

patients symptoms. J Forensic Leg Med. 2017 Nov;52:89-92. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jflm.2017.08>

10. Stålberg E, van Dijk H, Falck B, Kimura J, Neuwirth C, Pitt M, et al. Standards for quantification of EMG and neurography. Clin Neurophysiol. 2019 Sep;130(9):1688-729. Epub 2019 Jun 10. PMID: 31213353. doi: <https://doi.org/10.1016/j.clinph.2019.05.008>

11. Battakova S, Shraimanov B. Neurophysiological changes in the afferent somatosensory system indices in the case of vertebrogenic spine pathology in miners. Int J Occup Med Environ Health. 2013 Apr;26(2):230-4. Epub 2013 Jun 15. PMID: 23771862. doi: <https://doi.org/10.2478/s13382-013-0109-z>

Стаття надійшла до редакції
08.12.2021



УДК 617.7-007.681-021.3-055.1/3-074-037:575.2

<https://doi.org/10.26641/2307-0404.2022.4.271215>

О.А. Ісаєв ^{1,2*}, 
В.М. Сердюк ^{1,2} 

ПРОГНОЗУВАННЯ ШВИДКОСТІ ПРОГРЕСІЇ ПЕРВИННОЇ ВІДКРИТОКУТОВОЇ ГЛАУКОМИ ЗАЛЕЖНО ВІД СТАТІ ТА ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНА ЕНДОТЕЛІАЛЬНОЇ NO-СИНТАЗИ (NOS3)

Дніпровський державний медичний університет ¹

вул. В. Вернадського, 9, Дніпро, 49044, Україна

КП «Дніпропетровська обласна клінічна офтальмологічна лікарня» ²

пл. Соборна, 14, Дніпро, 49005, Україна

Dnipro State Medical University ¹

V. Vernadskyi str., 9, Dnipro, 49044, Ukraine

*e-mail: oleksiiisaev@gmail.com

КП "Dnipropetrovsk Regional Clinical Ophthalmological Hospital" ²

Soborna sq., 14, Dnipro, 49005, Ukraine

e-mail: kpdokol@ukr.net

Цитування: Медичні перспективи. 2022. Т. 27, № 4. С. 159-168

Cited: Medicni perspektivi. 2022;27(4):159-168

Ключові слова: первинна відкритокутова глаукома, NOS3, rs1799983, rs2070744, прогноз

Key words: primary open-angle glaucoma, NOS3, rs1799983, rs2070744, prognosis

Реферат. Прогнозування швидкості прогресії первинної відкритокутової глаукоми залежно від статі та поліморфізму гена ендотеліальної NO-синтази (NOS3). Ісаєв О.А., Сердюк В.М. Актуальність – перспектива розробки системи діагностики та профілактики первинної відкритокутової глаукоми (ПВКГ), яка ґрунтувалася б на визначенні конститутивних факторів схильності та була здатна давати прогноз виникнення та прогресії захворювання. Мета дослідження – розробити модель прогнозування швидкості прогресії первинної відкритокутової

глаукоми залежно від статі та поліморфізму гена ендотеліальної NO-синтази (NOS3). Генотиповано 153 пацієнти з ПБКГ віком від 36 до 84 років. У крові пацієнтів шляхом полімеразної ланцюгової реакції в реальному часі (ампліфікатор Gene Amp PCR System 7500; США) з використанням тест-системи TaqMan Mutation Detection Assays Life-Technology (США) визначено генотипи rs1799983 і rs207074. Для математичної обробки отриманих результатів використали програму Statistica 10 (StatSoft, Inc., США). Швидкість прогресії ПБКГ була більшою за наявності в гаплотипі поліморфізмів гена NOS3 алелей ризику: T rs1799983 і C rs2070744 (гаплотипи TT-CC, GT-CC і GT-CT), що при розподілі за статтю було більш вираженим у жінок, ніж у чоловіків із можливих гаплотипів. Максимальна різниця була відзначена для носіїв гаплотипу TT-CC, у яких швидкість прогресії ПБКГ у жінок перевищувала таку в чоловіків в 1,4 раза ($p < 0,001$). Була побудована регресійна модель із задовільними показниками прогнозу (коефіцієнт множинної кореляції $R=0,963$; коефіцієнт детермінації $R^2=0,928$; $p < 0,001$). Розрахуємо ймовірний «спадково зумовлений» вік пацієнтів, у якому слід очікувати на ту чи іншу стадію ПБКГ. Таким чином, показано зв'язок статі та гаплотипів rs1799983 та rs2070744 гена NOS3 з виникненням та швидкістю прогресії ПБКГ, що було реалізовано в прогностичній моделі захворювання. Окремо для чоловіків та жінок, носіїв різних гаплотипів, було розраховано швидкість прогресії та можливий вік розвитку ПБКГ за стадіями.

Abstract. Prediction of the rate of progression of primary open-angle glaucoma depending on gender and polymorphism of the endothelial NO-synthase (NOS3) gene. Isaiev O.A., Serdiuk V.M. *Relevance – it is promising to develop a system for the diagnosis and prevention of primary open-angle glaucoma (POAG), which would be based on the determination of constitutive propensity factors and would be able to predict the onset and progression of the disease. The aim of the study was to develop a model for predicting the rate of progression of primary open-angle glaucoma depending on gender and endothelial NO-synthase (NOS3) gene polymorphism. There were genotyped 153 patients with POAG aged 36–84 years. Genotypes rs1799983 and rs207074 were determined in the blood of patients by real-time polymerase chain reaction (amplifier Gene Amp® PCR System 7500; USA) using the TaqMan Mutation Detection Assays Life-Technology test system (USA). For mathematical processing of the obtained results, the Statistica 10 program (StatSoft, Inc., USA) was used. The rate of progression of POAG was higher in the presence of risk alleles in the haplotype of the NOS3 gene polymorphisms: T rs1799983 and C rs2070744 (haplotypes TT-CC, GT-CC and GT-CT), which, when distributed by gender, was more pronounced in women than in men of each of the possible haplotypes. The maximum difference was noted for carriers of the TT-SS haplotype, in whom the rate of progression of POAG in women exceeded that in men by 1.4 times ($p < 0.001$). A regression model was built with satisfactory prediction indicators (multiple correlation coefficient $R=0.963$; coefficient of determination $R^2=0.928$; $p < 0.001$). The probable “hereditary” age of patients in which one or another stage of POAG should be expected is calculated. Gender and haplotypes rs1799983 and rs2070744 of the NOS3 gene were shown to be associated with the onset and rate of progression of POAG, which was implemented in the prognostic model of the disease. Separately for men and women, carriers of different haplotypes, the rate of progression and the possible age of POAG development by stages were calculated.*

Станом на 2018 рік понад 60,5 млн людей у всьому світі страждають на глаукому [1]. За підрахунками ВООЗ, у 2019 році 11,9 млн осіб мали тяжку стадію глаукоми, яка не піддається лікуванню і веде до незворотної втрати зору [2]. Згідно з глобальними ретроспективним епідеміологічним дослідженням, з 1990 до 2015 р. спостерігалось нестримне зростання захворюваності на глаукому (на 122%) незалежно від статі з піком до 60 років [3, 4]. Отже, невтішні дані епідеміологічних прогнозів спонукають до пошуку нових заходів діагностики, особливо на доклінічних етапах, застосування новітніх технологій та систем прогнозу прогресії втрати зору при глаукомі [5].

Основним механізмом розвитку найбільш поширеного виду глаукоми – первинної відкритокутової (ПБКГ) є виникнення та прогресування глаукомної оптичної нейропатії (ГОН), що супроводжується накопиченням внутрішньоочної рідини з підвищенням внутрішньоочного тиску та пошкодженням зорового нерва зі зниженням периферичних полів зору [6, 7].

Важливу роль у розвитку ГОН відіграє ендотеліальна дисфункція [8]. За сучасними уявленнями, ендотелій судин виконує численні функції, як у фізіологічних, так і в патологічних процесах, через регуляцію судинного тонуусу й проникності мікросудин, ангиогенезу, активності згортальної та протеолітичної систем, механізмів клітинної адгезії та розвитку запальних реакцій [9, 10]. Найважливішим регуляторним фактором ендотелію є оксид азоту (NO), який утворюється з L-аргініну спеціалізованим ферментом – ендотеліальною NO-синтазою (eNOS; NOS3) [11]. Показано, що поліморфізми гена NOS3 є факторами ризику ПБКГ, що в останніх оглядах та мета-аналізах доведено для rs1799983 (G894T, Glu298Asp) та rs2070744 (T-786C) [12, 13].

Ураховуючи викладене, доцільним видається розробка системи діагностики та профілактики ПБКГ, яка б ґрунтувалася на визначенні факторів спадкової схильності та була здатна надати прогноз виникнення та прогресії захворювання.

Мета дослідження – розробити модель прогнозування швидкості прогресії первинної відкритокутової глаукоми залежно від статі та поліморфізму гена ендотеліальної NO-синтази (*NOS3*).

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

У цьому дослідженні проведено генотипування 153 пацієнтів з ПБКГ, серед яких чоловіків було 57 (37,25%), жінок – 96 (62,75%), у віці від 36 до 84 років. Усім пацієнтам виконували візометрію, периметрію Humphrey, рефрактометрію, пневмотонометрію, біомікроскопію, гоніоскопію, офтальмоскопію, оптичну когерентну томографію (ОКТ) зі встановленням діагнозу та стадії ПБКГ [14]. Молекулярно-генетичне дослідження проведено в зразках цільної венозної крові, що була отримана в пацієнтів у кількості 3 мл.

Усі пацієнти підписали добровільну згоду на участь у дослідженнях. Матеріали, викладені в статті, відповідають принципам біоетики, викладеним у Гельсінській декларації «Етичні принципи медичних досліджень з людьми», розробленій Всесвітньою медичною асоціацією, «Загальній декларації з біоетики та прав людини (ЮНЕСКО)», упоряд. МОЗ України «Про затвердження Порядку проведення клінічних випробувань лікарських засобів та експертизи матеріалів клінічних випробувань та типового положення про комісії з етики» № 690 від 23.09.2009. (Висновки комісії з біоетики Дніпровського державного медичного університету № 6 від 04.10.2019).

Визначення генотипів поліморфізмів rs1799983 (*G894T*, *Glu298Asp*) та rs2070744 (*T-786C*) гена *NOS3* проводили методом полімеразної ланцюгової реакції в реальному часі в автоматичному ампліфікаторі Gene Amp® PCR System 7500 (“Applied Biosystems”, США) з використанням реактивів PureLink® Genomic DNA Kit For Purification of Genomic DNA (“INVITROGEN”, США) та TaqMan Mutation Detection Assays Life-Technology (США).

Модель прогнозування швидкості прогресії ПБКГ розробляли в середовищі GLM (Загальні лінійні моделі) пакета комп'ютерних програм StatPlus v.6A (StatSoft, Inc.; тип ліцензії 1PC(s), № 3-Hs6aX-rt1Sp). В якості залежної змінної був використаний показник, що віддзеркалює фактичну швидкість прогресії ПБКГ ($V_{\text{ПБКГ}}$) та представляє собою відношення стадії захворювання до віку пацієнта (стадій/рік):

$$V_{\text{ПБКГ}} = \text{Стадія} / \text{Вік} \quad (1),$$

де: Стадія – стадія ПБКГ (1, 2, 3 або 4); Вік – вік пацієнта (років).

У якості предикторів для рівняння регресії були використані стабільні показники, які залишаються незмінними на будь-якому етапі життя пацієнта, а саме – стать та результати генотипування за обома дослідженими поліморфізмами гена *NOS3*, які були конвертовані в кількісні (індикаторні) значення за технологією для перепараметризованих регресійних моделей (табл. 1).

Таблиця 1

Відповідність категоріальних змінних до індикаторних значень, які було використано в регресійному аналізі

Показник	Назва змінної	Категоріальне значення	Індикаторне значення
rs1799983 гена <i>NOS3</i>	1NOS3	GG	101
		GT	102
		TT	103
rs2070744 гена <i>NOS3</i>	2NOS3	TT	101
		CT	102
		CC	103
Стать	Стать	Чоловіча	101
		Жіноча	102

Розробку моделі прогнозу швидкості прогресії ПБКГ (стадій/рік) здійснювали за технологією

множинної лінійної регресії [15, 16]. Розрахунок коефіцієнтів регресійного рівняння (β) для

незалежних змінних виконували за методом найменших квадратів з покроковим вилученням показників, що не відповідають критеріям ефективності. Останню оцінювали на основі статистики Стюдента (критерій *t*) й інтервальним методом за відповідністю 95% вірогідного інтервалу (95% ВІ) з розрахунком ймовірності відмінностей з нульовою гіпотезою (*p*). Загальну адекватність моделі характеризували за допомогою коефіцієнтів множинної кореляції (*R*) і детермінації (*R*²), а також критерію Фішера (*F*). За допомогою рангової статистики порівнювали фактичні й прогнозовані результати.

Прогнозований вік, відповідний стадіям ПВКГ, розраховували за формулою:

$$\text{Вік} = \text{Стадія} / V_{\text{ПВКГ}} \quad (2),$$

де: Стадія – стадія ПВКГ (1, 2, 3 або 4); *V*_{ПВКГ} – швидкість прогресії ПВКГ.

Для статистичної обробки отриманих даних використовували програму Statistica 10 (StatSoft, Inc., USA). Статистичні вибірки оцінювали за характером розподілу даних (тест Колмогорова-Смирнова), нормальність розподілу підтверджували при *p*>0,05. Оскільки всі варіаційні ряди

мали характер розподілу відмінний від нормального, для описової статистики використано медіану (*Me*) та перший і третій квартилі (*Q1-Q3*). Незалежні вибірки порівнювали із застосуванням критеріїв Стюдента, Манна-Уїтні, Уїлкоксона та рангового дисперсійного аналізу Краскела-Уолліса.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Швидкість прогресії ПВКГ (*V*_{ПВКГ}), що була розрахована за формулою 1, мала відмінний від нормального розподіл даних (за тестом Колмогорова-Смирнова *p*<0,001). Її значення змінювалася від 0,012 до 0,089 стадій/рік з медіаною 0,047 стадій/рік (95% ВІ 0,013-0,081).

Стратифікація за стадіями ПВКГ та гаплотипами гена *NOS3* показала, що *V*_{ПВКГ} була більшою за наявності в гаплотипі алелів ризику (табл. 2). До таких відносяться за поліморфізмом rs1799983 алель *T*, а за поліморфізмом rs2070744-алель *C* [13]. Найбільша *V*_{ПВКГ} була характерна для гаплотипів *TT-CC*, *GT-CC* та *GT-CT* (*p*<0,001). Це надавало підставу вважати, що в носіїв ризикових гаплотипів була наявна схильність до розвитку ПВКГ високих стадій у більш ранньому віці.

Таблиця 2

Швидкість прогресії ПВКГ (*V*_{ПВКГ}) у носіїв різних гаплотипів та за стадіями ПВКГ (стадій/рік; *Me*; *Q1-Q3*)

Гаплотип rs1799983- rs2070744	Стадія ПВКГ				Порівняння за стадіями
	1-а	2-а	3-я	4-а	
<i>GG-CT</i>	-	0,027 (0,026-0,029)	0,037 (0,036-0,037)	-	<i>N</i> =15,24; <i>p</i> <0,001
<i>GG-TT</i>	0,016 (0,013-0,017)	0,026 (0,026-0,026)	-	-	<i>N</i> =13,44; <i>p</i> <0,001
<i>GT-CC</i>	-	-	-	0,053 (0,052-0,054)	-
<i>GT-CT</i>	-	0,043 (0,041-0,046)	0,043 (0,042-0,044)	0,049 (0,049-0,049)	<i>N</i> =7,00; <i>p</i> =0,030
<i>TT-CC</i>	-	0,055 (0,055-0,055)	0,070 (0,061-0,079)	0,057 (0,057-0,073)	<i>N</i> =12,83; <i>p</i> =0,002
Порівняння за гаплотипами	-	<i>N</i> =22,86; <i>p</i> <0,001	<i>N</i> =58,75; <i>p</i> <0,001	<i>N</i> =21,87; <i>p</i> <0,001	-

Примітки: *N* – критерій Краскела-Уолліса для незалежних змінних; *p* – статистична значущість відмінності від нульової гіпотези. Носіїв гаплотипів *GG-CC*, *GT-TT*, *TT-CT* та *TT-TT* серед пацієнтів з ПВКГ у цьому дослідженні виявлено не було.

Стратифікація за статтю показала достеменну статистичну різницю *V*_{ПВКГ} за всіма гаплотипами, які були наявні в чоловіків та жінок (табл. 3). Це

більшою мірою стосувалося носіїв-гомозигот за ризиковими алелями (*TT-CC*), у яких *V*_{ПВКГ} у жінок перевищувала таку в чоловіків в 1,4 раза (*p*<0,001).

Таблиця 3

Швидкість прогресії ПБКГ ($V_{\text{ПБКГ}}$) у чоловіків і жінок, носіїв різних гаплотипів (стадій/рік; Me; Q1-Q3)

Гаплотип rs1799983- rs2070744	Стать		Порівняння за статтю
	чоловіки	жінки	
GG-CT	0,027 (0,027-0,027)	0,036 (0,030-0,037)	Z=3,65; p<0,001
GG-TT	0,013 (0,013-0,013)	0,017 (0,017-0,026)	Z=3,68; p<0,001
GT-CC	-	0,053 (0,052-0,054)	-
GT-CT	0,040 (0,040-0,042)	0,047 (0,044-0,048)	Z=6,34; p<0,001
TT-CC	0,057 (0,056-0,061)	0,079 (0,071-0,081)	Z=5,03; p<0,001
Порівняння за гаплотипами	N=50,39; p<0,001	N=87,53; p<0,001	

Примітки: Н – критерій Краскела-Уолліса для незалежних змінних; Z – критерій Мана-Уїтні для незалежних змінних; p – статистична значущість відмінності від нульової гіпотези.

Статистична значущість незалежних змінних, включених у регресійний аналіз при побудові моделі прогнозу $V_{\text{ПБКГ}}$, наведена в таблиці 4.

Аналіз критеріїв статистичної значущості дозволив охарактеризувати відібрані предиктори:

1NOS3 ($t=15,40$; $p<0,001$; 95% BI 0,0126-0,0163); 2NOS3 ($t=10,20$; $p<0,001$; 95% BI 0,0080-0,0123) та Стать ($t=11,41$; $p<0,001$; 95% BI 0,0075-0,0106). Відібрані незалежні предиктори мали прямий зв'язок зі швидкістю прогресії ПБКГ.

Таблиця 4

Незалежні змінні, що було включено до моделі прогнозу швидкості прогресії ПБКГ ($V_{\text{ПБКГ}}$), та їх статистична характеристика

Незалежні змінні	β	$\pm SE$	95% BI	t	p
1NOS3	0,0145	0,0009	0,0126-0,0163	15,40	<0,001
2NOS3	0,0103	0,0010	0,0080-0,0123	10,20	<0,001
Стать	0,0090	0,0008	0,0075-0,0106	11,41	<0,001
Постійна	-3,3975	0,1055	(-3,6081-3,1909)	-32,21	<0,001

Примітки: незалежні змінні позначені в табл. 1; β – коефіцієнт регресії; SE – стандартна похибка коефіцієнта регресії; 95% BI – 95% вірогідний інтервал для коефіцієнта регресії; t – коефіцієнт Стьюдента; p – статистична значущість відмінності від нульової гіпотези.

Для кількісної оцінки зв'язку предикторів зі швидкістю прогресії ПБКГ був проведений розрахунок коефіцієнтів часткової кореляції, які характеризували внесок кожної незалежної змінної на залежну на тлі впливу інших змінних, що входили до складу рівняння множинної регресії. Було встановлено, що найбільший зв'язок з $V_{\text{ПБКГ}}$ мала змінна 1NOS3 ($r=0,784$), приблизно однаковою мірою були пов'язані з $V_{\text{ПБКГ}}$ змінні 2NOS3 і Стать ($r=0,683$ і $r=0,641$ відповідно). Для всіх показників відмінність з нульовою гіпотезою була встановлена з достовірністю $p<0,001$.

Таким чином, предиктори швидкості прогресії ПБКГ можуть бути розташовані в такий ряд за їх значущістю: 1NOS3 > 2NOS3 > Стать.

Формула для розрахунку швидкості прогресування ПБКГ ($V_{\text{ПБКГ}}$; стадій/рік) може бути представлена в такій редакції:

$$V_{\text{ПБКГ}} = -3,3975 + 0,0145 \times 1\text{NOS3} + 0,0103 \times 2\text{NOS3} + 0,009 \times \text{Стать} \quad (3)$$

де: 1NOS3 – індикаторне значення для генотипу rs1799983 гена NOS3 (GG=101; GT=102; TT=103); 2NOS3 – індикаторне значення для генотипу rs2070744 гена NOS3 (TT=101; TC=102; CC=103); Стать – індикаторне значення статі (чоловіча=101; жіноча=102).

Розрахунок показників, що характеризують відповідність даних прогнозу фактичним, показав високу обчислювальну здатність розробленої моделі: коефіцієнт множинної кореляції $R=0,963$; коефіцієнт детермінації $R^2=0,928$; критерій $F=645,18$ ($p<0,001$).

Аналіз розрахункових даних встановив, що $V_{\text{ПВКГ}}$ змінювалася в пацієнтів від 0,015 до 0,074 стадій/рік з медіаною 0,049 (95% ВІ 0,015-0,075). На рис. 1 представлено візуальне відображення фактичних і розрахункових даних швидкості прогресії ПВКГ.

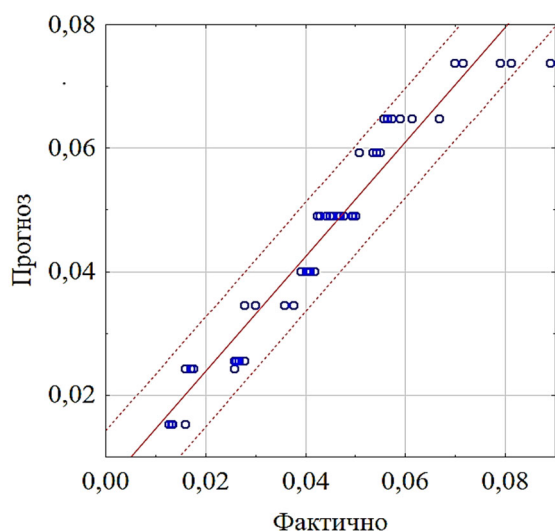


Рис. 1. Прогнозована (суцільна пряма лінія) і фактична (кружки) швидкість прогресії ПВКГ (стадій/рік). Пунктиром позначений 95% ВІ для прогнозу. По осі абсцис й ординат – $V_{\text{ПВКГ}}$ (ум.од.)

Порівняння фактичних і розрахункових значень швидкості прогресії ПВКГ не виявило значущих відмінностей між ними (табл. 5). Кореляційний зв'язок демонстрував високу силу й статистичну значущість ($\rho=0,987$; $p<0,001$).

Виходячи з даних описової статистики результатів прогнозу (Q1-Q3), можна визначити категорії, що характеризували генетично зумовлену швидкість прогресії ПВКГ, таким чином: менше 0,036 стадій/рік – повільне прогресування; від 0,036 до 0,055 стадій/рік – помірне прогресування і більше 0,055 стадій/рік – швидке прогресування ПВКГ.

Слід зазначити, що стать впливає на розрахункову $V_{\text{ПВКГ}}$ також, як і на фактичну (табл. 3). За всіма варіантами гаплотипу поліморфізмів rs1799983 і rs2070744 гена *NOS3* $V_{\text{ПВКГ}}$ у жінок була вищою (табл. 6). Відповідно змінювався й розподіл категорій, що характеризували генетично зумовлену швидкість прогресії ПВКГ.

У зв'язку з виявленими відмінностями за швидкістю прогресії ПВКГ в осіб різної статі був проведений теоретичний розрахунок «спадково зумовленого» віку пацієнтів, в якому слід очікувати ту чи іншу стадію ПВКГ. За умовами побудови моделі мова йде тільки про схильність за дослідженими поліморфізмами гена *NOS3* (rs1799983 і rs2070744), а отже, фактичний вік розвитку ПВКГ може відрізнятися від прогнозованого. У той же час розраховані значення кількісно характеризують певну генетичну схильність, що, на наш погляд, має й практичну цінність.

Таблиця 5

Статистичні показники фактичних і розрахункових даних швидкості прогресії ПВКГ (стадій/рік)

Показники	Фактичні	Прогнозовані
Me	0,047	0,048
Q1-Q3	0,036-0,055	0,035-0,055
Мінімум-Максимум	0,012-0,089	0,014-0,075
95% ВІ	0,013-0,081	0,015-0,074
Коефіцієнт кореляції Спірмена	0,987 ($p<0,001$)	
Тест Уїлкоксона	1,55 ($p=0,121$)	

Примітки: Me – медіана; Q1-Q3 – перший і третій квартилі; 95% ВІ – 95% вірогідний інтервал; p – статистична значущість відмінності від нульової гіпотези.

Таблиця 6

**Розрахункові показники швидкості прогресії ПВКГ ($V_{\text{ПВКГ}}$)
залежно від генотипів та статі**

Гаплотип rs1799983- rs2070744	Чоловіки	Жінки
<i>GG-TT</i>	0,015	0,024
<i>GG-CT</i>	0,026	0,035
<i>GT-TT</i>	0,030	0,039
<i>GG-CC</i>	0,036	0,045
<i>GT-CT</i>	0,040	0,049
<i>TT-TT</i>	0,044	0,053
<i>GT-CC</i>	0,050	0,059
<i>TT-CT</i>	0,055	0,064
<i>TT-CC</i>	0,065	0,074
Me (Q1-Q3)	0,040 (0,025-0,065)	0,049 (0,035-0,059)
Тест Манна-Уїтні	1,01 ($p=0,311$)	

Примітки: Me – медіана; Q1-Q3 – перший і третій квантилі; p – статистична значущість відмінності від нульової гіпотези; фоном виділені розрахункові категорії швидкості прогресії ПВКГ: білий – повільна, світло-сірий – помірна і темно-сірий – швидка прогресія захворювання.

Діагностичні можливості запропонованого методу узагальнені в таблиці 7. За наявності алелів ризику розрахунковий вік виникнення

ПВКГ зменшувався, що логічно узгоджувалося зі встановленою раніше більшою прогресією ПВКГ у таких осіб.

Таблиця 7

**Розрахунковий вік (років) розвитку ПВКГ за стадіями залежно від гаплотипу
поліморфізмів rs1799983 і rs2070744 гена *NOS3***

Гаплотип rs1799983- rs2070744	Стадія ПВКГ							
	1-а		2-а		3-я		4-а	
	чол.	жін.	чол.	жін.	чол.	жін.	чол.	жін.
<i>GG-TT</i>	65	41	>100	82	>100	>100	>100	>100
<i>GG-CT</i>	39	29	78	58	>100	87	>100	>100
<i>GT-TT</i>	34	26	67	52	>100	77	>100	>100
<i>GG-CC</i>	28	22	56	45	84	67	>100	89
<i>GT-CT</i>	25	20	50	41	75	61	100	81
<i>TT-TT</i>	23	19	45	38	68	56	90	75
<i>GT-CC</i>	20	17	40	34	60	51	79	67
<i>TT-CT</i>	18	16	37	31	55	47	73	63
<i>TT-CC</i>	15	14	31	27	46	41	62	54

Найбільший вік виникнення ПВКГ прогнозувався для гаплотипу, який мав неризикові алелі поліморфізмів rs1799983 і rs2070744 гена *NOS3* (*GG-TT*). За наявності одного з ризикових алелів – *T* rs1799983 або *C* rs2070744 (гаплотипи *GG-CT*, *GT-TT*, *GG-CC*) вік розвитку 1-ї стадії, тобто – виникнення ПВКГ, зменшувався (до 22-39 років), але вік розвитку 3-ї та 4-ї стадій прогнозувався як дуже високий (понад 84 роки). За наявності двох ризикових алелів (решта гаплотипів) суттєво зменшувалися і вік виникнення, і вік розвитку ПВКГ високих стадій, що особливо було притаманно носіям гаплотипу *TT-CC*.

Необхідно зазначити, що загальна тенденція більшої швидкості прогресії ПВКГ у жінок зберігалася й у цьому разі. Серед носіїв однакового гаплотипу прогнозований вік розвитку ПВКГ за стадіями в жінок був завжди меншим, ніж у чоловіків (табл. 7).

Для перевірки відповідності фактичних та прогнозованих значень віку виникнення ПВКГ було проведено їх порівняння (рис. 2) для пацієнтів з 1-ю стадією. Таке порівняння не виявило значущих відмінностей між ними ($p=0,083$), кореляційний зв'язок демонстрував високу силу й статистичну значущість ($\rho=0,966$; $p<0,001$), що доводило адекватність побудованої моделі.

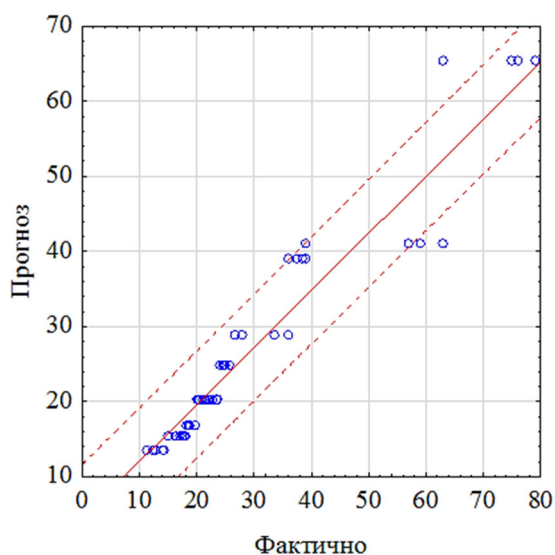


Рис. 2. Прогнозований (суцільна пряма лінія) і фактичний (кружки) вік розвитку 1-ї стадії ПВКГ. Пунктиром зображений 95% ВІ для прогнозу. По осі абсцис й ординат – вік (років)

У наших дослідженнях була показана більша швидкість прогресії ПВКГ у носіїв ризикових алелів (*T* rs1799983 і *C* rs2070744), що більшою мірою стосувалося жінок (табл. 2 і 3). У дослідженні T. Magalhães da Silva et. al. (2012) був

показаний достеменний зв'язок цих поліморфізмів з ПВКГ у загальному аналізі, а при розподілі за статтю – у жінок [17]. Окремо для поліморфізму rs1799983 зв'язок з ПВКГ для жінок був встановлений і в іншому дослідженні [18]. Генотип *CC* rs2070744 також був пов'язаний з ПВКГ, що більшою мірою виявлялося в жінок [19]. Мета-аналіз 2021 року підтвердив збільшення ризику ПВКГ у носіїв генотипів *CC* rs2070744 і *TT* rs1799983 [13].

Таким чином, можна вважати встановленим фактом зв'язок з ПВКГ ризикових генотипів rs1799983 і rs2070744, що в цьому дослідженні підтверджено їх позитивним впливом на швидкість прогресії ПВКГ. Останнє більшою мірою було притаманне жінкам порівняно з чоловіками.

У нашому дослідженні мінімальна швидкість прогресії ПВКГ була визначена для гаплотипу *GG-TT* (табл. 2, 3). Саме цей генотип за даними мета-аналізу був пов'язаний зі зниженням ризику ПВКГ, що також було більш притаманним жінкам [20].

За даними когортного дослідження випадок-контроль A.A. Kondkar et al. (2020), мінорна алель *T* rs1799983 була значуще зв'язана з ПВКГ у саудівських чоловіків ($p=0,025$; ВШ=1,77; 95% ВІ 1,07-2,94) [21]. При цьому поліморфізм rs1799983 не показав зв'язку з проявами ПВКГ, такими як *VOI* і *Cup/Disk Area Ratio*.

Отже, наші дані збігались з літературними щодо зв'язку вивчених генотипів з ПВКГ. Натомість, на відміну від таких даних, нами був показаний зв'язок статі та гаплотипів rs1799983 і rs2070744 гена *NOS3* з виникненням та швидкістю прогресії ПВКГ, що було реалізовано в прогностичній моделі захворювання. Окремо для чоловіків та жінок, носіїв різних гаплотипів, була розрахована швидкість прогресії та ймовірний вік розвитку ПВКГ за стадіями.

ВИСНОВКИ

1. Швидкість прогресії первинної відкритокутової глаукоми була більшою за наявності в гаплотипі поліморфізмів гена *NOS3* алелів ризику: *T* rs1799983 та *C* rs2070744 (гаплотипи *TT-CC*, *GT-CC* та *GT-CT*).

2. Швидкість прогресії первинної відкритокутової глаукоми була більшою в жінок, ніж у чоловіків, за кожним з можливих гаплотипів. Максимальна різниця була відмічена для носіїв гаплотипу *TT-CC*, в яких швидкість прогресії первинної відкритокутової глаукоми в жінок перевищувала таку в чоловіків в 1,4 раза ($p<0,001$).

3. На підставі визначення генотипів rs1799983 і rs2070744 гена *NOS3* та з урахуванням статі була побудована регресійна модель швидкості прогресії первинної відкритокутової глаукоми із

задовільними показниками прогнозу (коефіцієнт множинної кореляції $R=0,963$; коефіцієнт детермінації $R^2=0,928$; $p<0,001$).

4. Проведено розрахунок «спадково зумовленого» віку пацієнтів, у якому слід очікувати розвиток тієї чи іншої стадії первинної відкритокутової глаукоми. Найбільший вік виникнення захворювання прогнозувався для гаплотипу, який мав неризикові алелі вивчених поліморфізмів. За наявності одного або двох ризикових алелів прогнозовані вік виникнення первинної відкритокутової глаукоми і вік розвитку високих стадій зменшувалися, що особливо було притаманно носіям гаплотипу ТТ-СС.

Внески авторів:

Ісаєв О.А. – формальний аналіз, дослідження, ресурси, курація даних, написання – початковий проєкт, методологія, ведення, візуалізація;

Сердюк В.М. – концептуалізація, методологія дослідження, написання – рецензування та редактування.

Фінансування. Дослідження не має зовнішніх джерел фінансування

Конфлікт інтересів. Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

REFERENCES

- Ling JD, Bell NP. Role of cataract surgery in the management of glaucoma. *Int Ophthalmol Clin*. 2018;58(3):87-100.
doi: <https://doi.org/10.1097/IO.0000000000000234>
- Cieza A, Keel S, Kocur I, McCoy M, Mariotti SP. World report on vision. Geneva: World Health Organization. [Internet]; 2019. Available from: https://www.who.int/health-topics/blindness-and-vision-loss#tab=tab_1
- Wang W, He M, Li Z, Huang W. Epidemiological variations and trends in health burden of glaucoma worldwide. *Acta Ophthalmol*. 2019;97(3):e349-e355.
doi: <https://doi.org/10.1111/aos.14044>
- Flaxman SR, Bourne RR, Resnikoff S, Ackland P, Braithwaite T, Cicinelli MV, et al. Vision loss expert group of the global burden of disease study. Global causes of blindness and distance vision impairment 1990-2020: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Glob Health*. 2017;5(12):e1221-e34.
doi: [https://doi.org/10.1016/S2214-109X\(17\)30393-5](https://doi.org/10.1016/S2214-109X(17)30393-5)
- Bourne RR. Vision 2020: where are we? *Curr Opin Ophthalmol*. 2020;31(2):81-84.
doi: <https://doi.org/10.1097/ICU.0000000000000647>
- Torres LA, Hatanaka M. Correlating structural and functional damage in glaucoma. *J Glaucoma*. 2019;28(12):1079-85.
doi: <https://doi.org/10.1097/IJG.0000000000001346>
- Hymes J. Glaucoma. American Optometric Association. [Internet]; 2020. Available from: <https://www.aoa.org/healthy-eyes/eye-and-visionconditions/glaucoma?sso=y>
- Mudassar IB, Yew KK, Thambiraja R, Sulong S, Ghulam RA, Ahmad TL. Microvascular endothelial function and primary open angle glaucoma. *Ther Adv Ophthalmol*. 2019;11:2515841419868100.
doi: <https://doi.org/10.1177/2515841419868100>
- Vargas-Valderrama A, Messina A, Mitjavila-Garcia MT, Guenou H. The endothelium, a key actor in organ development and hPSC-derived organoid vascularization. *J Biomed Sci*. 2020;27(1):67.
doi: <https://doi.org/10.1186/s12929-020-00661-y>
- Krüger-Genge A, Blocki A, Franke RP, Jung F. Vascular endothelial cell biology: an update. *Int J Mol Sci*. 2019;20(18):4411.
doi: <https://doi.org/10.3390/ijms20184411>
- Picciano AL, Crane BR. A nitric oxide synthase-like protein from *Synechococcus* produces NO/NO₃- from l-arginine and NADPH in a tetrahydrobiopterin- and Ca²⁺-dependent manner. *J Biol Chem*. 2019;294(27):10708-19.
doi: <https://doi.org/10.1074/jbc.RA119.008399>
- Liu Y, Allingham RR. Major review: Molecular genetics of primary open-angle glaucoma. *Exp Eye Res*. 2017;160:62-84.
doi: <https://doi.org/10.1016/j.exer.2017.05.002>
- Salari N, Bokaei S, Farshchian N, Mohammadi M, Kazemian M. The role of polymorphisms rs2070744 and rs1799983 eNOS gene in patients with POAG: a systematic review and meta-analysis. *Int Ophthalmol*. 2021 Apr 10.
doi: <https://doi.org/10.1007/s10792-021-01832-y>
- Terminology and Guidelines for Glaucoma. 4th Edition. European Glaucoma Society. Available on: www.eugs.org
- Antomonov M.Yu. [Mathematical processing and analysis of medical and biological data]. 2 ed. Kyiv: Malyi druk. 2017.
- Kanda Y. Investigation of the freely available easy-to-use software “EZR” for medical statistics. *Bone Marrow Transplant*. 2013 Mar;48(3):452-8.
doi: <https://doi.org/10.1038/bmt.2012.244>
- Magalhães da Silva T, Rocha AV, Lacchini R, Marques CR, Silva ES, Tanus-Santos JE, et al. Association of polymorphisms of endothelial nitric oxide synthase (eNOS) gene with the risk of primary open angle glaucoma in a Brazilian population. *Gene*. 2012;502(2):142-6.
doi: <https://doi.org/10.1016/j.gene.2012.04.047>
- Kang JH, Wiggs JL, Haines J, Abdrabou W, Pasquale LR. Reproductive factors and NOS3 variant interactions in primary open-angle glaucoma. *Mol. Vis*. 2011;17:2544-51. PMID: 22025889. PMID: 22025889.
- Emam WA, Zidan HE, Abdulhalim BE, Dabour SA, Ghali MA, Kamal AT. Endothelial nitric oxide synthase polymorphisms and susceptibility to high-tension

primary open-angle glaucoma in an Egyptian cohort. *Mol. Vis.* 2014;20:804-11. PMID: 24940036; PMID: PMC4057245.

20. Xiang Y, Dong Y, Li X, Tang X. Association of Common Variants in eNOS Gene with Primary Open Angle Glaucoma: A Meta-Analysis. *J Ophthalmol.* 2016;2016:1348347. doi: <https://doi.org/10.1155/2016/1348347>

21. Kondkar AA, Azad TA, Sultan T, Osman EA, Almobarak FA, Al-Obeidan SA. Association of endothelial nitric oxide synthase (NOS3) gene polymorphisms with primary open-angle glaucoma in a Saudi cohort. *PLoS ONE.* 2020;15(1):e0227417. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0227417>

Стаття надійшла до редакції
04.01.2022

