



DOI: 10.18413/2658-6533-2020-6-2-0-4

УДК 575

# Репликативное исследование ассоциаций полиморфных локусов генов *LOXL1* и *CDKN2B-AS1* с развитием первичной открытоугольной глаукомы у мужчин Центрального Черноземья РФ

Н.В. Елисеева

Областное государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Белгородская областная клиническая больница Святителя Иоасафа», ул. Некрасова, д. 8/9, г. Белгород, 308007, Российская Федерация

Автор для переписки: Н.В. Елисеева ([eliseevanb78@mail.ru](mailto:eliseevanb78@mail.ru))

## Резюме

**Актуальность:** Изучение генетических основ первичной открытоугольной глаукомы (ПОУГ) является актуальной задачей в связи с тем, что глаукома является главной причиной слабовидения и слепоты среди лиц трудоспособного возраста. Проведенные в последнее десятилетие полногеномные исследования (GWAS) первичной открытоугольной глаукомы выявили более 150 генов-кандидатов, ассоциированных с развитием глаукомы. При этом большое значение имеют репликативные исследования GWAS-значимых локусов для ПОУГ в различных этнотерриториальных группах. **Цель исследования:** Провести репликативное исследование ассоциации GWAS-значимых полиморфных локусов генов *LOXL1* и *CDKN2B-AS1* с развитием первичной открытоугольной глаукомы у мужчин Центрального Черноземья РФ. **Материалы и методы:** Работа выполнена в дизайне «больные-контроль». В исследование включены 246 мужчин больные ПОУГ и 176 человек контрольной группы. Материалом для молекулярно-генетического исследования послужила ДНК, выделенная из венозной крови исследуемых индивидуумов стандартным методом фенольно-хлороформной экстракции. Для исследования были отобраны GWAS значимые для ПОУГ полиморфные локусы генов *CDKN2B-AS1* (rs7865618, rs2157719, rs1063192, rs944800, rs4977756) и *LOXL1* (rs893818, rs4886776). Генотипирование проведено с помощью полимеразной цепной реакции синтеза ДНК методом дискриминации аллелей. **Результаты:** Установлено, что полиморфные локусы rs893818 *LOXL1* и rs4886776 *LOXL1* ассоциированы с развитием первичной открытоугольной глаукомы у мужчин: факторами риска развития ПОУГ являются генотипы GG rs893818 *LOXL1* (OR=1,62, p=0,025) и GG rs4886776 *LOXL1* (OR=1,59, p=0,030). Аллели А этих полиморфных локусов имеют профилактическое значение при формировании заболевания (OR=0,59, p=0,003 для rs893818 и OR=0,63, p=0,009 для rs4886776). **Заключение:** Полиморфные ло-

кусы гена *LOXL1* – rs893818 и rs4886776 ассоциированы с развитием первичной открытоугольной глаукомы у мужчин Центрального Черноземья РФ.

**Ключевые слова:** первичная открытоугольная глаукома; ассоциации; *LOXL1*; полиморфизм

**Для цитирования:** Елисеева НВ. Репликативное исследование ассоциаций полиморфных локусов генов *LOXL1* и *CDKN2B-AS1c* развитием первичной открытоугольной глаукомы у мужчин Центрального Черноземья РФ. Научные результаты биомедицинских исследований. 2020;6(2):198-208. DOI: 10.18413/2658-6533-2020-6-2-0-4

# A replicative study of the associations of polymorphic loci of the *LOXL1* and *CDKN2B-AS1* genes with the development of primary open-angle glaucoma in men of the Central Black Earth Region of the Russian Federation

Natalya V. Eliseeva 

St. Joasaph Belgorod Regional Clinical Hospital,  
8/9 Nekrasov St., Belgorod, 308007, Russia

Corresponding author: Natalya V. Eliseeva (eliseevanb78@mail.ru)

## Abstract

**Background:** Studying the genetic foundations of primary open-angle glaucoma (POAG) is an urgent task due to the fact that glaucoma is the main cause of low vision and blindness among people of working age. Over the past decade, full-genomic studies (GWAS) of primary open-angle glaucoma have revealed more than 150 candidate genes associated with the development of glaucoma. At the same time, replicative studies of GWAS-significant loci for POAG in various ethno-territorial groups are of great importance. **The aim of the study:** To conduct a replicative study of the association of GWAS-significant polymorphic loci of the *LOXL1* and *CDKN2B-AS1* genes with the development of primary open-angle glaucoma in men of the Central Black Earth Region of the Russian Federation.

**Materials and methods:** The work was performed in the design of "patients-control." The study included 246 men with POAG and 176 people in the control group. The material for molecular genetics research was DNA isolated from the venous blood of the studied individuals using the standard method of phenol-chloroform extraction. GWAS polymorphic loci of the *CDKN2B-AS1* genes (rs7865618, rs2157719, rs1063192, rs944800, rs4977756) and *LOXL1* (rs893818, rs4886776) that were significant for POAG were selected for the study. Genotyping was carried out using the polymerase chain reaction of DNA synthesis by al-

lele discrimination. **Results:** The polymorphic loci rs893818 *LOXL1* and rs4886776 *LOXL1* were found to be associated with the development of primary open-angle glaucoma in men: the risk factors for POAG are the genotypes GG rs893818 *LOXL1* ( $OR = 1,62$ ;  $p = 0,025$ ) and GG rs4886776 *LOXL1* ( $OR = 1,59$ ;  $p = 0,030$ ). Alleles A of these polymorphic loci are of protective importance in the formation of the disease ( $OR = 0,59$ ;  $p = 0,003$  for rs893818 and  $OR = 0,63$ ;  $p = 0,009$  for rs4886776). **Conclusion:** Polymorphic loci of the *LOXL1* gene – rs893818 and rs4886776 are associated with the development of primary open-angle glaucoma in men of the Central Black Earth Region of the Russian Federation.

**Keywords:** primary open-angle glaucoma; associations; *LOXL1*; polymorphism

**For citation:** Eliseeva NV. A replicative study of the associations of polymorphic loci of the *LOXL1* and *CDKN2B-AS1* genes with the development of primary open-angle glaucoma in men of the Central Black Earth Region of the Russian Federation. Research Results in Biomedicine. 2020;6(2):198-208. Russian. DOI: 10.18413/2658-6533-2020-6-2-0-4

**Введение.** Первичная открытоугольная глаукома (ПОУГ) представляет собой хроническую невропатию зрительного нерва с необратимой потерей поля зрения и прогрессирующим повреждением зрительного нерва. Глаукома является одной из основных причин слепоты в офтальмологии [1, 2]. В 2015 году ПОУГ затронула 57,5 миллионов человек во всем мире и 7,8 миллионов человек в Европе. Общая распространенность ПОУГ в Европе составляет 2%, в мире – 2,2% [3]. В России страдает глаукомой более 1 миллиона человек. Среди клинических форм болезни наибольшее значение имеет первичная открытоугольная глаукома, которая составляет 70% в структуре всех глаукомных поражений глаз [3].

Первичная открытоугольная глаукома может возникнуть, как у мужчин, так и у женщин [1, 4, 5]. Большинство авторов отмечают больший риск заболеваемости открытоугольной глаукомой у мужчин, чем у женщин. Закрытоугольной глаукомой, чаще заболевают женщины, из-за особенности нарушение оттока жидкости, чаще двустороннее поражение глаз, и чаще бессимптомно, данная патология у мужчин встречается редко. Вероятность заболевания ПОУГ увеличивается у мужского населения с возрастом, и особенно в районах, с активно развивающей промышлен-

ностью [2]. Причинами является занятость мужчин в тяжелых производствах, раннее старение организма, большая степень подверженности к стрессу, травмы орбиты, вредные привычки (курение и др.). По данным некоторых авторов также у мужчин чаще, отмечается развитие хронических заболеваний (гипертоническая болезнь, ишемическая болезнь сердца и атеросклеротическая болезнь) которые являются факторами риска глаукомы [2, 4, 5].

Генетические основы ПОУГ на основе полногеномного поиска ассоциаций, активно изучаются различными научными коллективами. За период с 2007 года по настоящее время выполнено 20 полногеномных исследований ПОУГ, в результате которых установлено более 150 GWAS – значимых полиморфных локусов, ассоциированных с риском развития первичной открытоугольной глаукомы [6-10]. Наибольшее количество полногеномных исследований ПОУГ проведено на жителях Японии. Результаты проведенных GWAS-исследований свидетельствуют о наиболее важной роли в развитии ПОУГ полиморфизма генов *CDKN2-AS1*, *SALRNA1*, *CAV1/CAV2*, *TMCO1*, *COL11A1*, *PDE7B*, *PCMTD1*, *LOC10537677 / LMX1B*, *PLEKNA7*, *GAS7* [10, 11]. Полиморфные локусы этих генов показали значимые ассоциации с развитием ПОУГ на полноге-

номном уровне в 2-х и более исследований. Наибольшее количество GWAS-значимых ассоциаций с формированием ПОУГ продемонстрировали полиморфные локусы rs4977756 гена *CDKN2-AS1* и rs10483727 гена *SALRNA1* (каждый в 5 GWAS исследованиях) [6-10]. Следует отметить разнородный характер ассоциаций полиморфных локусов ряда генов (например, *LOXL1*, *SALRNA1* и др.) с развитием ПОУГ в популяциях различного этнического состава. Так, если в японской популяции полиморфизм гена *LOXL1* (rs4886776 и др.) повышает риск развития ПОУГ, то в европеоидных популяциях он имеет протективное значение для формирования ПОУГ [12]. Аналогично, полиморфизм rs10483727 гена *SALRNA1* является фактором риска развития ПОУГ в японской, американской, австралийско-новозеландской популяции и служит протективным фактором формирования заболевания среди европейского населения [10]. Так же обращает на себя внимание факт того, что среди более 150 GWAS-значимых полиморфных локусов для ПОУГ лишь небольшая часть из них реплицирована в других популяциях на полногеномном уровне. В Российской Федерации генетические исследования глаукомы немногочисленны [13, 14, 15], а GWAS-значимые полиморфизмы ПОУГ до настоящего времени не реплицированы.

**Цель исследования.** Провести репликативное исследование ассоциации GWAS-значимых полиморфных локусов генов *LOXL1* и *GDKN2B-AS1* с развитием первичной открытоугольной глаукомы у мужчин Центрального Черноземья РФ.

**Материалы и методы исследования.** Объектом исследования послужила выборка из 246 мужчин больных ПОУГ и 176 мужчин контрольной группы. Сроки наблюдения составили от 6 до 12 месяцев. Обследование проводилось в офтальмологическом отделении ОГБУЗ Белгородская областная клиническая больница Святителя Иоасафа. Выборка формировалась в соответствии с критериями включения и исключения. Исследуемые группы были

сформированы из индивидуумов русской национальности, являющихся уроженцами Центрального Черноземья РФ и не имеющими родства между собой. Критерием исключения из группы больных было родство с лицами,ключенными в исследование, отказ от исследования. В группу больных включались пациенты с ранее установленным или впервые выявленным диагнозом ПОУГ, подтвержденного клиническими, инструментальными и лабораторными методами обследования. Диагноз глаукома устанавливался по основным диагностическим критериям: повышенное ВГД, наличие глаукоматозной экскавации ДЗН, характерные изменения поля зрения (ППЗ) [16]. Обследование проводили в отделении микрохирургии глаза ОГБУЗ Белгородской областной клинической больницы Святителя Иоасафа. Группа контроля была сформирована из индивидуумов проходивших профилактические осмотры в поликлинике областной клинической больницы Святителя Иоасафа г. Белгорода. Индивидуумы контрольной группы не имели острых и хронических заболеваний глаз, у них отсутствовали признаки глаукомы, а также не было тяжелой соматической патологии, в том числе приводящей к поражению глаз. Все пациенты включались в исследование после подписания информированного согласия на использование полученных данных для научно-исследовательских целей. Протокол исследования одобрен этическим комитетом медицинского факультета Белгородского государственного национального исследовательского университета.

Материалом для исследования послужила венозная кровь, взятая из локтевой вены пробанда в объеме 5мл. Геномную ДНК из периферической крови выделяли фенольно-хлороформным методом [17]. Для молекуларно-генетического исследования были отобраны полиморфные локусы, показавшие свою ассоциацию с ПОУГ в ранее проведенных полногеномных исследованиях [7, 18]. В исследование были включены семь полиморфных локусов генов *LOXL1* (rs4886776, rs893818), и *CDKN2B-AS1*(rs7865618, rs2157719, rs1063192, rs944800, rs4977756)

Генотипирование полиморфных локусов проводили методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) синтеза ДНК на амплификаторе CFX96 Real-Time System (Bio-Rad) методом Tag-Man зондов с использованием наборов для амплификации ДНК с соответствующими олигонуклеотидными праймерами и зондами, синтезированными ООО «Тест-Ген» (Ульяновск). Анализ ассоциации проводился с помощью таблиц сопряженности, силу ассоциации оценивали показателем отношения шансов (OR) с 95% доверительным интервалом (95%CI) [19].

Функциональное значение полиморфных локусов, ассоциированных с ПОУГ, изучалось с использованием программы HaploReg (v4.1) (<http://archive.broadinstitute.org/mammals/haplorege/haploreg.php>) по методике указанной в работе [20]. Связь ПОУГ-ассоциированных полиморфных локусов с экспрессией генов (cis-eQTL) изучалась на основе материалов проекта Genotype-Tissue Expression (GTEx) (<http://www.gtexportal.org/>) ( $p < 8 \times 10^{-5}$ ,  $p_{FDR} \leq 0,05$ ). Анализ ассоциаций аллельных вариантов рассматриваемых полиморфных локусов с уровнем транскрипции генов проводилось по методике, представленной в работе [20].

**Результаты и их обсуждение.** Распределение генотипов по исследуемым полиморфным локусам гена *LOXL1* – rs4886776, rs893818, и гена *GDKN2B-AS1* – rs7865618, rs2157719, rs1063192, rs944800, rs4977756 среди мужчин больных первичной открытоугольной глаукомой и в контрольной группе соответствует теоретически ожидаемому при равновесии Харди-Вайнберга ( $p > 0,05$ ). Результаты сравнительного изучения частот аллелей и генотипов полиморфных локусов гена *LOXL1* и *GDKN2B-AS1* у больных и в контроле приведены в таблице.

Установлено, что среди больных ПОУГ частота генотипа GG полиморфизма rs893818 достоверно выше (в 1,2 раза) по сравнению с контрольной группой ( $p=0,025$ ) таким образом, генотип GG rs893818 является фактором риска развития заболевания (OR=1,62). Наряду с этим, генотип AA rs893818 и аллель A rs893818 имеют протективное значение в развитии заболевания

(OR=0,29 и OR=0,59 соответственно).

Выявлено, что среди больных ПОУГ частота генотипа GG полиморфизма rs4886776 достоверно выше (в 1,19 раза) по сравнению с контрольной группой ( $p=0,03$ ). Генотип GG rs4886776 гена *LOXL1* является фактором риска развития заболевания (OR=1,59), а аллель A rs4886776 (OR=0,63) оказывает протективное влияние на формирование первичной открытоугольной глаукомы.

При изучении функциональной роли GWAS-значимых полиморфных локусов ПОУГ, ассоциированных с развитием заболевания у мужчин Центрального Черноземья РФ, проведенного с использованием программы HaploReg (v4.1) установлено, что полиморфизм rs893818 гена *LOXL1*, расположенный в инtronе этого гена, находится в эволюционно консервативном регионе ДНК (по данным GERP cons и Siphy cons), локализован в регионе модифицированных гистонов маркирующих энхансеры (H3K4me1, H3K9ac) в более чем 40 тканях, органах и культурах клеток (в том числе H1 и H9 Derived Neuronal Progenitor Cultured Cells, H9.

Derived Neuron Cultured Cells, hESC Derived CD56+ Mesoderm Cultured Cells, hESC Derived CD56+ Ectoderm Cultured Cells, hESC Derived CD184+ Endoderm Cultured Cells, Brain Anterior Caudate, Brain Substantia Nigra и др.), расположен в области гиперчувствительности к ДНКазе1. Полиморфизм rs4886776, который ассоциирован с развитием ПОУГ у мужчин, находится на расстоянии 4,2 kb от полиморфного локуса rs893818 в инtronе гена *LOXL1*, сильно сцеплен с ним ( $r^2=0,99$ ,  $D'=0,99$ ) и также имеет значимый регуляторный потенциал. Он расположен в регионе гиперчувствительности к ДНКазе1, находится в области модифицированных гистонов, маркирующих промоторы (H3K4me3, H3K27ac) и энхансеры (H3K4me1, H3K9ac) в более чем 20 различных тканях, органах и культурах клеток (H1 и H9 Derived Neuronal Progenitor Cultured Cells, hESC Derived CD56+ Mesoderm Cultured Cells, H1 Derived Mesenchymal Stem Cells и др.).

Таблица

Анализ распределения полиморфных маркеров генов – кандидатов *CDKN2B-AS* и *LOXL1* у мужчин больных ПОУГ и контрольной группы

Table

Analysis of the distribution of polymorphic gene markers – candidates *CDKN2B-AS* and *LOXL1* in men with POAG and the control group

Полиморфный локус	Генотип/ аллель показатель	Больные ПОУГ (n=246)	Группа контроля (n=176)	OR (95% CI) χ <sup>2</sup> , p
<i>rs944800</i> <i>CDKN2B-AS1</i>	GG	98 (40,66%)	80 (45,45%)	0,82 (0,55-1,24) χ <sup>2</sup> = 0,77; p=0,38
	GA	111 (46,06%)	74 (42,05%)	0,92 (0,63-1,35) χ <sup>2</sup> = 0,13; p=0,72
	AA	32 (13,28%)	22 (12,50%)	1,07 (0,58-1,99) χ <sup>2</sup> = 0,01; p=0,93
	Аллель А	175 (36,31%)	118 (33,52%)	1,13 (0,84-1,53) χ <sup>2</sup> = 0,58; p=0,45
	H <sub>o</sub> /H <sub>e</sub> (p)	0,46/0,46 (>0,05)	0,42/0,45 (>0,05)	
<i>rs4977756</i> <i>CDKN2B-AS1</i>	AA	75 (30,99%)	68 (39,08%)	0,70 (0,46-1,08) χ <sup>2</sup> =2,59; p=0,11
	AG	128 (52,89%)	83 (47,70%)	1,13 (0,77-1,66) χ <sup>2</sup> =0,33; p=0,56
	GG	39 (16,12%)	23 (13,22%)	1,26 (0,70-2,29) χ <sup>2</sup> =0,46; p=0,50
	Аллель G	206 (42,56%)	129 (37,07%)	1,26 (0,94-1,69) χ <sup>2</sup> = 2,31; p=0,13
	H <sub>o</sub> /H <sub>e</sub> (p)	0,53/0,49 (>0,05)	0,48/0,47 (>0,05)	
<i>rs7865618</i> <i>CDKN2B-AS1</i>	AA	80 (32,65%)	64 (36,57%)	0,84 (0,55-1,29) χ <sup>2</sup> = 0,53; p=0,47
	AG	123 (50,20%)	85 (48,57%)	1,07 (0,71-1,60) χ <sup>2</sup> = 0,05; p=0,82
	GG	42 (17,14%)	26 (14,86%)	1,18 (0,68-2,09) χ <sup>2</sup> = 0,24; p=0,62
	Аллель G	207 (42,24%)	136 (39,14%)	1,15 (0,86-1,54) χ <sup>2</sup> = 0,83; p=0,36
	H <sub>o</sub> /H <sub>e</sub> (p)	0,50/0,49 (>0,05)	0,49/0,48 (>0,05)	
<i>rs2157719</i> <i>CDKN2B-AS1</i>	AA	92 (37,55%)	85 (48,85%)	0,82 (0,50-1,35) χ <sup>2</sup> = 0,48; p=0,49
	AG	113 (46,12%)	67 (38,51%)	0,89 (0,60-1,35) χ <sup>2</sup> = 0,20; p=0,65
	GG	40 (16,33%)	22 (12,64%)	1,35 (0,74-2,46) χ <sup>2</sup> = 0,82; p=0,37
	Аллель G	193 (39,39%)	129 (37,07%)	1,10 (0,82-1,48) χ <sup>2</sup> = 0,37; p=0,54
	H <sub>o</sub> /H <sub>e</sub> (p)	0,46/0,48 (>0,05)	0,49/0,47 (>0,05)	
<i>rs1063192</i> <i>CDKN2B-AS1</i>	AA	79 (32,51%)	62 (35,84%)	0,86 (0,56-1,33) χ <sup>2</sup> =0,36; p=0,55
	AG	122 (50,21%)	83 (47,98%)	1,09 (0,73-1,65) χ <sup>2</sup> =0,12; p=0,73
	GG	42 (17,28%)	28 (16,18%)	1,08 (0,62-1,89) χ <sup>2</sup> =0,03; p=0,87
	Аллель G	206 (42,39%)	139(40,17%)	1,10 (0,82-1,47) χ <sup>2</sup> = 0,32; p=0,57
	H <sub>o</sub> /H <sub>e</sub> (p)	0,50/0,49 (>0,05)	0,48/0,48 (>0,05)	
<i>rs893818</i> <i>LOXL1</i>	GG	163 (67,63%)	98 (56,32%)	<b>1,62 (1,06-2,47) χ<sup>2</sup> =5,07; p=0,025</b>
	GA	71 (29,46%)	60 (34,48%)	0,79(0,51-1,23) χ <sup>2</sup> =0,96; p=0,32
	AA	7 (2,91%)	16 (9,20%)	<b>0,29(0,11-0,78) χ<sup>2</sup> =6,48; p=0,01</b>
	Аллель А	85 (17,63%)	92 (26,44%)	<b>0,59 (0,42-0,84) χ<sup>2</sup> =8,81; p=0,003</b>
	H <sub>o</sub> /H <sub>e</sub> (p)	0,29/0,29 (>0,05)	0,37/0,38 (>0,05)	
<i>rs4886776</i> <i>LOXL1</i>	GG	162 (67,50%)	99 (56,57%)	<b>1,59 (1,04-2,43) χ<sup>2</sup> =4,72; p=0,03</b>
	GA	70 (29,17%)	62 (35,438%)	0,75(0,48-1,16) χ <sup>2</sup> =1,55; p=0,21
	AA	8 (3,33%)	14 (8,00%)	0,39(0,14-0,03) χ <sup>2</sup> =3,51; p=0,06
	Аллель А	86 (17,92%)	90 (25,71%)	<b>0,63 (0,44-0,89) χ<sup>2</sup> =6,91; p=0,009</b>
	H <sub>o</sub> /H <sub>e</sub> (p)	0,29/0,29 (>0,05)	0,35/0,38 (>0,05)	

Примечание: H<sub>o</sub> – наблюдаемая гетерозиготность; H<sub>e</sub> – ожидаемая гетерозиготность.Note: H<sub>o</sub> – observed heterozygosity; H<sub>e</sub> – expected heterozygosity.

Также полиморфизм rs4886776 локализован в регионе регуляторных мотивов ДНК, определяющих взаимодействие с факторами транскрипции GR и Hand1. При этом, аллель A, имеющий протективное значение для формирования ПОУГ в исследуемой нами выборке мужчин, повышает афинность к обоим рассматриваемым факторам транскрипции (различия между LOD коэффициентами альтернативного и референсного аллелей для фактора транскрипции GR составляют 1,6, а для фактора транскрипции Hand1 – 11,9).

Согласно материалов, полученных в проекте Genotype-Tissue Expression (GTEx) (<http://www.gtexportal.org/>), полиморфные локусы rs893818 и rs4886776 гена *LOXL1* имеют важное eQTL значение – они ассоциированы с уровнем экспрессии генов *LOXL1*, *LOXL1-AS1*, *RP11-24D15.1* в раз-

личных органах и тканях организма. На рисунке представлены данные о связи полиморфных локусов rs893818 и rs4886776 гена *LOXL1* с транскрипционной активностью гена *LOXL1-AS1* в крови. Обращает на себя внимание факт того, что генотипы GG по этим полиморфизмам, являющиеся согласно нашим данным факторами риска развития ПОУГ у мужчин (OR=1,59-1,62), связаны с низкой экспрессией гена *LOXL1-AS1* в крови (рисунок), тогда как аллели A полиморфизма rs893818 и rs4886776 гена *LOXL1* (по нашим данным ассоциированы с низким риском развития ПОУГ у мужчин OR=0,59-0,63) определяют повышенную экспрессию гена *LOXL1-AS1* в крови:  $\beta=0,21$ ,  $p=5,6 \cdot 10^{-7}$ ,  $pFDR \leq 0,05$  для полиморфизма rs893818 и  $\beta=0,21$ ,  $p=7,4 \cdot 10^{-7}$ ,  $pFDR \leq 0,05$  для полиморфизма rs4886776.

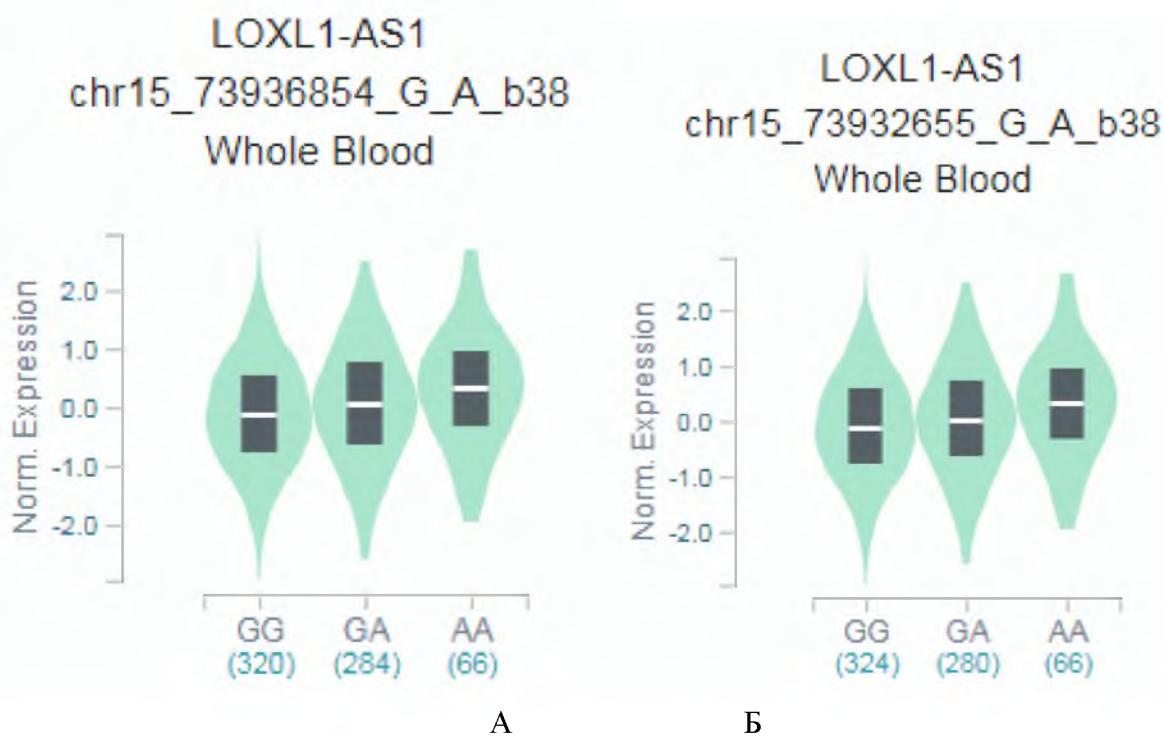


Рис. Ассоциации полиморфных локусов rs893818 (А) и rs4886776 (Б) гена *LOXL1* с уровнем экспрессии гена *LOXL1-AS1* в крови (<http://www.gtexportal.org/>)  
Fig. Associations of polymorphic loci rs893818 (A) and rs4886776 (Б) of the *LOXL1* gene with the level of expression of the *LOXL1-AS1* gene in the blood (<http://www.gtexportal.org/>)

Таким образом, согласно нашим данным, полиморфные локусы rs893818 и rs4886776 гена *LOXL1*, ассоциированные с

развитием ПОУГ у мужчин Центрального Черноземья РФ, имеют важное функциональное значение в организме. Полимор-

физм rs893818 – находится в эволюционно консервативном регионе ДНК, локализован в регионе модифицированных гистонов, маркирующих энхансеры, в более чем 40 тканях, органах и культурах клеток, связан с экспрессией генов *LOXL1*, *LOXL1-AS1*, *RP11-24D15.1*, а полиморфизм rs4886776 расположен в регионе гиперчувствительности к ДНКазе-1, находится в области модифицированных гистонов, маркирующих промоторы и энхансеры в более чем 20 различных тканях, органах и культурах клеток, локализован в регионе регуляторных мотивов ДНК в двум факторам транскрипции (GR и Hand1). При этом, следует отметить, что генетические варианты этих полиморфных локусов (аллели А), определяющие пониженный риск развития ПОУГ у мужчин (OR=0,59-0,63), связаны с высокой экспрессией гена *LOXL1-AS1* в крови и повышают аффинность ДНК к факторам транскрипции GR и Hand1 (аллель А rs4886776).

Согласно данным литературы ген *LOXL1* (*лизолоксидаза пободная 1*) кодирует белковый продукт, который необходим для образования и метаболизма эластических волокон и основных компонентов фибриллярных агрегатов. Он является ключевым в метаболизме внеклеточного матрикса и имеет важное значение на начальных стадиях аномального фиброгенеза в тканях. Повышение экспрессии гена *LOXL1* и соответственно увеличение продукции компонентов эластических волокон способствует образованию аномально сшитых агрегатов в путях оттока внутриглазной жидкости, что приводит к нарушению оттока жидкости из глаза и повышению внутриглазного давлению [21].

Ассоциации полиморфизма гена *LOXL1* с первичной открытоугольной глаукомой были обнаружены в 2007 году Thorleifsson G. et al., при этом с заболеванием был связан полиморфный локус rs3825942 (для аллеля G OR=20,1; 95%CI 10,8-37,41, P=3\*10<sup>-21</sup>) [12].

Связь исследуемого нами полиморфизма rs893818 гена *LOXL1* с ПОУГ на полногеномном уровне впервые была

установлена Nakato M. et al. в 2014 году на выборке из азиатской популяции (изучалось население Японии) [22]. Выборка включала 201 пациента с ПОУГ и 697 человек контрольной группы. Фактором риска развития ПОУГ у жителей Японии являлся аллель А rs893818 (OR=20,94, p=3\*10<sup>-84</sup>), тогда как согласно наших данных для населения России (европеоидная популяция) фактором риска развития ПОУГ служит генотип GG rs893818 *LOXL1* (OR=1,62), а аллель А этого полиморфизма имеет протективное значение при формировании заболевания (OR=0,59). Вовлеченность другого изученного нами полиморфизма гена *LOXL1* (rs4886776) в формирование ПОУГ впервые была показана в работе Aung T. et al. (2015) [23]. При этом следует отметить, что в данной работе был выявлен разнонаправленный характер ассоциации полиморфизма rs4886776 гена *LOXL1* с развитием ПОУГ в изученных популяциях разного этнического состава: аллель А полиморфизма rs4886776 гена *LOXL1* повышает риск развития заболевания в японской популяции (OR=9,87; 95%CI 7,1-15,3, P=2,35\*10<sup>-217</sup>) и является протективным фактором для ПОУГ в других популяциях (в том числе и европеоидных) (OR=0,49, P=2,35\*10<sup>-317</sup>). Эти данные полностью согласуются с полученными нами результатами – в изученной нами популяции России (европеоидная популяция) фактором риска развития ПОУГ у мужчин является генотип GG rs4886776 гена *LOXL1* (OR=1,59), а аллель А данного полиморфизма снижает риск формирования заболевания (OR=0,63).

**Заключение.** В результате проведенного исследования установлена вовлеченность GWAS-значимых полиморфных локусов гена *LOXL1* (rs4886776, rs893818) в формирование первичной открытоугольной глаукомы у мужчин Центрального Черноземья РФ. Генетическими факторами риска развития ПОУГ у мужчин являются генотипы GG rs893818 *LOXL1* (OR=1,62) и GG rs4886776 *LOXL1* (OR=1,59), а аллели А этих полиморфных локусов имеют протективное значение при формировании за-

болевания (OR=0,59 для rs893818 и OR=0,63 для rs4886776).

## Информация о финансировании

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Президента Российской Федерации для ведущих научных школ Российской Федерации (проект НШ-2609.2020.7).

## Financial support

This work was financially supported by a grant from the President of the Russian Federation for leading scientific schools of the Russian Federation (project НШ-2609.2020.7).

## Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## Conflict of interests

The authors have no conflict of interest to declare.

## Список литературы

1. Kapetanaris VV, Chan MP, Foster PJ, et al. Global variations and time trends in the prevalence of primary open -angle glaucoma (POAG): systematic review and meta -analysis. British Journal of Ophthalmology. 2016;100(1):86-93. DOI: <http://doi:10.1136/bjophthalmol-2015-307223>

2. Барбос ЮА, Чередниченко НЛ, Карпов СМ. Анализ заболеваемости глаукомой населения Ставропольского края. Национальный журнал глаукома. 2018;17(3):65-75. DOI: <https://doi: org/10.25700/NJG.2018.03.08>

3. Kreft D, Doblhammer G, Guthoff RF, et al. Prevalence, incidence and risk factors of primary open - angle glaucoma – a cohort study based on longitudinal data from a German public health in surname. BMC Public Health. 2019;19:851. DOI: <http://doi:10.1186/s12889-019-6935-6>

4. Джемилёва ЛУ, Загидуллина АШ, Лобов СЛ, и др. Молекулярно-генетические аспекты патогенеза первичной открытоугольной глаукомы. Медицинская генетика. 2013;12(8):3-14.

5. Онищенко Ал, Колбаско АВ, Жилина НМ, и др. Заболеваемость первичной глаукомой, ее гендерные особенности среди жителей крупного промышленного города Си-

бири. Офтальмология. 2014;11(4):59-67. DOI: <https://doi.org/10.18008/1816-5095-2014-4-59-67>

6. Burdon K, Macgregor S, Hewitt A, et al. Genome-wide association study identifies susceptibility loci for open-angle glaucoma at TMCO1 and CDKN2B-AS1. Nature Genetics. 2011;43(6):574-8. DOI: <http://doi.org/10.1038/ng.824>

7. Osman W, Low SK, Takahashi A, et al. A genome-wide association study in the Japanese population confirms 9p21 and 14q23 as susceptibility loci for primary open-angle glaucoma. Human Molecular Genetics. 2012;21(12):2836-42. DOI: <http://doi.org/10.1093/hmg/dds103>

8. Khor C, Do T, Jia H, et al. Genome-wide association analyses identifies five new susceptibility loci for primary angle closure glaucoma. Nature Genetics. 2016;48(5):556-62. DOI: <http://doi.org/10.1038/ng.3540>

9. Springelkamp H, Iglesias AI, Mishra A, et al. New insights into the genetics of primary open-angle glaucoma based on meta-analyses of intraocular pressure and optic disc characteristics. Human Molecular Genetics. 2017;26(2):438-453. DOI: <http://doi.org/10.1093/hmg/ddw399>

10. MacGregor S, Ong J, An J, et al. Genome-wide association study of intraocular pressure uncovers new pathways to glaucoma. Nature Genetics. 2018;50(8):1067-1071. DOI: <http://doi.org/10.1038/s41588-018-0176-y>

11. Shiga Y, Akiyama M, Nishiguchi KM, et al. Genome-wide association study identifies seven novel susceptibility loci open-angle glaucoma. Human Molecular Genetics. 2018;27(8):1486-1496. DOI: <http://doi.org/10.1093/hmg/ddy053>

12. Thorleifsson G, Magnusson KP, Sulem P, et al. Common sequence variants in the LOXL11 gene confer susceptibility to exfoliation glaucoma. Science. 2007;317(5843):1397-400. DOI: <http://doi.org/10.1126/science.1146554>

13. Тикунова ЕВ, Чурносов МИ. Генетические исследования при первичной открытоугольной глаукоме. Вестник офтальмологии. 2014;130(5):96-99.

14. Кириленко МЮ, Тикунова ЕВ, Сиротина СС, и др. Изучение ассоциаций генетических полиморфизмов факторов роста с развитием первичной открытоугольной глаукомы. Вестник офтальмологии. 2017;133(3): 9-15. DOI: <http://doi.org/10.17116/oftalma.2017.133.3.9-15>

15. Tikunova E, Ovtcharova V, Reshetnikov E, et al. Genes of tumor necrosis factors and their receptors and the primary open angle

glaucoma in the population of central Russia. International Journal of Ophthalmology. 2017;10(10):1490-1494. DOI: 10.18240/ijo.2017.10.02

16. Егоров ЕА, Астахова ЮС, Еричева ВП, редакторы. Национальное руководство по глаукоме: для практикующих врачей [Internet]. 3-е изд., испр. и доп. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2015 [дата обращения 18.04.2020]. URL: <https://www.rosmedlib.ru/book/ISBN9785970433140.html>

17. Ponomarenko IV, Reshetnikov EA, Altuchova OB, et al. Association of genetic polymorphisms with age at menarche in Russian women. Gene. 2019;686:228-236. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.gene.2018.11.042>

18. Nakano M, Ikeda Y, Tokuda Y, et al. Common variants in cdkn2b-asl associated with optic-nerve vulnerability of glaucoma identified by genome-wide association studies in Japanese. PLoS One. 2012;7(3):e33389. DOI: <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0033389>

19. Пономаренко ИВ, Полонников АВ, Чурносов МИ. Полиморфные локусы гена LHCGR, ассоциированные с развитием миомы матки. Акушерство и гинекология. 2018;10:86-91. DOI: <https://dx.doi.org/10.18565/aig.2018.10.86-91>

20. Пономаренко ИВ, Решетников ЕА, Полонников АВ, и др. Полиморфный локус rs314276 гена LIN28B ассоциирован с возрастом менархе у женщин Центрального Черноземья России. Акушерство и гинекология. 2019;2:98-104. DOI: <https://dx.doi.org/10.18565/aig.2019.2.98-104>

21. Schlotzer-Schrehandf U, Hammer CM, Krysta AW, et al. Molecular pathology of pseudo-exfoliation syndrome / glaucoma – new insights from LOXL1 gene associations. Ophthalmologe. 2012;109(10):944-51. DOI: <http://doi:10.1007/s00347-012-25-31-1>

22. Nakano M, Ikeda Y, Tokuda Y, et al. Novel Common variants susceptible haplotype for exfoliation glaucoma specific to Asian population. Scientific Reports. 2014;4:5340. DOI: <http://doi.org/10.1038/srep05340>

23. Aung T, Ozaki M, Mizoguchi T, et al. A common variants mapping to CACNA1A is associated with susceptibility to exfoliation syndrome. Nature Genetics. 2015;47(4):387-92. DOI: <http://doi.org/10.1038/ng.3226>

## References

1. Kapetanaris VV, Chan MP, Foster PJ, et al. Global variations and time trends in the prevalence of primary open -angle glaucoma (POAG): systematic review and meta -analysis. British Journal of Ophthalmology. 2016;100(1):86-93. DOI: <http://doi:10.1136/bjophthalmol-2015-307223>
2. Barbos YuA, Cherednichenko NL, Karпов SM. Analysis of glaucoma incidence in the Stavropol region. National Journal glaucoma. 2018;17(3):65-75. Russian. DOI: <https://doi.org/10.25700/NJG.2018.03.08>
3. Kreft D, Doblhammer G, Guthoff RF, et al. Prevalence, incidence and risk factors of primary open – angle glaucoma – a cohort study based on longitudinal data from a German public health in surname. BMC Public Health. 2019;19:851. DOI: <http://doi:10.1186/s12889-019-6935-6>
4. Dzhemileva LU, Zagidullina ASh, Lobov SL, et al. Molecular genetic aspects of primary open-angle glaucoma. Medical Genetics. 2013;12(8):3-14. Russian.
5. Onischenko AL, Kolbasko AV, Zhilina NM, et al. The incidence of primary glaucoma, its gender characteristics among residents of a large industrial city of Siberia. Ophthalmology in Russia. 2014;11(4):59-67. Russian. DOI: <https://doi.org/10.18008/1816-5095-2014-4-59-67>
6. Burdon K, Macgregor S, Hewitt A, et al. Genome-wide association study identifies susceptibility loci for open-angle glaucoma at TMCO1 and CDKN2B-AS1. Nature Genetics. 2011;43(6):574-8. DOI: <http://doi.org/10.1038/ng.824>
7. Osman W, Low SK, Takahashi A, et al. A genome-wide association study in the Japanese population confirms 9p21 and 14q23 as susceptibility loci for primary open-angle glaucoma. Human Molecular Genetics. 2012;21(12):2836-42. DOI: <http://doi.org/10.1093/hmg/ddz103>
8. Khor C, Do T, Jia H, et al. Genome-wide association analyses identifies five new susceptibility loci for primary angle closure glaucoma. Nature Genetics. 2016;48(5):556-62. DOI: <http://doi.org/10.1038/ng.3540>
9. Springelkamp H, Iglesias AI, Mishra A, et al. New insights into the genetics of primary open-angle glaucoma based on meta-analyses of intraocular pressure and optic disc characteristics. Human Molecular Genetics. 2017;26(2):438-453. DOI: <http://doi.org/10.1093/hmg/ddw399>

10. MacGregor S, Ong J, An J, et al. Genome-wide association study of intraocular pressure uncovers new pathways to glaucoma. *Nature Genetics*. 2018;50(8):1067-1071. DOI: <http://doi.org/10.1038/s41588-018-0176-y>
11. Shiga Y, Akiyama M, Nishiguchi KM, et al. Genome-wide association study identifies seven novel susceptibility loci open-angle glaucoma. *Human Molecular Genetics*. 2018;27(8):1486-1496. DOI: <http://doi.org/10.1093/hmg/ddy053>
12. Thorleifsson G, Magnusson KP, Sulem P, et al. Common sequence variants in the LOXL11 gene confer susceptibility to exfoliation glaucoma. *Science*. 2007;317(5843):1397-400. DOI: <http://doi.org/10.1126/science.1146554>
13. Tikunova EV, Churnosov MI. Genetic studies in primary open-angle glaucoma. *Vestnik oftal'mologii*. 2014;130(5):96-99. Russian.
14. Kirilenko MYu, Tikunova EB, Sirotina SS, et al. Studying the associations of genetic polymorphisms of growth factors with the development of primary open-angle glaucoma. *Vestnik oftal'mologii*. 2017;133(3):9-15. Russian. DOI: <http://doi.org/10.17116/oftalma201713339-15>
15. Tikunova E, Ovtcharova V, Reshetnikov E, et al. Genes of tumor necrosis factors and their receptors and the primary open angle glaucoma in the population of central Russia. *International Journal of Ophthalmology*. 2017;10(10):1490-1494. DOI: [10.18240/ijo.2017.10.02](https://doi.org/10.18240/ijo.2017.10.02)
16. Egorov EA, Astakhova YuS, Yericheva VP, editors. National Glaucoma Guide: for practitioners [Internet]. 3rd ed. M.: GEOTAR-Media; 2015 [cited 2020 April 18]. Russian. Available from: <https://www.rosmedlib.ru/book/ISBN9785970433140.html>
17. Ponomarenko IV, Reshetnikov EA, Altuchova OB, et al. Association of genetic polymorphisms with age at menarche in Russian women. *Gene*. 2019;686:228-236. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.gene.2018.11.042>
18. Nakano M, Ikeda Y, Tokuda Y, et al. Common variants in cdkn2b-asl associated with optic-nerve vulnerability of glaucoma identified by genome-wide association studies in Japanese. *PLoS One*. 2012;7(3):e33389. DOI: <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0033389>
19. Ponomarenko IV, Polonikov AV, Churnosov MI. Polymorphic LHCGR gene loci associated with the development of uterine fibroids. *Obstetrics and Gynecology*. 2018;10:86-91. Russian. DOI: <https://dx.doi.org/10.18565/aig.2018.10.86-91>
20. Ponomarenko IV, Reshetnikov EA, Polonikov AV, et al. The polymorphic locus rs314276 of the LIN28B gene is associated with the age of menarche in women of the Central Black Earth Region of Russia. *Obstetrics and Gynecology*. 2019;2:98-104. Russian. DOI: <https://dx.doi.org/10.18565/aig.2019.2.98-104>
21. Schlotzer-Schrehandf U, Hammer CM, Krysta AW, et al. Molecular pathology of pseudo-exfoliation syndrome / glaucoma – new insights from LOXL1 gene associations. *Ophthalmologe*. 2012;109(10):944-51. DOI: <http://doi:10.1007/s00347-012-25-31-1>
22. Nakano M, Ikeda Y, Tokuda Y, et al. Novel common variants susceptible haplotype for exfoliation glaucoma specific to Asian population. *Scientific Reports*. 2014;4:5340. DOI: <http://doi.org/10.1038/srep05340>
23. Aung T, Ozaki M, Mizoguchi T, et al. A common variants mapping to CACNA1A is associated with susceptibility to exfoliation syndrome. *Nature Genetics*. 2015;47(4):387-92. DOI: <http://doi.org/10.1038/ng.3226>

Статья поступила в редакцию 18.02.2020 г.  
Поступила после доработки 18.04.2020 г  
Принята к печати 13.05.2020 г.

Received 18 February 2020

Revised 18 April 2020

Accepted 13 May 2020

### Информация об авторе

**Наталья Владимировна Елисеева**, врач-офтальмолог отделения микрохирургии глаза ОГБУЗ «Белгородская Областная клиническая больница Святителя Иоасафа», Белгород, E-mail: eliseevanb78@mail.ru, ORCID: 0000-0002-0707-9714.

### Information about the author

**Natalya V. Eliseeva**, Ophthalmologist of the Department of Eye Microsurgery of the St. Joasaph Belgorod Regional Clinical Hospital, E-mail: eliseevanb78@mail.ru, ORCID: 0000-0002-0707-9714.