/T rs35934224* гена *TXNRD2* і *T/A rs984253* гена *FOXC1* між контрольною групою і хворими на ПВКГ. Плавною лінією подано ВШ (див. табл. 5.8).

Отримані результати дозволяли очікувати наявності статистично значущої асоціації цих алельних комбінацій з ПВКГ, що підтвердили результати аналізу, представлені в таблиці 5.8.

Як видно з таблиці 5.8, комбінація мажорних алелей *C\*T* знижувала шанси розвитку ПВКГ у 2,2 рази (ВШ=0,45; 95% ДІ 0,30-0,69). Також протективне значення мала комбінація алелей *T\*T*, яка знижувала шанси розвитку ПВКГ у 1,8 рази (ВШ=0,54; 95% ДІ 0,26-1,10). Останнє, на нашу думку, свідчило про переважну протективну роль мажорної алелі *T rs984253* гена *FOXC1*.

Збільшували шанси розвитку ПВКГ комбінації *C\*A* та *T\*A*, відповідно у 1,8 та 3,7 рази (ВШ=1,80; 95% ДІ 1,12-2,87 та ВШ=3,67; 95% ДІ 1,80-7,46). Отже максимальний вплив на ризик розвитку ПВКГ мала комбінація обох

мінорних алелей: *T* (*rs35934224* гена *TXNRD2*) і *A* (*rs984253* гена *FOXC1*).

Таблиця 5.8 - Вплив комбінацій алелей *rs35934224* гена *TXNRD2* і *rs984253* гена *FOXC1* на розвиток ПБКГ і ступінь їх асоціації з захворюванням

Алелі		$\chi^2$	p	ВШ	95% ДІ
<i>rs35934224</i>	<i>rs984253</i>				
C	T	13,10	0,0003	0,45	0,30-0,69
C	A	5,52	0,019	1,80	1,12-2,87
T	T	2,38	0,123	0,54	0,26-1,10
T	A	13,04	0,0003	3,67	1,80-7,46

Примітка.  $\chi^2$  – критерій  $\chi$ -квадрат Pearson з поправкою Yates; p – статистична значущість (приймається при  $p < 0,05$ ); ВШ – відношення шансів; 95% ДІ – 95% довірчий інтервал для ВШ.

### Резюме

Одже в результаті наших досліджень вперше було проведено аналіз асоціації сполучень алелей і генотипів ОНП *rs35934224* гена *TXNRD2*, *rs2745599* і *rs984253* гена *FOXC1* з ПБКГ. Показано, що у хворих на ПБКГ сполучення алелей *rs35934224* гена *TXNRD2* і *rs984253* гена *FOXC1* мали нерівноважне зчеплення (LD), при чому шанси розвитку ПБКГ були збільшені у носіїв комбінації *C\*A* та *T\*A* у 1,8 та 3,7 рази (ВШ=1,80; 95% ДІ 1,12-2,87 та ВШ=3,67; 95% ДІ 1,80-7,46).

Вперше встановлено, що сполучення генотипів *T/T\*A/A\*A/A* та *C/C\*A/A\*T/A* можуть розглядатися в якості факторів сильного ризику розвитку та прогресування (ВШ = 8,08, 95% ДІ: 3,02-21,65, p = 0,00001) ПБКГ в популяції України.

Вперше встановлено, що сполучення генотипів *C/C\*A/A\*T/T*, *C/C\*G/A\*T/T*, *C/C\*G/G\*T/T* і *C/T\*G/A\*T/T* мають сильний протективний вплив (ВШ = 0,26, 0,26, 0,13 та 0,15, відповідно, p < 0,01 ) щодо розвитку ПБКГ в українській популяції.

Даний розділ висвітлений у матеріалах наступних публікацій здобувача:  
[28, 146].

## РОЗДІЛ 6

### АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ

Первинна відкритокутова глаукома є найбільш поширеним типом глаукоми і характеризується хронічним перебігом. На даний час у світі налічується близько 67 млн. хворих глаукомою і, згідно прогнозам, в 2040 році їх кількість становитиме близько 111,8 млн. [15, 179, 216].

В патогенез ПВКГ залучені ряд факторів ризику, які включають в себе як системні так і офтальмологічні [9, 16, 20, 184, 234]. Прогрес останніх десятиліть в молекулярній генетиці офтальмологічних захворювань показав, що у патогенезі ПВКГ значну роль можуть відігравати зміни генетичного матеріалу (мутації, варіації кількості копій та ОНП) у різних хромосомних локусах. Мутації в генах, що спричиняють ПВКГ з менделівським типом успадкування дуже рідкісні, хоча мають суттєві біологічні ефекти (*MYOC*, *OPTN*, *TBK1*, *FOXC1*, *PITX2*, *RAHB*, *CYP1B1*, *LTVR1*). ОНП які впливають на схильність до розвитку ПВКГ у дорослих людей (як правило алелі ризику в поєднанні з іншими алелями та факторами навколишнього середовища можуть сприяти розвитку ПВКГ, але самі по собі хворобу не завжди викликають) мають переважно складний тип успадкування і, як правило, індивідуально спричиняють не такі значні біологічні ефекти як мутації, але вони є відносно поширеними, що і обумовлює їх важливе прогностичне значення [61, 86, 181, 204, 211].

Якщо мутації в гені *FOXC1* є відомими факторами ризику розвитку ПВКГ, то зв'язок різних ОНП цього гена з захворюванням залишається недостатньо дослідженим, а в Україні такі дослідження не проводились. Найбільш відомими генетичними факторами ПВКГ є мутації в гені *MYOC*, зв'язок яких з патогенезом захворювання опосередковується через розвиток стресу ендоплазматичного ретикулу. В поодиноких дослідженнях було

також показано зв'язок ОНП гена *TXNRD2* з ПБКГ, який може бути опосередкований механізмами мітохондріального оксидативного стресу [55]. При цьому в Україні дослідження зв'язку поліморфізму гена *TXNRD2* з ПБКГ не проводились. Вищезазначене обумовило вибір генів-кандидатів, значення поліморфних варіантів яких у ризику розвитку ПБКГ досліджували в роботі.

Розподіл генотипів і частоти алелей ОНП *rs35934224* гена *TXNRD2*, отримані за результатами генотипування осіб дослідженої нами контрольної групи були порівняні із середньопопуляційними значеннями цих показників за даними літератури [114]. Так, середньопопуляційна частота мінорної алелі *T* в світі становить 0,18 (0,19 у наших дослідженнях). Усереднені значення зустрічальності генотипів ОНП *rs35934224* в світі: *C/C* – 0,693 (у наших дослідженнях – 0,66), *C/T* – 0,263 (у наших дослідженнях – 0,30), *T/T* – 0,044 (у наших дослідженнях – 0,03). Слід зазначити, що частота зустрічальності алелей та генотипів ОНП *rs35934224* в різних популяціях світу суттєво відрізняються. Так, частота мінорної алелі *T* коливається від 0,02 (при нульовій частоті генотипів *T/T*) в популяціях Східної Азії до 0,31 (при частоті генотипів *T/T* – 0,10) в популяціях Африки. Найбільш близькими результати генотипування отримані в наших дослідженнях були до середніх значень отриманих для Європейських популяцій в яких частоти генотипів *C/C*, *C/T* та *T/T* становили 0,724, 0,245 та 0,032, відповідно, а частота мінорної алелі *T* – 0,154 [114].

Розподіл генотипів ОНП *rs35934224* гена *TXNRD2* в контрольній групі відповідав закону Харді-Вайнберга ( $\chi^2 = 0,01$ ;  $p = 0,95$ ). Привертає увагу, що в групі пацієнтів з ПБКГ спостерігається відхилення розподілу генотипів за дослідженим поліморфізмом від популяційної рівноваги ( $\chi^2 = 5,17$ ;  $p = 0,02$ ), що може опосередковано свідчити про можливу селективну перевагу певних поліморфних варіантів *rs35934224* гена *TXNRD2*.

За результатами дослідження вперше в українській популяції виявлена асоціація ОНП *rs35934224* гена *TXNRD2* з ПБКГ. При цьому, носійство мінорної алелі *T* збільшує ризик захворювання в 1,6 рази (ВШ=1,58, 95% ДІ

1,11-2,25,  $p = 0,01$ ), а носійство мажорної алелі *C* має протективний характер щодо розвитку цієї патології: ВШ = 0,63; 95% ДІ 0,44-0,90,  $p = 0,01$ . Встановлено, що наявність мінорного алельного варіанта *rs35934224* гена *TXNRD2* адитивно збільшує шанси розвитку ПБКГ. Для гетерозигот за ОНП *rs35934224* гена *TXNRD2* ВШ = 1,1 (95% ДІ 0,71-1,72). Для гомозиготних носіїв мінорної алелі ВШ=3,28; 95% ДІ 1,28-8,42),  $p = 0,022$ .

Аналізуючи можливі патогенетичні механізми виявленої асоціації ОНП *rs35934224* гена *TXNRD2* з ПБКГ необхідно розглянути функціональне значення цього поліморфізму. Ген *TXNRD2* кодує мітохондріальний білок – тиоредоксинредуктазу 2, який необхідний для мітохондріального редокс-гомеостазу. Тиоредоксин 2 зменшує пошкоджувальну дію активних форм кисню, які утворюються внаслідок окислювального фосфорилування [55]. В ряді досліджень показано, що надмірна експресія тиоредоксину 2 мала захисний ефект [50].

Поліморфізм *rs35934224* гена *TXNRD2*, розташований у сайті зв'язування для білка NRSF (neuron-restrictive silencer factor), відомого також як REST (repressor element 1-silencing transcription factor), – транскрипційний фактор, який захищає нейрони від окисного стресу [142]. Функціональне значення поліморфізму полягає в тому, що заміна *C* на *T* в поліморфному сайті призводить до послаблення зв'язку транскрипційного фактору NRSF з промотором гена, внаслідок чого має місце зниження експресії тиоредоксинредуктази 2. Це в свою чергу, призводить до зниження відновлення внутрішньомітохондріального антиоксиданту тиоредоксину 2, що обумовлює посилення окисного пошкодження та може ініціювати мітохондріальний механізм запуску апоптозу.

Роль порушень системи перекисної оксидації у виникненні ПБКГ загально визнана, а отримані при експериментальній глаукомі дані довели, що виснаження ензиматичної антиоксидантної системи сітківки та зорового нерву є пусковим механізмом апоптозу гангліонарних нейронів сітківки [24, 59, 195].



Таким чином, наявність алелі *T* ОНП *rs35934224* гена *TXNRD2* може призводити до порушення прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу і пов'язаних з цим патологічних змін зорового аналізатора, залучених до патогенезу ПБКГ, що може обумовлювати асоціацію зазначеного поліморфізму з цим захворюванням в дослідженій когорті української популяції. В свою чергу, гомозиготне носійство мажорної алелі, обумовлює нормальне функціонування продукту гена, що зниженням рівня реактивних форм кисню і може запобігти мітохондріальній дисфункції і апоптозу гангліонарних клітин сітківки при глаукомні [40].

Зв'язок ОНП *rs35934224* гена *TXNRD2* в з ризиком розвитку та перебігу захворювання в популяції України підтверджується також результатами аналізу особливостей розподілу генотипів і частот алелей в групах з різною стадією захворювання. Так, при стратифікації за ступенем периметричних змін було встановлено, що достовірні відмінності розподілу генотипів та частот алелей ОНП *rs35934224* гена *TXNRD2* від контрольної групи виявлені лише у хворих на ПБКГ III та IV ступенів. Асоціація ОНП *rs35934224* гена *TXNRD2* з ПБКГ посилюється із збільшенням тяжкості захворювання. Гомозиготне носійство мінорної алелі (*T/T*) у 6,7 рази збільшує шанси розвитку III стадії ПБКГ (ВШ=6,65; 95% ДІ 1,36-121,75),  $p = 0,026$ .

Розподіл генотипів і частоти алелей ОНП *rs2745599* гена *FOXC1*, отримані за результатами генотипування осіб дослідженої нами контрольної групи відрізнялись від середньопопуляційних значень цих показників за даними літератури [114]. Так, середньопопуляційна частота алелі *A* в світі становить 0,28 (у наших дослідженнях – 0,57). Усереднені значення зустрічальності генотипів ОНП *rs2745599* в світі: *G/G* – 0,543 (у наших дослідженнях – 0,24), *G/A* – 0,342 (у наших дослідженнях – 0,38), *A/A* – 0,115 (у наших дослідженнях – 0,38). Слід зазначити, що частота зустрічальності алелей та генотипів ОНП *rs2745599* в різних популяціях світу суттєво відрізняються.

Отримані нами результати генотипування були ближчими до середніх значень розподілу генотипів для європейської популяції (частота генотипів *G/G*, *G/A* та *A/A* - 0,215; 0,449 та 0,336, відповідно). Слід зазначити, що деякі відмінності зазначених показників від середньоєвропейських можуть бути обумовлені в т.ч. і невідповідністю розподілу генотипів, виявленого за результатами генотипування осіб контрольної групи в наших дослідженнях, від закону Харді-Вайнберга. ( $\chi^2=8,56$ ;  $p=0,003$ ). При цьому, розподіл генотипів в групі хворих, також відрізнявся від популяційної рівноваги ( $\chi^2=8,47$ ;  $p=0,004$ ).

За результатами дослідження вперше в українській популяції виявлена асоціація ОНП *rs2745599* та *rs984253* гена *FOXC1* з ПБКГ. Носійство мінорної алелі (*A*) *rs2745599* гена *FOXC1* асоціюється з підвищеним ризиком розвитку ПБКГ (ВШ = 1,7; 95% ДІ: 1,23 – 2,27,  $p < 0,001$ ). Гомозиготне носійство мажорної алелі (*G/G*) має протективний вплив щодо розвитку захворювання (ВШ = 0,53, 95% ДІ: 0,31 – 0,91,  $p = 0,01$ ). Показано, що у носіїв мінорного алельного варіанта (*A*) *rs984253* гена *FOXC1* в 7,04 разів збільшується ризик розвитку ПБКГ. Гомозиготне носійство мажорної алелі (*T/T*) має сильний протективний вплив щодо розвитку захворювання: ВШ = 0,14 (95% ДІ: 0,08 – 0,24),  $p < 0,001$ .

Аналізуючи можливі патогенетичні механізми виявленої асоціації ОНП *rs2745599* та *rs984253* гена *FOXC1* з ПБКГ необхідно розглянути функціональне значення цих поліморфізмів. Ген *FOXC1* (forkhead box C1) відноситься до генів розвитку та грає важливу роль в нормальному морфогенезі переднього сегменту ока, приймає участь в регуляції ВОТ і функції трабекулярної сітки [134, 172]. Дисембріогенез переднього сегмента ока може привести до неповного розвитку або дисфункції структур, які утворюють водний дренажний шлях, що супроводжується підвищенням ВОТ та розвитком ПБКГ [77, 100, 115].

На хромосомі 6p25 в регіоні *FOXC1* розташовані генетичні локуси, що відповідальні за декілька переважно спадкових аномалій переднього сегмента

[151, 163]. Ці очні порушення включають аномалію іридогоніогенезу, аномалію Аксенфельда-Рігера, ідіодоніодисплазію сімейної глаукоми та глаукому з ювенільним початком з іридогоніодисгенезом [134]. Всі ці порушення розвитку переднього сегмента ока пов'язані з розвитком вродженої або ювенільної глаукоми.

Показано, що миші з гетерозиготною мутацією *FOXC1* мають аномалії, схожі з людськими, що включають вузький або відсутній шлемов канал, аномально розвинену трабекулярну сітку, гіпоплазію райдужної оболонки ока, ексцентричні зіниці і зміщену лінію Швальбе [198, 207].

Отже, мутації або змінена експресія *FOXC1* можуть впливати на нормальну функцію тканин ока і призводити до підвищеного ризику глаукоми. Це може проявлятися з віком, оскільки структури окулярного дренажу можуть мати не діагностовані «скриті» аномалії, які згодом та під дією зовнішніх факторів призводять до підвищення ВОТ [198].

Ця робоча гіпотеза й обумовила вивчення значення ОНП гена *FOXC1*, які не мають відношення до спадкових аномалій переднього сегмента. Можна припустити, що субклінічні ОНП гена *FOXC1* супроводжуються невиявленими аномаліями в структурі і функції переднього сегмента ока, які сприяють формуванню глаукоматозної оптичної нейропатії завдяки підвищенню ВОТ і, відповідно, є факторами, що визначають генетичну схильність до ПВКГ.

Отримані результати підтверджують вищезазначене припущення. Разом з тим, слід зазначити, що клінічне значення досліджених ОНП гена *FOXC1* щодо ризику розвитку та особливостей перебігу ПВКГ виявилось різним. По перше, сила асоціації *rs984253* гена *FOXC1* з ризиком виникнення ПВКГ була значно більшою, ніж для *rs2745599*. Так у носіїв мінорного алеля *rs984253* (в доміантній моделі успадкування) ВШ = 7,04, а у носіїв мінорного алеля *rs2745599* (в доміантній моделі успадкування) ВШ = 1,9 відповідно. По друге, виявлені відмінності зв'язку досліджених ОНП *rs2745599* та *rs984253* з перебігом захворювання. Зокрема, при стратифікації за ступенем

периметричних змін виявлена асоціація гомозиготного носійства мінорного алельного варіанта (*A/A*) *rs2745599* гена *FOXC1* лише з ризиком розвитку ПБКГ IV ступеня (ВШ = 2,91, 95% ДІ: 1,27 – 6,68,  $p = 0,01$ ). На противагу цьому, поліморфізм *rs984253* гена *FOXC1* мав сильну асоціацію з розвитком ПБКГ, але не мав відношення до її прогресування по стадіям патологічного процесу.

Дослідження асоціації ОНП окремих генів-кандидатів із захворюванням залишається класичним підходом щодо вирішення завдань виявлення спадкової компоненти багатьох поширених патологій. Разом з тим, на сьогодні арсенал методів генетичних досліджень мультифакторіальних захворювань збагатився низкою нових високопродуктивних підходів. Однією з найбільш продуктивних стратегій виявлення генетичних варіантів, які обумовлюють схильність до мультифакторіальної патології є аналіз структури нерівноваги за зчепленням і виявлення асоційованих із захворюванням гаплотипів та сполучень генотипів

Ефекти поліморфних варіантів окремих генів-кандидатів, як правило, невеликі і можуть бути пов'язані не з самими досліджуваним маркером, а зі зчепленим з ним функціонально значущим поліморфізмом. Тому аналіз асоціацій на рівні сполучень алельних варіантів може виявитись більш потужним та інформативним інструментом, ніж дослідження окремих маркерів. Якщо гени-кандидати мають певне значення щодо схильності до мультифакторіального захворювання, логічно очікувати більш значущих асоціацій щодо ризику розвитку та прогресування захворювання для певних сполучень алельних варіантів ОНП цих генів.

Завданням дослідження було перевірити зазначені припущення на прикладі аналізу структури нерівноваги за зчепленням і асоціації сполучень поліморфних варіантів *rs35934224* гена *TXNRD2*, *rs2745599* і *rs984253* гена *FOXC1* з первинної відкритокутової глаукоми

За результатами досліджень вперше в Україні було проведено аналіз асоціації сполучень алелей і генотипів ОНП *rs35934224* гена *TXNRD2*, *rs2745599* і *rs984253* гена *FOXC1* з ПБКГ. Всі сполучення генотипів можна

було розподілити на п'ять груп: протективні (15%), ризикові (15%), потенціюючі (15%), нейтральні (15%) та дуже рідкісні (40%).

Показано, що у хворих на ПВКГ сполучення алелей *rs35934224* гена *TXNRD2* і *rs984253* гена *FOXCI* мали нерівноважне зчеплення (LD), при чому шанси розвитку ПВКГ були збільшені у носіїв комбінації *C\*A* та *T\*A* у 1,8 та 3,7 рази (ВШ=1,80; 95% ДІ 1,12-2,87 та ВШ=3,67; 95% ДІ 1,80-7,46). Встановлено, що сполучення генотипів *T/T\*A/A\*A/A* та *C/C\*A/A\*T/A* можуть розглядатися в якості факторів сильного ризику розвитку та прогресування (ВШ = 8,08, 95% ДІ: 3,02-21,65,  $p = 1.4 \cdot 10^{-5}$ ) ПВКГ в популяції України. Встановлено, що сполучення генотипів *C/C\*A/A\*T/T*, *C/C\*G/A\*T/T*, *C/C\*G/G\*T/T* і *C/T\*G/A\*T/T* мають сильний протективний вплив (ВШ = 0,26, 0,26, 0,13 та 0,15, відповідно,  $p < 0,01$ ) щодо розвитку ПВКГ.

## ВИСНОВКИ

1. Первинна відкритокутова глаукома являється однією з глобальних причин сліпоти, поширеність якої неухильно зростає. У світі налічується близько 70 млн. хворих глаукомою і, згідно прогнозам в 2040 році - 111,8 млн. В Україні поширеність глаукоми становила у дорослих осіб в 2017 році – 458,0 на 100 тис. населення. ПВКГ є мультифакторним захворюванням, одним із чинників якої є генетичні порушення. Розробка нових методів діагностики та прогнозування ПВКГ на підставі дослідження молекулярно-генетичних механізмів її розвитку є актуальною задачею сучасної офтальмології.

2. У хворих української популяції виявлена асоціація ПВКГ з ОНП *rs35934224* гена *TXNRD2*. Носійство мінорної алелі *T* збільшує ризик захворювання в 1,6 рази (ВШ=1,58;  $p = 0,01$ ), носійство мажорної алелі *C* має протективний характер (ВШ = 0,63;  $p = 0,01$ ). Асоціація ОНП *rs35934224* гена *TXNRD2* з ПВКГ посилюється із збільшенням тяжкості захворювання. Гомозиготне носійство мінорної алелі (*T/T*) у 6,7 рази збільшує шанси розвитку III стадії ПВКГ (ВШ=6,65;  $p = 0,026$ ).

3. Вперше в українській популяції виявлена асоціація ПВКГ з ОНП *rs2745599* та *rs984253* гена *FOXC1*. Носійство мінорної алелі (*A*) *rs2745599* гена *FOXC1* асоціюється з підвищеним ризиком розвитку ПВКГ (ВШ = 1,7;  $p < 0,001$ ). При стратифікації за ступенем периметричних змін виявлена асоціація гомозиготного носійства мінорного алельного варіанта (*A/A*) з ризиком розвитку ПВКГ IV ступеня (ВШ = 2,91;  $p = 0,01$ ).

4. У носіїв мінорного алельного варіанта (*A*) *rs984253* гена *FOXC1* в 7,04 разів збільшується ризик розвитку ПВКГ. Гомозиготне носійство мажорної алелі (*T/T*) має сильний протективний вплив щодо розвитку захворювання (ВШ = 0,14  $p < 0,001$ ).

5. Встановлено, що сполучення ОНП генотипів *T/T\*A/A\*A/A* та

*C/C\*A/A\*T/A* можуть розглядатися в якості факторів сильного ризику розвитку та прогресування (ВШ = 8,08,  $p < 0,000014$ ) ПВКГ в українській популяції. Сполучення генотипів *C/C\*A/A\*T/T*, *C/C\*G/A\*T/T*, *C/C\*G/G\*T/T* і *C/T\*G/A\*T/T* мають протективний вплив (ВШ = 0,26, 0,26, 0,13 та 0,15, відповідно,  $p < 0,01$ ) щодо розвитку ПВКГ в українській популяції.

6. У хворих на ПВКГ показана наявність нерівноважного зчеплення алелей *rs35934224* гена *TXNRD2* і *rs984253* гена *FOXC1* ( $D'=0,446$ ;  $r^2=0,064$ ;  $p=0,001$ ). Шанси розвитку ПВКГ були збільшені у носіїв комбінації *C\*A* у 1,8 та *T\*A* у 3,7 рази (ВШ=1,80; ВШ=3,67;  $p < 0,01$ ). Протективне значення мала комбінація алелей *C\*T*, яка знижувала шанси розвитку ПВКГ у 2,2 рази (ВШ=0,45;  $p < 0,0003$ ).

7. Результати роботи впроваджені в клінічну практику відділення «Міський центр мікрохірургії ока» Вінницької міської клінічної лікарні №3 та медичного центру ТОВ «Оптимал-М» (м. Вінниця). Наукові та практичні положення дисертації були впроваджені в навчальний процес кафедри очних хвороб Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова, кафедри офтальмології Національній медичній академії післядипломної освіти імені П.Л. Шупика та кафедри медичної біології Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова МОЗ України.

## ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. У дорослих осіб з сімейним анамнезом ПБКГ з метою оцінки ризику розвитку та прогнозування перебігу захворювання доцільно проводити комплексне генотипування поліморфних варіантів ОНП *rs35934224 TXNRD2*, *rs2745599 FOXC1*, *rs984253 FOXC1*.

Носії сполучень генотипів *T/T\*A/A\*A/A* та *C/C\*A/A\*T/A* мають бути віднесені до групи високого ризику розвитку та швидкого прогресування ПБКГ.

2. До групи ризику по розвитку ПБКГ необхідно включати осіб із наявністю генотипу *A/A* при генотипуванні за ОНП *rs984253* та *rs2745599* гена *FOXC1* та *T/T* ОНП *rs35934224* гена *TXNRD2*.

3. У хворих з вперше виявленою ПБКГ для оцінки ризику прогресування захворювання слід проводити генотипування за ОНП *rs35934224* гена *TXNRD2* та *rs2745599* гена *FOXC1*.

При наявності генотипу *T/T* ОНП *rs35934224* гена *TXNRD2* (в 6,7 разів) та генотипу *A/A* *rs2745599* гена *FOXC1* (в 2,9 раз) слід очікувати швидке прогресування захворювання, яке потребує прийняття своєчасних профілактичних і лікувальних заходів.



**СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ**

1. Акрам М. А. А. (2011). *Роль сосудистых факторов в прогнозе первичной открытоугольной глаукомы*. (Дис. д-ра мед. наук). Санкт-Петербургская государственная медицинская академия им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург.
2. Александровська, Л. М., & Пенішкевич, Я. І. (2014). Первинна відкритокутова глаукома: патогенез. *Молодий вчений*, 3 (06), 108-110.
3. Алексеев, В. Н., & Газизова, И. Р. (2012). Нейродегенеративные изменения у больных первичной открытоугольной глаукомой. *Практическая медицина*, 4(59), 154-156.
4. Астахов, Ю. С., Васильев, В. Б., & Рахманов, В. В. (2005). Мутации и полиморфизмы генов миоцилина и оптиневрина: значение для ранней диагностики первичной открытоугольной глаукомы. *Клин. офтальмол*, 6(2), 48-51.
5. Астахов, Ю. С., Нефедова, Д. М., Акопов, Е. Л., & Гозиев, С. Д. (2010). Значение мигрени как фактора риска развития первичной открытоугольной глаукомы. *Офтальмологические ведомости*, 3(2), 11-12.
6. Бикбов, М. М., Суркова, В. К., Калентьева, А. З., Хуснутдинова, Э. К., & Джемилева, Л. У. (2010). Молекулярно-генетический анализ и его значение в диагностике первичной открытоугольной глаукомы. *Российский офтальмологический журнал*, 3(1), 4-7.
7. Вітовська, О. П. (2010). Організаційне та ресурсне забезпечення реалізації в Україні Національної стратегії боротьби із первинною глаукомою. *Україна. Здоров'я нації*, (1), 40-47.
8. Вітовська, О. П., & Риков, С. О. (2012). Організація офтальмологічної допомоги хворим на глаукому та її нормативно-правове

забезпечення. *Сучасні медичні технології*, (2), 46-50.

9. Егоров Е. А. (2013). Глаукома. Национальное руководство, 824.

10. Еричев, В. П., Панюшкина, Л. А., & Фомин, А. В. (2013). Оптическая когерентная томография сетчатки и зрительного нерва в диагностике болезни Альцгеймера. *Глаукома. Журнал НИИ ГБ РАМН*, (1), 5-10.

11. Еричев, В. П. (2013). Особенности системной гемодинамики у больных первичной открытоугольной глаукомой, компенсированным внутриглазным давлением и нестабилизированным течением. *Глаукома. Журнал НИИ ГБ РАМН*, (3-1), 20-23.

12. Журавлева А. Н. (2010). *Склеральный компонент в глаукомном процессе*. (Дис. канд. мед. наук). ФГУ «Московский научно-исследовательский институт глазных болезней им. Гельмгольца Росмедтехнологий», Москва.

13. Завгородняя Н. Г., Колесник Е. А., & Безуглый М. Б. (2009). Оценка параметров экскавации диска зрительного нерва в зависимости от состояния внутриглазной гемодинамики и клинического типа заболевания у больных первичной глаукомой. *Актуальные проблемы офтальмологии*, 75, 46-50.

14. Завгородняя, Н. Г., Пасечникова, Н. В. (2010). *Первичная глаукома. Новый взгляд на старую проблему*. Одесса: Агентство Орбіта-Юг.

15. Моїсеєнко Р. О., Голубчиков М. В., Риков С. О. (Ред.). (2019). *Офтальмологічна допомога в Україні за роки Незалежності: Аналітично-стат. довідник*. Кропивницький: Подіум.

16. Кошиц, И. Н., Светлова, О. В., Котляр, К. Е., Макаров, Ф. Н., & Смольников, Б. А. (2005). Биомеханический анализ традиционных и современных представлений о патогенезе первичной открытоугольной

глаукомы. *Глаукома*, 1, 41-62.

17. Курышева, Н. И. (2006). *Глаукомная оптическая нейропатия*. Москва: МЕДпресс-информ.

18. Курышева, Н. И., & Царегородцева, М. А. (2011). Роль дисфункции эндотелия в патогенезе глаукомы. *Глаукома. Журнал НИИ ГБ РАМН*, (1), 58-63.

19. Куроедов, А. В., Еричев, В. П., Ходыкина, Н. П., Городничий, В. В., & Цалкина, Е. Б. (2006). О корреляционных взаимоотношениях между суточными колебаниями внутриглазного давления и морфометрической структурой диска зрительного нерва. *Офтальмология*, 3(1), 43-49.

20. Нестеров А. П. (2008) *Глаукома*. Москва: ООО «Медицинское информационное агентство».

21. Попова, О. Е., Яблонская, Л. Я., Казанцев, В. С., & Якушева, М. Ю. (2013). Проблемы скрининга глаукомы: поиск маркёров индивидуальной предрасположенности. *Национальный журнал глаукома*, (3-2), 140-148.

22. Риков, С. О., Медведовська, Н. В., & Троянов, Д. П. (2012). Сучасний стан та динаміка поширеності глаукоми серед дорослого населення України. *Україна. Здоров'я нації*, (2-3), 119-121.

23. Светлова, О. В., Балашевич, Л. И., Засеева, М. В., Дроздова, Г. А., Макаров, Ф. Н., & Кошиц, И. Н. (2010). Физиологическая роль ригидности склеры в формировании уровня внутриглазного давления в норме и при глаукоме. *Глаукома*, (1), 26-40.

24. Сердюк В. М. (2014). *Клініко-експериментальне обґрунтування нейропротекції в комплексі лікування хворих на первинну відкритокутову глаукому*. (Дис. д-ра мед. наук). Донецький національний медичний університет ім. М. Горького, Донецьк.

25. Фатуллоева, Н. Ф., & Бессмертный, А. М. (2007).

Псевдоэксфолиативная глаукома: эпидемиология, клиника, особенности терапии. *Глаукома*, (2), 72-79.

26. Чайковська, В. В., Хаджинова, Н. А., Вялих, Т. І., & Величко, Н. М. (2012). Медико-соціальна допомога населенню старшого віку України: аналіз ситуації і необхідність розробки стратегії попередження прискороеного старіння. *Пробл. старения и долголетия*, 21(3), 396-400.

27. Малачкова Н. В., Веретельник С. П. (2018). *Зв'язок поліморфізму rs35934224 гена TXNRD2 з ПБКГ*. Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю «Рефракційний пленер`18», Київ.

28. Малачкова Н. В., Веретельник С. П. (2019). *Ступінь асоціації сполучень генотипів поліморфізмів rs2745599 і rs984253 гена FOXC1 та rs35934224 гена TXNRD2 з первинною відкритокутовою глаукомою та їх вплив на розвиток захворювання*. Матеріали науково-практичної конференції «Глаукома+, 2019»; Київ.

29. Abu-Amero, K. K., Morales, J., Mohamed, G. H., Osman, M. N., & Bosley, T. M. (2008). Glutathione S-transferase M1 and T1 polymorphisms in Arab glaucoma patients. *Molecular vision*, 14, 425.

30. Abu-Amero, K. K., Azad, T. A., Spaeth, G. L., Myers, J., Katz, L. J., Moster, M., & Bosley, T. M. (2012). Unaltered myocilin expression in the blood of primary open angle glaucoma patients. *Molecular vision*, 18, 1004.

31. Abu-Amero, K., Kondkar, A., & Chalam, K. (2015). An updated review on the genetics of primary open angle glaucoma. *International journal of molecular sciences*, 16(12), 28886-28911.

32. Acharya, M., Mookherjee, S., Bhattacharjee, A., Bandyopadhyay, A. K., Daulat Thakur, S. K., Bhaduri, G., ... & Ray, K. (2006). Primary role of CYP1B1 in Indian juvenile-onset POAG patients. *Mol Vis*, 12(1), 399-404.

33. Agarwal, R., Gupta, S. K., Agarwal, P., Saxena, R., & Agrawal, S. S. (2009). Current concepts in the pathophysiology of glaucoma. *Indian journal*

*of ophthalmology*, 57(4), 257.

34. Alexandrescu, C., Dascalu, A. M., Mitulescu, C., Panca, A., Pascu, R., Ciuluvica, R., ... & Voinea, L. M. (2010). Evidence-based pathophysiology of glaucoma. *Maedica*, 5(3), 207.

35. Allingham, R. R., Liu, Y., & Rhee, D. J. (2009). The genetics of primary open-angle glaucoma: a review. *Experimental eye research*, 88(4), 837-844.

36. Almasieh, M., Wilson, A. M., Morquette, B., Vargas, J. L. C., & Di Polo, A. (2012). The molecular basis of retinal ganglion cell death in glaucoma. *Progress in retinal and eye research*, 31(2), 152-181.

37. Alward, W. L., Kwon, Y. H., Kawase, K., Craig, J. E., Hayreh, S. S., Johnson, A. T., ... & Affatigato, L. M. (2003). Evaluation of optineurin sequence variations in 1,048 patients with open-angle glaucoma. *American journal of ophthalmology*, 136(5), 904-910.

38. Aung, T., Rezaie, T., Okada, K., Viswanathan, A. C., Child, A. H., Brice, G., ... & Hitchings, R. A. (2005). Clinical features and course of patients with glaucoma with the E50K mutation in the optineurin gene. *Investigative ophthalmology & visual science*, 46(8), 2816-2822.

39. Awadalla, M. S., Fingert, J. H., Roos, B. E., Chen, S., Holmes, R., Graham, S. L., ... & Zhou, T. (2015). Copy number variations of TBK1 in Australian patients with primary open-angle glaucoma. *American journal of ophthalmology*, 159(1), 124-130.

40. Bailey, J. N. C., Loomis, S. J., Kang, J. H., Allingham, R. R., Gharahkhani, P., Khor, C. C., ... & Hysi, P. G. (2016). Genome-wide association analysis identifies TXNRD2, ATXN2 and FOXC1 as susceptibility loci for primary open-angle glaucoma. *Nature genetics*, 48(2), 189.

41. Baird, P. N., Richardson, A. J., Mackey, D. A., Craig, J. E., Faucher, M., & Raymond, V. (2005). A common disease haplotype for the Q368STOP mutation of the myocilin gene in Australian and Canadian glaucoma

families. *American journal of ophthalmology*, 140(4), 760-762.

42. Barbosa, A. M., Frare, A. B., Costa, N. B., Silva, R. E., & Moura, K. K. (2012). GSTM1 polymorphism in patients with primary open-angle glaucoma. *Genet. Mol. Res*, 11, 3256-3262.

43. Baskaran, M., Raman, K., Ramani, K. K., Roy, J., Vijaya, L., & Badrinath, S. S. (2006). Intraocular pressure changes and ocular biometry during Sirsasana (headstand posture) in yoga practitioners. *Ophthalmology*, 113(8), 1327-1332.

44. Bayat, B., Yazdani, S., Alavi, A., Chiani, M., Chitsazian, F., Tusi, B. K., ... & Elahi, E. (2008). Contributions of MYOC and CYP1B1 mutations to JOAG. *Molecular vision*, 14, 508.

45. Bhattacharjee, A., Banerjee, D., Mookherjee, S., Acharya, M., Banerjee, A., Ray, A., ... & Indian Genome Variation Consortium. (2008). Leu432Val polymorphism in CYP1B1 as a susceptible factor towards predisposition to primary open-angle glaucoma. *Molecular vision*, 14, 841.

46. Braghini, C. A., Neshich, I. A. P., Neshich, G., Soardi, F. C., de Mello, M. P., Costa, V. P., ... & de Melo, M. B. (2013). New mutation in the myocilin gene segregates with juvenile-onset open-angle glaucoma in a Brazilian family. *Gene*, 523(1), 50-57.

47. Burdon, K. P., Macgregor, S., Hewitt, A. W., Sharma, S., Chidlow, G., Mills, R. A., ... & Landers, J. (2011). Genome-wide association study identifies susceptibility loci for open angle glaucoma at TMC01 and CDKN2B-AS1. *Nature genetics*, 43(6), 574.

48. Burdon, K. P. (2012). Genome-wide association studies in the hunt for genes causing primary open-angle glaucoma: a review. *Clinical & experimental ophthalmology*, 40(4), 358-363.

49. Burgoyne, C. F., Downs, J. C., Bellezza, A. J., Suh, J. K. F., & Hart, R. T. (2005). The optic nerve head as a biomechanical structure: a new paradigm for understanding the role of IOP-related stress and strain in the

pathophysiology of glaucomatous optic nerve head damage. *Progress in retinal and eye research*, 24(1), 39-73.

50. Caprioli, J., Munemasa, Y., Kwong, J. M., & Piri, N. (2009). Overexpression of thioredoxins 1 and 2 increases retinal ganglion cell survival after pharmacologically induced oxidative stress, optic nerve transection, and in experimental glaucoma. *Transactions of the American Ophthalmological Society*, 107, 161.

51. Chakrabarti, S., Devi, K. R., Komatireddy, S., Kaur, K., Parikh, R. S., Mandal, A. K., ... & Thomas, R. (2007). Glaucoma-associated CYP1B1 mutations share similar haplotype backgrounds in POAG and PACG phenotypes. *Investigative ophthalmology & visual science*, 48(12), 5439-5444.

52. Chalasani, M. L., Radha, V., Gupta, V., Agarwal, N., Balasubramanian, D., & Swarup, G. (2007). A glaucoma-associated mutant of optineurin selectively induces death of retinal ganglion cells which is inhibited by antioxidants. *Investigative ophthalmology & visual science*, 48(4), 1607-1614.

53. Chen, J. H., Xu, L., Li, Y., & Dong, B. (2011). Study on MYOC/TIGR gene mutations in primary open-angle glaucoma. *Chinese journal of ophthalmology*, 47(2), 122-128.

54. Chen, L. J., Ng, T. K., Fan, A. H., Leung, D. Y., Zhang, M., Wang, N., ... & Pang, C. P. (2012). Evaluation of NTF4 as a causative gene for primary open-angle glaucoma. *Molecular vision*, 18, 1763.

55. Chen, Y., Cai, J., & Jones, D. P. (2006). Mitochondrial thioredoxin in regulation of oxidant-induced cell death. *FEBS letters*, 580(28-29), 6596-6602.

56. Cheng, J. W., Li, P., & Wei, R. L. (2010). Meta-analysis of association between optineurin gene and primary open-angle glaucoma. *Medical Science Monitor*, 16(8), CR369-CR377.

57. Cheng, J. W., Cheng, S. W., Ma, X. Y., Cai, J. P., Li, Y., Lu, G.

C., & Wei, R. L. (2012). Myocilin polymorphisms and primary open-angle glaucoma: a systematic review and meta-analysis. *PloS one*, 7(9), e46632.

58. Choudhary, D., Jansson, I., Rezaul, K., Han, D. K., Sarfarazi, M., & Schenkman, J. B. (2007). Cyp1b1 protein in the mouse eye during development: an immunohistochemical study. *Drug metabolism and disposition*, 35(6), 987-994.

59. Chrysostomou, V., Rezaia, F., Trounce, I. A., & Crowston, J. G. (2013). Oxidative stress and mitochondrial dysfunction in glaucoma. *Current opinion in pharmacology*, 13(1), 12-15.

60. Cook, C. (2009). Glaucoma in Africa: size of the problem and possible solutions. *Journal of Glaucoma*, 18(2), 124-128.

61. Costa, N. B., Silva, C. T., Frare, A. B., Silva, R. E., & Moura, K. K. (2014). Association between CYP1A1m1 gene polymorphism and primary open-angle glaucoma. *Genet. Mol. Res.*, 13, 10382-10389.

62. Costagliola, C., Parmeggiani, F., Semeraro, F., & Sebastiani, A. (2008). Selective serotonin reuptake inhibitors: a review of its effects on intraocular pressure. *Current neuropharmacology*, 6(4), 293-310.

63. Crawford, A., Souzeau, E., Agar, A., Ridge, B., Dubowsky, A., Burdon, K. P., & Craig, J. E. (2014). Identification of a novel MYOC mutation, p.(Trp373\*), in a family with open angle glaucoma. *Gene*, 545(2), 271-275.

64. Day, A. C., Baio, G., Gazzard, G., Bunce, C., Azuara-Blanco, A., Munoz, B., ... & Foster, P. J. (2012). The prevalence of primary angle closure glaucoma in European derived populations: a systematic review. *British Journal of Ophthalmology*, 96(9), 1162-1167.

65. Database, G. (n.d.). GeneCards®: The Human Gene Database CYP1B1. Retrieved from <https://www.genecards.org/>

66. Database, G. (n.d.). GeneCards®: The Human Gene Database GSTM1. Retrieved from <https://www.genecards.org/>

67. Database, G. (n.d.). GeneCards®: The Human Gene Database



MYOC. Retrieved from <https://www.genecards.org/>

68. Database, G. (n.d.). GeneCards®: The Human Gene Database NTF4. Retrieved from <https://www.genecards.org/>

69. Database, G. (n.d.). GeneCards®: The Human Gene Database OPTN. Retrieved from <https://www.genecards.org/>

70. Database, G. (n.d.). GeneCards®: The Human Gene Database TBK I. Retrieved from <https://www.genecards.org/>

71. Database, G. (n.d.). GeneCards®: The Human Gene Database WDR36. Retrieved from <https://www.genecards.org/>

72. Delaney, Y., Walshe, T. E., & O'BRIEN, C. O. L. M. (2006). Vasospasm in glaucoma: clinical and laboratory aspects. *Optometry and Vision Science*, 83(7), 406-414.

73. De Marco, N., Buono, M., Troise, F., & Diez-Roux, G. (2006). Optineurin increases cell survival and translocates to the nucleus in a Rab8-dependent manner upon an apoptotic stimulus. *Journal of Biological Chemistry*, 281(23), 16147-16156.

74. D'haene, B., Meire, F., Claerhout, I., Kroes, H. Y., Plomp, A., Arens, Y. H., ... & Wuyts, W. (2011). Expanding the spectrum of FOXC1 and PITX2 mutations and copy number changes in patients with anterior segment malformations. *Investigative ophthalmology & visual science*, 52(1), 324-333.

75. Dong, S., Yang, J., Yu, W., Kota, P., Xia, X., & Xu, H. (2012). No association of genetic polymorphisms in CYP1B1 with primary open-angle glaucoma: a meta-and gene-based analysis. *Molecular vision*, 18, 786.

76. Eye Diseases Prevalence Research Group. (2004). Prevalence of open-angle glaucoma among adults in the United States. *Archives of ophthalmology*, 122(4), 532.

77. Faiq, M., Sharma, R., Dada, R., Mohanty, K., Saluja, D., & Dada, T. (2013). Genetic, biochemical and clinical insights into primary congenital glaucoma. *Journal of current glaucoma practice*, 7(2), 66.

78. Fan, B. J., Wang, D. Y., Lam, D. S. C., & Pang, C. P. (2006). Gene mapping for primary open angle glaucoma. *Clinical biochemistry*, 39(3), 249-258.
79. Fan, B. J., Wang, D. Y., Cheng, C. Y., Ko, W. C., Lam, S. C., & Pang, C. P. (2009). Different WDR36 mutation pattern in Chinese patients with primary open-angle glaucoma. *Molecular vision*, 15, 646.
80. Fan, B. J., Liu, K., Wang, D. Y., Tham, C. C., Tam, P. O., Lam, D. S., & Pang, C. P. (2010). Association of polymorphisms of tumor necrosis factor and tumor protein p53 with primary open-angle glaucoma. *Investigative ophthalmology & visual science*, 51(8), 4110-4116.
81. Fautsch, M. P., Vrabel, A. M., & Johnson, D. H. (2006). The identification of myocilin-associated proteins in the human trabecular meshwork. *Experimental eye research*, 82(6), 1046-1052.
82. Fingert, J. H., Ying, L., Swiderski, R. E., Nystuen, A. M., Arbour, N. C., Alward, W. L., ... & Stone, E. M. (1998). Characterization and Comparison of the Human and MouseGLC1A Glaucoma Genes. *Genome research*, 8(4), 377-384.
83. Fingert, J. H., Héon, E., Liebmann, J. M., Yamamoto, T., Craig, J. E., Rait, J., ... & Hockey, R. R. (1999). Analysis of myocilin mutations in 1703 glaucoma patients from five different populations. *Human molecular genetics*, 8(5), 899-905.
84. Fingert, J. H., Stone, E. M., Sheffield, V. C., & Alward, W. L. (2002). Myocilin glaucoma. *Survey of ophthalmology*, 47(6), 547-561.
85. Fingert, J. H., Alward, W. L., Kwon, Y. H., Shankar, S. P., Andorf, J. L., Mackey, D. A., ... & Stone, E. M. (2007). No association between variations in the WDR36 gene and primary open-angle glaucoma. *Archives of ophthalmology*, 125(3), 434-436.
86. Fingert J. H. (2011). Primary open angle glaucoma genes. *Nat Eye*. 25, 587 595.

87. Fingert, J. H., Darbro, B. W., Qian, Q., Van Rheeden, R., Miller, K., Riker, M., ... & Mullins, R. F. (2014). TBK1 and flanking genes in human retina. *Ophthalmic genetics*, 35(1), 35-40.
88. Flammer, J., Haefliger, I. O., Orgül, S., & Resink, T. (1999). Vascular dysregulation: a principal risk factor for glaucomatous damage? *Journal of glaucoma*, 8(3), 212-219.
89. Foster, P. J., Chan, M. P., Kapetanakis, V. V., Owen, C. G., & Rudnicka, A. R. (2015). Global variations and time trends in the prevalence of primary open angle glaucoma: a systematic review and meta-analysis. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 56(7), 5009-5009.
90. Frezzotti, P., Pescucci, C., Papa, F. T., Iester, M., Mittica, V., Motolese, I., ... & Mittica, P. (2011). Association between primary open-angle glaucoma (POAG) and WDR36 sequence variance in Italian families affected by POAG. *British Journal of Ophthalmology*, 95(5), 624-626.
91. Fujikawa, K., Iwata, T., Inoue, K., Akahori, M., Kadotani, H., Fukaya, M., ... & Swat, W. (2010). VAV2 and VAV3 as candidate disease genes for spontaneous glaucoma in mice and humans. *PloS one*, 5(2), e9050.
92. Gao, J., Ohtsubo, M., Hotta, Y., & Minoshima, S. (2014). Oligomerization of optineurin and its oxidative stress-or E50K mutation-driven covalent cross-linking: possible relationship with glaucoma pathology. *PloS one*, 9(7), e101206.
93. Gaunt, T. R., Rodriguez, S., Zapata, C., & Day, I. N. (2006). MIDAS: software for analysis and visualisation of interallelic disequilibrium between multiallelic markers. *BMC bioinformatics*, 7(1), 227.
94. Gemenetzi, M., Yang, Y., & Lotery, A. J. (2012). Current concepts on primary open-angle glaucoma genetics: a contribution to disease pathophysiology and future treatment. *Eye*, 26(3), 355.
95. Genetic diagnosis of eye diseases. (n.d.). Retrieved from [http://www.ofthalmic.ru/b\\_glaucoma.php](http://www.ofthalmic.ru/b_glaucoma.php).

96. George, R., Ramesh, S. V., & Vijaya, L. (2010). Glaucoma in India: estimated burden of disease. *Journal of glaucoma*, 19(6), 391-397.
97. Gibson, J., Griffiths, H., De Salvo, G., Cole, M., Jacob, A., MacLeod, A., ... & Lotery, A. (2012). Genome-wide association study of primary open angle glaucoma risk and quantitative traits. *Molecular vision*, 18, 1083.
98. Gong, G., Kosoko-Lasaki, O., Haynatzki, G. R., & Wilson, M. R. (2004). Genetic dissection of myocilin glaucoma. *Human molecular genetics*, 13(1), R91-R102.
99. Gong, G., Kosoko-Lasaki, S., Haynatzki, G., Lynch, H. T., Lynch, J. A., & Wilson, M. R. (2007). Inherited, familial and sporadic primary open-angle glaucoma. *Journal of the National Medical Association*, 99(5), 559.
100. Gould, D. B., Smith, R. S., & John, S. W. (2004). Anterior segment development relevant to glaucoma. *International Journal of Developmental Biology*, 48(8-9), 1015-1029.
101. Grus, F. H., Joachim, S. C., Sandmann, S., Thiel, U., Bruns, K., Lackner, K. J., & Pfeiffer, N. (2008). Transthyretin and complex protein pattern in aqueous humor of patients with primary open-angle glaucoma. *Molecular vision*, 14, 1437.
102. GTEx Consortium. (2015). The Genotype-Tissue Expression (GTEx) pilot analysis: multitissue gene regulation in humans. *Science*, 348(6235), 648-660.
103. Guo, H., Li, M., Wang, Z., Liu, Q., & Wu, X. (2015). Association of MYOC and APOE promoter polymorphisms and primary open-angle glaucoma: a meta-analysis. *International journal of clinical and experimental medicine*, 8(2), 2052.
104. Guo, L., Salt, T. E., Maass, A., Luong, V., Moss, S. E., Fitzke, F. W., & Cordeiro, M. F. (2006). Assessment of neuroprotective effects of glutamate modulation on glaucoma-related retinal ganglion cell apoptosis in

vivo. *Investigative ophthalmology & visual science*, 47(2), 626-633.

105. Gupta, N., Ang, L. C., De Tilly, L. N., Bidaisee, L., & Yücel, Y. H. (2006). Human glaucoma and neural degeneration in intracranial optic nerve, lateral geniculate nucleus, and visual cortex. *British Journal of Ophthalmology*, 90(6), 674-678.

106. Güven, M., Ünal, M., Sarıcı, A., Özaydın, A., Batar, B., & Devranog˘lu, K. (2007). Glutathione-S-transferase M1 and T1 genetic polymorphisms and the risk of cataract development: a study in the Turkish population. *Current eye research*, 32(5), 447-454.

107. Hauser, M. A., Allingham, R. R., Linkroum, K., Wang, J., LaRocque-Abramson, K., Figueiredo, D., ... & Wiggs, J. L. (2006). Distribution of WDR36 DNA sequence variants in patients with primary open-angle glaucoma. *Investigative ophthalmology & visual science*, 47(6), 2542-2546.

108. He, Y., Leung, K. W., Zhuo, Y. H., & Ge, J. (2009). Pro370Leu mutant myocilin impairs mitochondrial functions in human trabecular meshwork cells. *Molecular vision*, 15, 815.

109. Hewitt, A. W., Dimasi, D. P., Mackey, D. A., & Craig, J. E. (2006). A Glaucoma Case-control Study of the WDR36 Gene D658G sequence variant. *American journal of ophthalmology*, 142(2), 324-325.

110. Hewitt, A. W., Bennett, S. L., Fingert, J. H., Cooper, R. L., Stone, E. M., Craig, J. E., & Mackey, D. A. (2007). The optic nerve head in myocilin glaucoma. *Investigative ophthalmology & visual science*, 48(1), 238-243.

111. Hewitt, A. W., Mackey, D. A., & Craig, J. E. (2008). Myocilin allele-specific glaucoma phenotype database. *Human mutation*, 29(2), 207-211.

112. Hollands, H., Johnson, D., Hollands, S., Simel, D. L., Jinapriya, D., & Sharma, S. (2013). Do findings on routine examination identify patients at risk for primary open-angle glaucoma?:The rational clinical examination systematic review. *Jama*, 309(19), 2035-2042.

113. Huang, W., Wang, W., Zhou, M., Chen, S., & Zhang, X. (2013).

Association of glutathione S-transferase polymorphisms (GSTM1 and GSTT1) with primary open-angle glaucoma: an evidence-based meta-analysis. *Gene*, 526(2), 80-86.

114. IGSR: The International Genome Sample Resource. Retrieved from <https://www.internationalgenome.org/category/phase-3/>

115. Ito, Y. A., Goping, I. S., Berry, F., & Walter, M. A. (2014). Dysfunction of the stress-responsive FOXC1 transcription factor contributes to the earlier-onset glaucoma observed in Axenfeld-Rieger syndrome patients. *Cell death & disease*, 5(2), e1069.

116. Izzotti, A., Bagnis, A., & Saccà, S. C. (2006). The role of oxidative stress in glaucoma. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 612(2), 105-114.

117. Janssen, S. F., Gorgels, T. G., Ramdas, W. D., Klaver, C. C., van Duijn, C. M., Jansonius, N. M., & Bergen, A. A. (2013). The vast complexity of primary open angle glaucoma: disease genes, risks, molecular mechanisms and pathobiology. *Progress in retinal and eye research*, 37, 31-67.

118. Jansson, M., Rada, A., Tomic, L., Larsson, L. I., & Wadelius, C. (2003). Analysis of the Glutathione S-transferase M1 gene using pyrosequencing and multiplex PCR—no evidence of association to glaucoma. *Experimental eye research*, 77(2), 239-243.

119. Juronen, E., Tasa, G., Veromann, S., Parts, L., Tiidla, A., Pulges, R., ... & Mikelsaar, A. V. (2000). Polymorphic glutathione S-transferase M1 is a risk factor of primary open-angle glaucoma among Estonians. *Experimental eye research*, 71(5), 447-452.

120. Kapetanakis, V. V., Chan, M. P., Foster, P. J., Cook, D. G., Owen, C. G., & Rudnicka, A. R. (2016). Global variations and time trends in the prevalence of primary open angle glaucoma (POAG): a systematic review and meta-analysis. *British Journal of Ophthalmology*, 100(1), 86-93.

121. Kawase, K., Allingham, R. R., Meguro, A., Mizuki, N., Roos, B.,

Solivan-Timpe, F. M., ... & Fingert, J. H. (2012). Confirmation of TBK1 duplication in normal tension glaucoma. *Experimental eye research*, 96(1), 178.

122. Kim, Y. K., Choi, H. J., Jeoung, J. W., Park, K. H., & Kim, D. M. (2014). Five-year incidence of primary open-angle glaucoma and rate of progression in health center-based Korean population: the Gangnam Eye Study. *PLoS One*, 9(12), e114058.

123. Klein, R., & Klein, B. E. (2013). The prevalence of age-related eye diseases and visual impairment in aging: current estimates. *Investigative ophthalmology & visual science*, 54(14), 5-13.

124. Kumar, A., Basavaraj, M. G., Gupta, S. K., Qamar, I., Ali, A. M., Bajaj, V., ... & Dorairaj, S. K. (2007). Role of CYP1B1, MYOC, OPTN and OPTC genes in adult-onset primary open-angle glaucoma: predominance of CYP1B1 mutations in Indian patients. *Molecular vision*, 13, 667.

125. Kumar, D. M., & Agarwal, N. (2007). Oxidative stress in glaucoma: a burden of evidence. *Journal of glaucoma*, 16(3), 334-343.

126. Kumar, S., Malik, M. A., Goswami, S., Sihota, R., & Kaur, J. (2016). Candidate genes involved in the susceptibility of primary open angle glaucoma. *Gene*, 577(2), 119-131.

127. Kwon, Y. H., Fingert, J. H., Kuehn, M. H., & Alward, W. L. (2009). Primary open-angle glaucoma. *New England Journal of Medicine*, 360(11), 1113-1124.

128. Kyari, F., Abdull, M. M., Bastawrous, A., Gilbert, C. E., & Faal, H. (2013). Epidemiology of glaucoma in sub-saharan Africa: prevalence, incidence and risk factors. *Middle East African journal of ophthalmology*, 20(2), 111

129. L. disequilibrium. (2019, August 17). Linkage disequilibrium. Retrieved from [https://en.wikipedia.org/wiki/Linkage\\_disequilibrium](https://en.wikipedia.org/wiki/Linkage_disequilibrium)

130. Lattante, S., Millecamps, S., Stevanin, G., Rivaud-Péchoux, S., Moigneu, C., Camuzat, A., ... & Hannequin, D. (2014). Contribution of ATXN2

intermediary polyQ expansions in a spectrum of neurodegenerative disorders. *Neurology*, 83(11), 990-995.

131. Leske, M. C. (2007). Open-angle glaucoma—an epidemiologic overview. *Ophthalmic epidemiology*, 14(4), 166-172.

132. Lewis, C. J., Hedberg-Buenz, A., DeLuca, A. P., Stone, E. M., Alward, W. L., & Fingert, J. H. (2017). Primary congenital and developmental glaucomas. *Human molecular genetics*, 26(R1), R28-R36.

133. Liang, Y. B., Friedman, D. S., Zhou, Q., Yang, X., Sun, L. P., Guo, L. X., ... & Wang, N. L. (2011). Prevalence of primary open angle glaucoma in a rural adult Chinese population: the Handan eye study. *Investigative ophthalmology & visual science*, 52(11), 8250-8257.

134. Liu, Y., & Allingham, R. R. (2011). Molecular genetics in glaucoma. *Experimental eye research*, 93(4), 331-339.

135. Liu, Y., Garrett, M. E., Yaspan, B. L., Bailey, J. C., Loomis, S. J., Brilliant, M., ... & Gaasterland, T. (2014). DNA copy number variants of known glaucoma genes in relation to primary open-angle glaucoma. *Investigative ophthalmology & visual science*, 55(12), 8251-8258.

136. Liu, Y., & Allingham, R. R. (2017). Major review: Molecular genetics of primary open-angle glaucoma. *Experimental eye research*, 160, 62-84.

137. López-Garrido, M. P., Sánchez-Sánchez, F., López-Martínez, F., Aroca-Aguilar, J. D., Blanco-Marchite, C., Coca-Prados, M., & Escribano, J. (2006). Heterozygous CYP1B1 gene mutations in Spanish patients with primary open-angle glaucoma. *Mol Vis*, 12(1), 748-755.

138. López-Garrido, M. P., Blanco-Marchite, C., Sánchez-Sánchez, F., López-Sánchez, E., Chaqués-Alepuz, V., Campos-Mollo, E., ... & Escribano, J. (2010). Functional analysis of CYP1B1 mutations and association of heterozygous hypomorphic alleles with primary open-angle glaucoma. *Clinical genetics*, 77(1), 70-78.



139. López-Martínez, F., López-Garrido, M. P., Sánchez-Sánchez, F., Campos-Mollo, E., Coca-Prados, M., & Escribano, J. (2007). Role of MYOC and OPTN sequence variations in Spanish patients with primary open-angle glaucoma. *Molecular vision*, 13, 862.
140. Lu, T., Aron, L., Zullo, J., Pan, Y., Kim, H., Chen, Y., ... & Bennett, D. A. (2014). REST and stress resistance in ageing and Alzheimer's disease. *Nature*, 507(7493), 448.
141. Lu, Y., Shi, Y., Yin, J., & Huang, Z. (2013). Are glutathione S-transferase polymorphisms (GSTM1, GSTT1) associated with primary open angle glaucoma? A meta-analysis. *Gene*, 527(1), 311-315.
142. Lundmark, P. O., Pandi-Perumal, S. R., Srinivasan, V., Cardinali, D. P., & Rosenstein, R. E. (2007). Melatonin in the eye: implications for glaucoma. *Experimental eye research*, 84(6), 1021-1030.
143. Määttä, M., Tervahartiala, T., Harju, M., Airaksinen, J., Autio-Harmainen, H., & Sorsa, T. (2005). Matrix metalloproteinases and their tissue inhibitors in aqueous humor of patients with primary open-angle glaucoma, exfoliation syndrome, and exfoliation glaucoma. *Journal of glaucoma*, 14(1), 64-69.
144. Malachkova, N. V., & Veretelnyk, S. P. (2018). Correlation of rs35934224 polymorphism of TXNRD2 gene with primary open-angle glaucoma. *Archive of Ukrainian ophthalmology*, 6(3), 19-23.
145. Malachkova N., Veretelnyk S., Ziablitsev S. (2019). Distribution of genotypes and alleles and association with FOXC1 rs2745599 genetic polymorphism with primary open-angle glaucoma. *Ophthalmology. Eastern Europe*, 9(1), 40-50.
146. Malachkova, N. V., Veretelnyk, S. P., & Slobodian, P. P. (2018). Effect of TXNRD2 rs35934224, FOXC1 rs2745599 and rs984253 genetic polymorphisms combinations on the development of primary open-angle glaucoma and their degree of association with the disease. *Biomedical and*

*Biosocial Anthropology*, (33), 12-17.

147. Malachkova, N. V., Veretelnyk, S. P. (2019). FOXC1 variant in primary open-angle glaucoma patients. *East European Scientific Journal*, 4(44), 7-11.

148. McDonald, K. K., Abramson, K., Beltran, M. A., Ramirez, M. G., Alvarez, M., Ventura, A., ... & Allingham, R. R. (2010). Myocilin and optineurin coding variants in Hispanics of Mexican descent with POAG. *Journal of human genetics*, 55(10), 697.

149. Mears, A. J., Jordan, T., Mirzayans, F., Dubois, S., Kume, T., Parlee, M., ... & Marshall, J. (1998). Mutations of the forkhead/winged-helix gene, FKHL7, in patients with Axenfeld-Rieger anomaly. *The American Journal of Human Genetics*, 63(5), 1316-1328.

150. Medina-Trillo, C., Aroca-Aguilar, J. D., Méndez-Hernández, C. D., Morales, L., García-Antón, M., García-Feijoo, J., & Escribano, J. (2016). Rare FOXC1 variants in congenital glaucoma: identification of translation regulatory sequences. *European Journal of Human Genetics*, 24(5), 672.

151. Melki, R., Colomb, E., Lefort, N., Brezin, A. P., & Garchon, H. J. (2004). CYP1B1 mutations in French patients with early-onset primary open-angle glaucoma. *Journal of medical genetics*, 41(9), 647-651.

152. Meng, Q., Lv, J., Ge, H., Zhang, L., Xue, F., Zhu, Y., & Liu, P. (2012). Overexpressed mutant optineurin (E50K) induces retinal ganglion cells apoptosis via the mitochondrial pathway. *Molecular biology reports*, 39(5), 5867-5873.

153. Minegishi, Y., Iejima, D., Kobayashi, H., Chi, Z. L., Kawase, K., Yamamoto, T., ... & Iwata, T. (2013). Enhanced optineurin E50K–TBK1 interaction evokes protein insolubility and initiates familial primary open-angle glaucoma. *Human molecular genetics*, 22(17), 3559-3567.

154. Miyazawa, A., Fuse, N., Mengkegale, M., Ryu, M., Seimiya, M., Wada, Y., & Nishida, K. (2007). Association between primary open-angle

glaucoma and WDR36 DNA sequence variants in Japanese. *Mol Vis*, 13, 1912-1919.

155. Mogilevskyy, S. Y., & Denisiuk, L. I. (2016). Association of polymorphism pro72arg of tp53 gene with development of primary open angle glaucoma depending from sex and age. *Archive of Ukrainian Ophthalmology*, 4(1), 40-44.

156. Monemi, S., Spaeth, G., DaSilva, A., Popinchalk, S., Ilitchev, E., Liebmann, J., ... & Sarfarazi, M. (2005). Identification of a novel adult-onset primary open-angle glaucoma (POAG) gene on 5q22. 1. *Human molecular genetics*, 14(6), 725-733.

157. Mookherjee, S., Chakraborty, S., Vishal, M., Banerjee, D., Sen, A., & Ray, K. (2011). WDR36 variants in East Indian primary open-angle glaucoma patients. *Molecular vision*, 17, 2618.

158. Morton, S., Hesson, L., Peggie, M., & Cohen, P. (2008). Enhanced binding of TBK1 by an optineurin mutant that causes a familial form of primary open angle glaucoma. *FEBS letters*, 582(6), 997-1002.

159. Motushchuk, A. E., Komarova, T. Y., Grudinina, N. A., Rakhmanov, V. V., Mandelshtam, M. Y., Astakhov, Y. S., & Vasilyev, V. B. (2009). Genetic variants of CYP1B1 and WDR36 in the patients with primary congenital glaucoma and primary open angle glaucoma from saint-Petersburg. *Russian journal of genetics*, 45(12), 1467.

160. Munemasa, Y., Ahn, J. H., Kwong, J. M. K., Caprioli, J., & Piri, N. (2009). Redox proteins thioredoxin 1 and thioredoxin 2 support retinal ganglion cell survival in experimental glaucoma. *Gene Therapy*, 16(1), 17.

161. Nishimura, D. Y., Searby, C. C., Alward, W. L., Walton, D., Craig, J. E., Mackey, D. A., ... & Sheffield, V. C. (2001). A spectrum of FOXC1 mutations suggests gene dosage as a mechanism for developmental defects of the anterior chamber of the eye. *The American Journal of Human Genetics*, 68(2), 364-372

162. Nguyen, C. T., Bui, B. V., Sinclair, A. J., & Vingrys, A. J. (2007). Dietary omega 3 fatty acids decrease intraocular pressure with age by increasing aqueous outflow. *Investigative ophthalmology & visual science*, 48(2), 756-762.
163. Nucci, C., Tartaglione, R., Rombolà, L., Morrone, L. A., Fazzi, E., & Bagetta, G. (2005). Neurochemical evidence to implicate elevated glutamate in the mechanisms of high intraocular pressure (IOP)-induced retinal ganglion cell death in rat. *Neurotoxicology*, 26(5), 935-941.
164. Ojha, P., Wiggs, J. L., & Pasquale, L. R. (2013). The genetics of intraocular pressure. *In Seminars in ophthalmology*, 28(5-6), 301-305). Taylor & Francis.
165. Omoti, A. E., & Edema, O. T. (2007). A review of the risk factors in primary open angle glaucoma. *Nigerian journal of clinical practice*, 10(1), 79-82.
166. Ozcan, A. A., Ozdemir, N., & Canataroglu, A. (2004). The aqueous levels of TGF- $\beta$ 2 in patients with glaucoma. *International ophthalmology*, 25(1), 19-22.
167. Pang, C. P., Fan, B. J., Canlas, O., Wang, D. Y., Dubois, S., Tam, P. O., ... & Ritch, R. (2006). A genome-wide scan maps a novel juvenile-onset primary open angle glaucoma locus to chromosome 5q. *Mol Vis*, 12, 85-92.
168. Park, B. C., Shen, X., Samaraweera, M., & Yue, B. Y. (2006). Studies of optineurin, a glaucoma gene: Golgi fragmentation and cell death from overexpression of wild-type and mutant optineurin in two ocular cell types. *The American journal of pathology*, 169(6), 1976-1989.
169. Park, B. C., Tibudan, M., Samaraweera, M., Shen, X., & Yue, B. Y. (2007). Interaction between two glaucoma genes, optineurin and myocilin. *Genes to Cells*, 12(8), 969-979.
170. Park, S., Jamshidi, Y., Vaideanu, D., Fraser, S., & Sowden, J. C. (2012). Common TGF $\beta$ 2, BMP4, and FOXC1 variants are not associated with primary open-angle glaucoma. *Molecular vision*, 18, 1526.

171. Pasquale, L. R., & Kang, J. H. (2009). Lifestyle, nutrition and glaucoma. *Journal of glaucoma*, 18(6), 423.
172. Pasutto, F., Mardin, C. Y., Michels-Rautenstrauss, K., Weber, B. H., Sticht, H., Chavarria-Soley, G., ... & Reis, A. (2008). Profiling of WDR36 missense variants in German patients with glaucoma. *Investigative ophthalmology & visual science*, 49(1), 270-274.
173. Pasutto, F., Matsumoto, T., Mardin, C. Y., Sticht, H., Brandstätter, J. H., Michels-Rautenstrauss, K., ... & Klaver, C. C. (2009). Heterozygous NTF4 mutations impairing neurotrophin-4 signaling in patients with primary open-angle glaucoma. *The American Journal of Human Genetics*, 85(4), 447-456.
174. Pasutto, F., Chavarria-Soley, G., Mardin, C. Y., Michels-Rautenstrauss, K., Ingelman-Sundberg, M., Fernández-Martínez, L., ... & Reis, A. (2010). Heterozygous loss-of-function variants in CYP1B1 predispose to primary open-angle glaucoma. *Investigative ophthalmology & visual science*, 51(1), 249-254.
175. Patel, H. Y., Richards, A. J., De Karolyi, B., Best, S. J., Danesh-Meyer, H. V., & Vincent, A. L. (2012). Screening glaucoma genes in adult glaucoma suggests a multiallelic contribution of CYP1B1 to open-angle glaucoma phenotypes. *Clinical & experimental ophthalmology*, 40(4), e208-e217.
176. Pinazo-Duran, M. D., Zanon-Moreno, V., Gallego-Pinazo, R., & Garcia-Medina, J. J. (2015). Oxidative stress and mitochondrial failure in the pathogenesis of glaucoma neurodegeneration. *In Progress in brain research*, 220, 127-153.
177. Quigley, H. A., & Broman, A. T. (2006). The number of people with glaucoma worldwide in 2010 and 2020. *British journal of ophthalmology*, 90(3), 262-267.
178. Ramakrishnan, R., Nirmalan, P. K., Krishnadas, R., Thulasiraj, R. D., Tielsch, J. M., Katz, J., ... & Robin, A. L. (2003). Glaucoma in a rural

population of southern India: the Aravind comprehensive eye survey. *Ophthalmology*, 110(8), 1484-1490.

179. Rao, K. N., Nagireddy, S., & Chakrabarti, S. (2011). Complex genetic mechanisms in glaucoma: an overview. *Indian journal of ophthalmology*, 59(1), S31.

180. Ray, K., & Mookherjee, S. (2009). Molecular complexity of primary open angle glaucoma: current concepts. *Journal of genetics*, 88(4), 451-467.

181. Ren, R., Jonas, J. B., Tian, G., Zhen, Y., Ma, K., Li, S., ... & Wang, N. (2010). Cerebrospinal fluid pressure in glaucoma: a prospective study. *Ophthalmology*, 117(2), 259-266.

182. Resch, H., Garhofer, G., Fuchsjäger-Mayrl, G., Hommer, A., & Schmetterer, L. (2009). Endothelial dysfunction in glaucoma. *Acta ophthalmologica*, 87(1), 4-12.

183. Resch, Z. T., & Fautsch, M. P. (2009). Glaucoma-associated myocilin: a better understanding but much more to learn. *Experimental eye research*, 88(4), 704-712.

184. Rezaie, T., Child, A., Hitchings, R., Brice, G., Miller, L., Coca-Prados, M., ... & Crick, R. P. (2002). Adult-onset primary open-angle glaucoma caused by mutations in optineurin. *Science*, 295(5557), 1077-1079.

185. Rieck, J. (2013). The pathogenesis of glaucoma in the interplay with the immune system. *Investigative ophthalmology & visual science*, 54(3), 2393-2409.

186. Ritch, R., Darbro, B., Menon, G., Khanna, C. L., Solivan-Timpe, F., Roos, B. R., ... & Lotery, A. J. (2014). TBK1 gene duplication and normal-tension glaucoma. *JAMA ophthalmology*, 132(5), 544-548.

187. Rocha, A. V., Talbot, T., da Silva, T. M., Almeida, M. C., Menezes, C. A., Di Pietro, G., & Rios-Santos, F. (2011). Is the GSTM1 null polymorphism a risk factor in primary open angle glaucoma? *Molecular*

*vision*, 17, 1679.

188. Rotimi, C. N., Chen, G., Adeyemo, A. A., Jones, L. S., Agyenim-Boateng, K., Eghan, B. A., ... & Fasanmade, O. (2006). Genomewide scan and fine mapping of quantitative trait loci for intraocular pressure on 5q and 14q in West Africans. *Investigative ophthalmology & visual science*, 47(8), 3262-3267.

189. Rudnicka, A. R., Mt-Isa, S., Owen, C. G., Cook, D. G., & Ashby, D. (2006). Variations in primary open-angle glaucoma prevalence by age, gender, and race: a Bayesian meta-analysis. *Investigative ophthalmology & visual science*, 47(10), 4254-4261.

190. Safa, F. K., Shahsavari, G., & Abyaneh, R. Z. (2014). Glutathione s-transferase M1 and T1 genetic polymorphisms in Iranian patients with glaucoma. *Iranian journal of basic medical sciences*, 17(5), 332.

191. Sarfarazi, M., Akarsu, N. A., Hossain, A., Turacli, E. M., Aktan, G. S., Barsoum-Homsy, M., ... & Sayli, S. B. (1995). Assignment of a locus (GLC3A) for primary congenital glaucoma (Buphthalmos) to 2p21 and evidence for genetic heterogeneity. *Genomics*, 30(2), 171-177.

192. Seo, S., Solivan-Timpe, F., Roos, B. R., Robin, A. L., Stone, E. M., Kwon, Y. H., ... & Fingert, J. H. (2013). Identification of proteins that interact with TANK binding kinase 1 and testing for mutations associated with glaucoma. *Current eye research*, 38(2), 310-315.

193. Serdiuk, V. N. (2016). A mathematical model of predicting the risk of treatment failure in patients with primary open-angle glaucoma. *Наука и общество*, (2), 62-66.

194. Shen, S. Y., Wong, T. Y., Foster, P. J., Loo, J. L., Rosman, M., Loon, S. C., ... & Aung, T. (2008). The prevalence and types of glaucoma in Malay people: the Singapore Malay Eye Study. *Investigative ophthalmology & visual science*, 49(9), 3846-3851.

195. Siesky, B. A., Harris, A., Patel, C., Klaas, C. L., Harris, M., McCranor, L. J., ... & Kaplan, B. (2008). Comparison of visual function and

ocular hemodynamics between pre-and post-menopausal women. *Eur J Ophthalmol.* 18(2), 320-3.

196. Smith, R. S., Zabaleta, A., Kume, T., Savinova, O. V., Kidson, S. H., Martin, J. E., ... & John, S. W. (2000). Haploinsufficiency of the transcription factors FOXC1 and FOXC2 results in aberrant ocular development. *Human molecular genetics*, 9(7), 1021-1032.

197. Souzeau, E., Burdon, K. P., Dubowsky, A., Grist, S., Usher, B., Fitzgerald, J. T., ... & Ruddle, J. B. (2013). Higher prevalence of myocilin mutations in advanced glaucoma in comparison with less advanced disease in an Australasian disease registry. *Ophthalmology*, 120(6), 1135-1143.

198. Stone, E. M., Fingert, J. H., Alward, W. L., Nguyen, T. D., Polansky, J. R., Sunden, S. L., ... & Mackey, D. A. (1997). Identification of a gene that causes primary open angle glaucoma. *Science*, 275(5300), 668-670.

199. Suri, F., Kalhor, R., Zargar, S. J., Nilforooshan, N., Yazdani, S., Nezari, H., ... & Ahmadian, A. (2008). Screening of common CYP1B1 mutations in Iranian POAG patients using a microarray-based PrASE protocol. *Molecular vision*, 14, 2349.

200. Talty, P., & D O'Brien, P. (2005). Does extended wear of a tight necktie cause raised intraocular pressure? *Journal of glaucoma*, 14(6), 508-510.

201. Tan, J. C., Peters, D. M., & Kaufman, P. L. (2006). Recent developments in understanding the pathophysiology of elevated intraocular pressure. *Current opinion in ophthalmology*, 17(2), 168-174.

202. Tham, Y. C., Li, X., Wong, T. Y., Quigley, H. A., Aung, T., & Cheng, C. Y. (2014). Global prevalence of glaucoma and projections of glaucoma burden through 2040: a systematic review and meta-analysis. *Ophthalmology*, 121(11), 2081-2090.

203. Thorleifsson, G., Walters, G. B., Hewitt, A. W., Masson, G., Helgason, A., DeWan, A., ... & Stefansson, H. (2010). Common variants near CAV1 and CAV2 are associated with primary open-angle glaucoma. *Nature*



*genetics*, 42(10), 906.

204. Ünal, M., Güven, M., Devranoglu, K., Özaydin, A., Batar, B., Tamçelik, N., ... & Sarıcı, A. (2007). Glutathione S transferase M1 and T1 genetic polymorphisms are related to the risk of primary open-angle glaucoma: a study in a Turkish population. *British journal of ophthalmology*, 91(4), 527-530.

205. van der Merwe, E. L., & Kidson, S. H. (2016). Wholemout imaging reveals abnormalities of the aqueous outflow pathway and corneal vascularity in Foxc1 and Bmp4 heterozygous mice. *Experimental eye research*, 146, 293-303.

206. Varma, R., Peeples, P., Walt, J. G., & Bramley, T. J. (2008). Disease progression and the need for neuroprotection in glaucoma management. *The American journal of managed care*, 14(1 Suppl), S15-9.

207. Vasiliou, V., & Gonzalez, F. J. (2008). Role of CYP1B1 in glaucoma. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 48, 333-358.

208. Vieira, G. M., Oliveira, H. B., de Andrade, D. T., Bottaro, M., & Ritch, R. (2006). Intraocular pressure variation during weight lifting. *Archives of Ophthalmology*, 124(9), 1251-1254.

209. Vithana, E. N., Nongpiur, M. E., Venkataraman, D., Chan, S. H., Mavinahalli, J., & Aung, T. (2010). Identification of a novel mutation in the NTF4 gene that causes primary open-angle glaucoma in a Chinese population. *Molecular vision*, 16, 1640.

210. Vrabc, J. P., & Levin, L. A. (2007). The neurobiology of cell death in glaucoma. *Eye*, 21(S1), S11.

211. Wamsley, S., B'Ann, T. G., Dahl, D. B., Case, G. L., Sherwood, R. W., May, C. A., ... & Kaufman, P. L. (2005). Vitreous glutamate concentration and axon loss in monkeys with experimental glaucoma. *Archives of Ophthalmology*, 123(1), 64-70.

212. Wang, N., Xie, X., Yang, D., Xian, J., Li, Y., Ren, R., ... & Weinreb, R. N. (2012). Orbital cerebrospinal fluid space in glaucoma: the

Beijing intracranial and intraocular pressure (iCOP) study. *Ophthalmology*, 119(10), 2065-2073.

213. Waryah, A. M., Narsani, A. K., Sheikh, S. A., Shaikh, H., & Shahani, M. Y. (2013). The novel heterozygous Thr377Arg MYOC mutation causes severe Juvenile Open Angle Glaucoma in a large Pakistani family. *Gene*, 528(2), 356-359.

214. Weinreb, R. N., Aung, T., & Medeiros, F. A. (2014). The pathophysiology and treatment of glaucoma: a review. *Jama*, 311(18), 1901-1911.

215. Wiggs, J. L., Yaspan, B. L., Hauser, M. A., Kang, J. H., Allingham, R. R., Olson, L. M., ... & Budenz, D. L. (2012). Common variants at 9p21 and 8q22 are associated with increased susceptibility to optic nerve degeneration in glaucoma. *PLoS genetics*, 8(4), e1002654.

216. Wiggs, J. L., & Pasquale, L. R. (2017). Genetics of glaucoma. *Human molecular genetics*, 26(R1), R21-R27.

217. Williams, S. E. I., Carmichael, T. R., Wainstein, T., Hobbs, A., & Ramsay, M. (2015). MYOC mutations in black South African patients with primary open-angle glaucoma: genetic testing and cascade screening. *Ophthalmic genetics*, 36(1), 31-38.

218. Yen, Y. C., Yang, J. J., Chou, M. C., & Li, S. Y. (2007). Identification of mutations in the myocilin (MYOC) gene in Taiwanese patients with juvenile-onset open-angle glaucoma. *Mol Vis*, 13(1627), e1634.

219. Yildirim, Ö., Ateş, N. A., Tamer, L., Öz, Ö., Yilmaz, A., Atik, U., & Çamdeviren, H. (2005). May glutathione S-transferase M1 positive genotype afford protection against primary open-angle glaucoma? *Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*, 243(4), 327-333.

220. Yu, Y., Weng, Y., Guo, J., Chen, G., & Yao, K. (2013). Association of glutathione S transferases polymorphisms with glaucoma: a meta-analysis. *PloS one*, 8(1), e54037.

221. Zanon-Moreno, V., Melo, P., Mendes-Pinto, M. M., Alves, C. J., Garcia-Medina, J. J., Vinuesa-Silva, I., ... & Pinazo-Duran, M. D. (2008). Serotonin levels in aqueous humor of patients with primary open-angle glaucoma. *Molecular vision*, 14, 2143.

222. Zhang, L., Xu, L., & Yang, H. (2009). Risk factors and the progress of primary open-angle glaucoma. *Chinese journal of ophthalmology*, 45(4), 380-384.

**ДОДАТКИ**

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Головний лікар ТОВ «ОПТИМАЛ-М»

м. Вінниця

С. Г. Малачков

« 10 » 04 2019р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. «Використання біомолекулярного методу для оптимізації діагностики та прогнозування розвитку первинної відкритокутової глаукоми»  
(назва пропозиції для впровадження )

2. Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56, 21000, Веретельник С.П., Малачкова Н.В.  
(установа-розробник, її поштовий адрес, ПІБ авторів )

3. Джерело інформації: Публікація: Malachkova, N. V., Veretelnyk, S. P., & Slobodian, P. P. (2018). Effect of TXNRD2 rs35934224, FOXC1 rs2745599 and rs984253 genetic polymorphisms combinations on the development of primary open-angle glaucoma and their degree of association with the disease. *Biomedical and Biosocial Anthropology*, (33), 12-17.  
(назва, рік видання методичних рекомендацій, інформаційного листа, вихідні данні статті, № патенту тощо)

4. Впроваджено за 2019 р. у медичному центрі ТОВ «ОПТИМАЛ-М»  
(назва лікувально-профілактичної установи)

5. Строки впровадження з 03 2019 року по 11 2019 року.

6. Загальна кількість спостережень 85

7. Ефективність впровадження згідно з критеріями, викладеними у джерелі інформації ( п.3 ): Використання результатів наукових досліджень у лікувальному процесі дозволяє оптимізувати діагностику та прогнозування ризику розвитку первинної відкритокутової глаукоми.

8. Зауваження, додатки не має.

Відповідальний за впровадження:

«10» 04 2019 р.

К. М. Радьога



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з наукової роботи  
Вінницького національного медичного  
університету ім. М.І. Пироговапроф. О.В. Власенко  
» 09 2019 р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** Використання молекулярно-генетичного методу для оптимізації діагностики та прогнозування розвитку первинної відкритокутової глаукоми

2. **Установа-розробник:** Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, кафедра очних хвороб, м.Вінниця, вул.Пирогова, 56, 21000, Україна.

Розроблювач: Веретельник Світлана Петрівна.

Джерела інформації: Malachkova, N. V., Veretelnyk, S. P., & Slobodian, P. P. (2018). Effect of TXNRD2 rs35934224, FOXC1 rs2745599 and rs984253 genetic polymorphisms combinations on the development of primary open-angle glaucoma and their degree of association with the disease. *Biomedical and Biosocial Anthropology*, (33), 12-17.

**Базова установа, яка проводить впровадження:** Вінницький національний медичний університет ім.М.І. Пирогова, кафедра медичної біології.

3. **Результати застосування** пропозиції за період з вересня по травень 2019 р. Матеріали використовуються в навчальному процесі кафедри медичної біології на практичних заняттях.

4. **Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації (п. 3):** Використання результатів наукових досліджень у навчальному процесі дозволяє розширити знання студентів та лікарів-офтальмологів щодо оптимізації діагностики та прогнозування розвитку первинної відкритокутової глаукоми

5. **Зауваження, пропозиції:** не вносилися.

6. **Затверджено** на засіданні кафедри 28.09. 2019 р (протокол № 1)

Завідувач кафедри очних хвороб  
Вінницького національного  
медичного університету ім. М.І. Пирогова,  
кандидат медичних наук,  
доцент

Малачкова Н. В.

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Перший проректор  
 Національної медичної академії  
 післядипломної освіти імені П. Л. Шупика  
 член-кореспондент НАМН України  
 доктор медичних наук  
 проф. Ю. П. Вдовиченко



« 23 » 09 2019 р.

### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

**Пропозиція для впровадження:** Використання молекулярно-генетичних досліджень для оптимізації діагностики та прогнозування розвитку первинної відкритокутової глаукоми.

**Установа-розробник, автор:** Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56, 21000, кафедра очних хвороб (завідувач к.мед.н., доцент Малачкова Н.В.), автор - Веретельник Світлана Петрівна.

**Джерело інформації:** Малачкова Н. В. Зв'язок поліморфізму rs35934224 гена TXNRD2 з первинною відкритокутовою глаукомою / Н. В. Малачкова, С. П. Веретельник. // Архів офтальмології України. – 2018. – №6. – С. 19–23.

Malachkova N. V. FOXC1 variant in primary open-angle glaucoma patients / N. V. Malachkova, S. P. Veretelnuk. // East European Scientific Journal. – 2019. – №4. – С. 7–11.

**Базова установа, яка проводить впровадження:** Національна медична академія післядипломної освіти імені П.Л. Шупика, кафедра офтальмології.

**Форми впровадження:** матеріали використовуються в навчальному процесі кафедри офтальмології на післятестатійних циклах, в лікувально-діагностичній роботі.

**Термін впровадження:** з 2019 навчального року.

**Зауваження та пропозиції:** не вносилися.

Завідувач кафедри офтальмології  
 Національної медичної академії  
 післядипломної освіти імені П.Л. Шупика,  
 доктор медичних наук, професор

С. О. Риков



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з наукової роботи  
Вінницького національного медичного  
університету ім. М.І. Пирогова

проф. О.В. Власенко

«30» 09 2019 р.

**АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ**

1. **Пропозиція для впровадження:** Використання молекулярно-генетичного методу для оптимізації діагностики та прогнозування розвитку первинної відкритокутової глаукоми

2. **Установа-розробник:** Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, кафедра очних хвороб, м.Вінниця, вул.Пирогова, 56, 21000, Україна.

Розроблювач: Веретельник Світлана Петрівна.

Джерела інформації: Malachkova, N. V., Veretelnyk, S. P., & Slobodian, P. P. (2018). Effect of TXNRD2 rs35934224, FOXC1 rs2745599 and rs984253 genetic polymorphisms combinations on the development of primary open-angle glaucoma and their degree of association with the disease. *Biomedical and Biosocial Anthropology*, (33), 12-17.

**Базова установа, яка проводить впровадження:** Вінницький національний медичний університет ім.М.І. Пирогова, кафедра медичної біології.

3. **Результати застосування** пропозиції за період з вересня по травень 2019 р. Матеріали використовуються в навчальному процесі кафедри медичної біології на практичних заняттях.

4. **Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації (п. 3):** Використання результатів наукових досліджень у навчальному процесі дозволяє розширити знання студентів щодо значення генів *TXNRD2* та *FOXC1*.

5. **Зауваження, пропозиції:** не вносилися.

6. **Затверджено** на засіданні кафедри 29.08. 2019 р (протокол №1)

Завідувач кафедри медичної біології  
Вінницького національного  
медичного університету ім. М.І. Пирогова,  
кандидат біологічних наук,  
старший науковий співробітник

Шкарупа В. М.



**Список публікацій та апробацій здобувача за темою дисертації**

1. Малачкова Н. В. Зв'язок поліморфізму *rs35934224* гена *TXNRD2* з первинною відкритокутовою глаукомою / Н. В. Малачкова, С. П. Веретельник. // Архів офтальмології України. – 2018. – Т. 6, №3. – С. 19–23. (Здобувач виконав набір матеріалу, статистичну обробку отриманих даних, приймав участь в аналізі результатів і формулюванні висновків).
2. Malachkova N. V. Effect of *TXNRD2 rs35934224*, *FOXC1 rs2745599* and *rs984253* genetic polymorphisms combinations on the development of primary open-angle glaucoma and their degree of association with the disease / N. V. Malachkova, S. P. Veretelnyk, P. P. Slobodian. // Biomedical and Biosocial Anthropology. – 2018. – №33. – P. 12–17. (Здобувач виконав набір матеріалу, статистичну обробку отриманих даних, приймав участь в аналізі результатів і формулюванні висновків).
3. Malachkova N. V. *FOXC1* variant in primary open-angle glaucoma patients / N. V. Malachkova, S. P. Veretelnyk. // East European Scientific Journal. – 2019. – Vol. 6.#4(44). – P. 7–11. (Здобувач виконав набір матеріалу, статистичну обробку отриманих даних, приймав участь в аналізі результатів і формулюванні висновків).
4. Malachkova N. V. Distribution of genotypes and alleles and association with *FOXC1 rs2745599* genetic polymorphism with primary open-angle glaucoma / N. V. Malachkova, S. P. Veretelnyk, S. V. Ziablitsev. // Ophthalmology. Eastern Europe. – 2019. – Т. 9, №1. – С. 40–50. (Здобувач виконав набір матеріалу, статистичну обробку отриманих даних, приймав участь в аналізі результатів і формулюванні висновків).
5. Малачкова Н. В. Зв'язок поліморфізму *rs35934224* гена *TXNRD2* з ПВКГ / Н. В. Малачкова, С. П. Веретельник. // Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю «Рефракційний пленер`18» (18-19 жовтня

2018 р.,м.Київ).- Київ: ГО «Асоціація дитячих офтальмологів та оптометристів України», 2018. – С. 47–48. *(Здобувачу належить аналіз даних літератури, статистична обробка та описання одержаних даних. Форма участі: публікація тез, стендова доповідь).*

6. Малачкова Н. В. Ступінь асоціації сполучень генотипів поліморфізмів *rs2745599* і *rs984253* гена *FOXC1* та *rs35934224* гена *TXNRD2* з первинною відкритокутовою глаукомою та їх вплив на розвиток захворювання / Н. В. Малачкова, С. П. Веретельник. // . Матеріали науково-практичної конференції «Глаукома+, 2019» (10-11 квітня 2019 р.,м.Київ).- Київ: ГО «Асоціація дитячих офтальмологів та оптометристів України», 2019. – С. 54–55.*(Здобувачу належить аналіз даних літератури, статистична обробка та описання одержаних даних. Форма участі: публікація тез, усна доповідь).*

7. Malachkova N. V. Association of *TXNRD2* gene with primary open-angle glaucoma. / N. V. Malachkova, S. P. Veretelnyk. // Abstracts of III International Scientific and Practical Conference (27-29 листопад 2019р., Осака, Японія). – 2019. – С. 678–680. *(Здобувачу належить аналіз даних літератури, статистична обробка та описання одержаних даних. Форма участі: публікація тез).*