

УДК 617.731 – 575.224

© Л.У. Джемилева, А.Ш. Загидуллина, Р.Р. Саттарова, А.А. Александров, А.Р. Зайнитова, С.Л. Лобов, Р.Р. Хасанова, Б.М. Азнабаев, И.М. Хидиятова, Э.К. Хуснутдинова, 2015

Л.У. Джемилева¹, А.Ш. Загидуллина², Р.Р. Саттарова⁴,
 А.А. Александров⁴, А.Р. Зайнитова¹, С.Л. Лобов¹, Р.Р. Хасанова³,
 Б.М. Азнабаев², И.М. Хидиятова^{1,3}, Э.К. Хуснутдинова^{1,3}

**МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ НАСЛЕДСТВЕННЫХ ФОРМ
 ПЕРВИЧНОЙ ОТКРЫТОУГОЛЬНОЙ ГЛАУКОМЫ
 В РЕСПУБЛИКЕ БАШКОРТОСТАН**

¹ФГБУН «Институт биохимии и генетики» УНЦ РАН, г. Уфа

²ГБОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет»
 Минздрава России, г. Уфа

³ГБОУ ВПО «Башкирский государственный университет», г. Уфа

⁴Центр лазерного восстановления зрения «Оптимед», г. Уфа

Проведен анализ результатов молекулярно-генетического обследования 1045 индивидов (496 больных с первичной открытоугольной глаукомой (ПОУГ) и 589 лиц группы контроля). Мутация p.Q368X (c.1102C>T) в гене миоцилина (MYOC) была идентифицирована в гетерозиготном состоянии у 1 пациента (0,17%) из группы контроля. В основной группе данная мутация была выявлена у 8 неродственных пациентов (1,6% всех обследованных семей с ПОУГ). Общий вклад идентифицированной у пациентов с ПОУГ мутации p.Q368X (c.1102C>T) в гене MYOC составил 0,8%.

Ключевые слова: первичная открытоугольная глаукома, ген миоцилина, мутации.

L.U. Dzhemileva, A.Sh. Zagidullina, R.R. Sattarova,
 A.A. Alexandrov, A.R. Zaynitova, S.L. Lobov, R.R. Khasanova,
 B.M. Aznabaev, I.M. Khidiyatova, E.K. Khusnutdinova

**MOLECULAR AND GENETIC ASPECTS OF HEREDITARY FORMS
 OF PRIMARY OPEN ANGLE GLAUCOMA IN BASHKORTOSTAN**

The analysis of the results of molecular genetic testing in 1045 individuals (496 patients with primary open-angle glaucoma (POAG) and 589 individuals of the control group) was carried out. Mutation p.Q368X (c.1102C> T) in the gene myocilin (MYOC) was identified in the heterozygous state in 1 patient (0.17%) from the control group. In the study group, this mutation was detected in 8 unrelated patients (1.6% of all patients with POAG). The total contribution of the identified patients with POAG mutations p.Q368X (c.1102C> T) in the gene MYOC was 0.8%.

Key words: primary open-angle glaucoma, gene myocilin, mutations.

Первичная открытоугольная глаукома (ПОУГ) относится к группе заболеваний с наследственной предрасположенностью, возникающих и развивающихся под взаимодействием наследственности и окружающей среды [11]. Вклад генетических факторов в развитие ПОУГ, по данным различных авторов, составляет от 20 до 60% [9]. Показано, что первичная открытоугольная глаукома – это обширная группа различных по этиологии и патогенезу заболеваний, среди которых выделяют формы, сопровождающиеся повышением внутриглазного давления, и псевдонормотензивные глаукомы (при данной форме заболевания средние значения внутриглазного давления (ВГД) остаются в пределах возрастной нормы) [8]. В настоящее время большинство исследователей считают, что основным диагностическим признаком этой разнородной группы заболеваний является специфическая глаукоматозная оптическая нейропатия [8,9,11]. По социально-экономическому ущербу, влиянию на уровень здоровья и качество жизни пациентов первичная открытоугольная глаукома наравне с диабетической ретинопатией и макулярной дегенерацией со-

ставляет три главные патологии в структуре слепоты у человека. Хроническое бессимптомное течение первичной открытоугольной глаукомы, часто проявляющейся у лиц среднего возраста и неуклонно прогрессирующей в течение всей жизни (в особенности ювенильные формы ПОУГ, которые нередко становятся причиной инвалидности в молодом возрасте), определяет необходимость исследования факторов риска и механизмов развития данного заболевания с целью разработки эффективных методов диагностики и профилактики с учетом индивидуальных особенностей каждого больного. Первичная открытоугольная глаукома (ПОУГ) является самой распространенной клинической формой заболевания [8] и по разным оценкам составляет в Европе, Америке и России от 70 до 90 % всех случаев этого заболевания [1,8]. По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), глаукома стоит на втором месте среди всех заболеваний, приводящих к слепоте [14]. Последние достижения геномных и постгеномных технологий позволили выявить формы ПОУГ с моногенным типом наследования среди многофакторных форм заболевания

[1,8,9]. В ряде популяционных исследований было продемонстрировано, что наличие отягощенного по глаукоме семейного анамнеза является важным фактором риска развития глаукомы [13]. Выраженная генетическая гетерогенность, различия в механизмах возникновения и разнообразие клинических проявлений различных форм глауком нередко затрудняют поиск и идентификацию мутаций, которые необходимы для определения риска возникновения и скорости прогрессирования заболевания у пробандов и их родственников, а также проведения профилактических мероприятий в семьях высокого риска по ПОУГ. В связи с этим изучение этиопатогенеза и генетических аспектов различных форм первичной открытоугольной глаукомы является одной из наиболее актуальных проблем офтальмогенетики и молекулярной медицины.

Согласно литературным данным большинство случаев генетически детерминированной первичной открытоугольной глаукомы наследуется в основном по аутосомно-доминантному типу. Среди всех идентифицированных генов, вовлеченных в функционирование оттока водянистой влаги из передней камеры глаза, наиболее значимым является ген миоцилина (*MYOC*), вклад которого в развитие ПОУГ, по данным различных авторов, достигает 2-10% в различных этнических группах [5].

Таким образом, представляется целесообразным определение диагностической значимости мутаций в гене миоцилина (*MYOC*) у пациентов из Республики Башкортостан с наследственными формами первичной открытоугольной глаукомы.

Материал и методы

Обследовано 1045 пациентов (496 пациентов с ПОУГ и 589 индивидов из группы контроля), состоящих на учете в Центре лазерного восстановления зрения «Оптимед», МБУЗ «Городская клиническая больница №10», ГБУ «Уфимский научно-исследовательский институт глазных болезней». В исследовании участвовали также члены семей пациентов, а также здоровые доноры, проживающие в Волго-Уральском регионе.

Критерием включения в исследование был диагноз первичная открытоугольная глаукома (H40.1 по МКБ-10), установленный на основании клинических, лабораторно-инструментальных и молекулярно-генетических методов исследований в соответствии с современными диагностическими критериями ПОУГ.

Идентификация мутаций в гене *MYOC* проводилась методом анализа кривых плавления

с высоким разрешением (high resolution melting curve analysis – HRM, HRMA, HRMCA) в реальном времени и последующего ресеквенирования образцов ДНК с измененными кривыми плавления. Молекулярно-генетические исследования, включающие выделение геномной ДНК, амплификацию исследуемых участков генов методом полимеразной цепной реакции, анализ конформационного полиморфизма однонитевых фрагментов ДНК (SSCP-анализ), клонирование с последующим секвенированием, проводились на базе лаборатории ФГБУН Института биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН.

Результаты и обсуждение

Около 97% всех мутаций в гене *MYOC* локализируются в 3-м экзоне и более 30% из них – в области нуклеотидных позиций 361-380 и 420-440, которые кодируют ольфактомединподобный домен миоцилина [6]. Мутаций в гене *MYOC*, вызывающих преждевременную терминацию биосинтеза белка и имеющих наивысшую пенетрантность, известно всего 4: p.Q368X (c.1102C>T, g.171605478G>A, rs74315329), p.W417X (c.1251G>A, g.171605329C>T, rs139804296), p.R91X (c.271C>T, g.171621481G>A, rs143413116) и p.R46X (c.136C>T, g.171621616G>A) [8,7,10]. Наиболее часто встречаемые мутации гена миоцилина: p.Q368X (c.1102C>T) мутация, характерная для 1,6% больных ПОУГ европеоидной расы [3], и p.R46X (c.136C>T), выявляемая у 0,99% азиатских пациентов [2]. На их долю приходится около 40% от всех найденных в гене *MYOC* мутаций [4]. В отношении распространенности мутаций p.Q368X (c.1102C>T), p.N480K (c.1440C>G, c.1440C>A) и p.D380A (c.1138G>C) гена *MYOC* показана расовая и/или этническая специфичность, обусловленная в ряде случаев эффектом основателя, а также, возможно, географической и социальной изоляцией некоторых популяций. p.Q368X идентифицирована у пациентов с ПОУГ из США, Канады, Австралии, Европы, Южной Америки и России [12].

Несмотря на различия в спектре мутаций в гене *MYOC*, выявленные большинством исследователей, общая частота их встречаемости в данном гене у больных ПОУГ в большинстве случаев составляет не более 2-5% [8, 9,11]. Встречающиеся в гене миоцилина мутации неравнозначны по своему фенотипическому проявлению. Так, для мутации p.Q368X характерна более поздняя манифестация заболевания и более доброкачественное течение по сравнению с p.Y437H, p.I477N

и особенно с р.Р370L, которые приводят к развитию ювенильных форм ПОУГ с агрессивным течением [3].

На первом этапе исследований был проведен скрининг мутации р.Q368X (с.1102C>T) в гене *MYOC* у 496 неродственных пациентов и у 589 индивидов из контрольной группы, проживающих в Республике Башкортостан. У 8 неродственных пациентов данная мутация была выявлена в гетерозиготном состоянии, что составило 1,6% всех обследованных семей с ПОУГ. По этнической принадлежности пациенты с мутацией р.Q368X (с.1102C>T) распределились следующим образом: 6 русских, 1 татарин и 1 метис (русский/татарин). У всех пациентов анамнез по ПОУГ был отягощен.

Также были проанализированы 589 образцов ДНК здоровых доноров из группы контроля (русские, татары, башкиры) из Волго-Уральского региона. Мутация р.Q368X (с.1102C>T) в гене *MYOC* была идентифицирована в гетерозиготном состоянии у 1 (0,17%) русского пациента. Носители мутации р.Q368X в гене *MYOC* в течение жизни имеют риск развития заболевания, варьирующий от 60 до 100% [5,6,13].

Учитывая относительное преобладание мутации р.Q368X (с.1102C>T) в гене *MYOC* у пациентов из европейских популяций, достаточно легко объяснить сегрегацию мутантных аллелей в гене *MYOC* среди больных ПОУГ из Республики Башкортостан. У пробанда русской этнической принадлежности с наследственной формой ПОУГ была обнаружена мутация р.Arg422Ser(с.1264C>A) в гене *MYOC* в гетерозиготном состоянии. Данная мутация была выявлена ранее у пробанда в семье с наследственной формой ПОУГ, манифестирующей в раннем возрасте и характеризующейся агрессивным течением. Мутация р.Asn450His (с.1348A>C) в гене *MYOC* выяв-

лена у пробанда метиса (башкир/татарин) также в гетерозиготном состоянии в гене *MYOC*. Обе мутации являются патогенными, поскольку вызывают повреждение ольфакто-мединсвязывающего домена миоцилина. Мутация р.Arg422Ser(с.1264C>A) ранее была описана у пациента с тяжелой формой ПОУГ, манифестирующей в возрасте 25 лет.

Общий вклад идентифицированной у пациентов с ПОУГ мутации р.Q368X (с.1102C>T) в гене *MYOC* составил 0,8%. При оценке тяжести заболевания у пациентов с выявленными мутациями в гене *MYOC* установлено, что для мутации р.Q368X характерна более поздняя манифестация заболевания и более доброкачественное течение по сравнению с мутациями р.Arg422Ser(с.1264C>A) и р.Asn450His (с.1348A>C), которые приводят к развитию более тяжелых, рано манифестирующих форм ПОУГ с агрессивным течением. Встречаемость мутации в гене *MYOC*, установленная в наших исследованиях, сходится с таковой в других популяциях России, что согласуется с данными литературы [12].

Таким образом, остается еще множество нерешенных вопросов в диагностике ПОУГ, решение которых требует комплексного и разностороннего подхода. Клиническая гетерогенность этого заболевания свидетельствует о необходимости идентификации факторов риска, предрасполагающих к развитию повышенного внутриглазного давления в целом, а также к поиску определенных вариантов заболевания и проведения ассоциативных исследований в группах индивидов различной этнической принадлежности с целью разработки персонализированных подходов к своевременной профилактике и лечению.

Работа поддержана грантами РФФИ № 14-04-97002-р_поволжье_а, 14-04-97007_р_поволжье_а, 12-04-97004-р_поволжье_а.

Сведения об авторах статьи:

Джемилева Лилия Усейновна – д.м.н., доцент, с.н.с. лаборатории молекулярной генетики человека ФГБУН «Институт биохимии и генетики» УНЦ РАН. Адрес: 450045, г. Уфа, Проспект Октября, 71. Тел./факс: 8(347) 235-60-88.

Загидуллина Айгуль Шамилевна – к.м.н., доцент кафедры офтальмологии с курсом ИПО ГБОУ ВПО БГМУ Минздрава России. Адрес: 450000, г. Уфа, ул. Ленина, 3. Тел./факс: 8(347) 275-97-65.

Саттарова Римма Разяновна – врач-офтальмолог ЦВЛЗ «Optimed». Адрес: 450008, г. Уфа, ул. 50 лет СССР, 8. Тел./факс: 8(347) 277-60-60.

Александров Аркадий Андреевич – врач-офтальмолог ЦВЛЗ «Optimed». Адрес: 450008, г. Уфа, ул. 50 лет СССР, 8. Тел./факс: 8(347) 277-60-60.

Зайнитова Алия Рифовна – аспирант ФГБУН «Институт биохимии и генетики» УНЦ РАН. Адрес: 450045, г. Уфа, Проспект Октября, 71. Тел./факс: 8(347) 235-60-88.

Лобов Семен Леонидович – к.б.н., м.н.с. лаборатории молекулярной генетики человека ФГБУН «Институт биохимии и генетики» УНЦ РАН. Адрес: 450045, г. Уфа, Проспект Октября, 71. Тел./факс: 8(347) 235-60-88.

Хасанова Рамзиля Рамилевна – аспирант кафедры генетики и фундаментальной медицины ФГБОУ ВПО БГУ. Адрес: 450000, г. Уфа, ул. Заки Валиди, 32. Тел./факс: 8(347) 273-67-78.

Азнабаев Булат Маратович – д.м.н., профессор, зав. кафедрой офтальмологии с курсом ИПО ГБОУ ВПО БГМУ Минздрава России. Адрес: 450000, г. Уфа, ул. Ленина, 3. Тел./факс: (347) 275-97-65.

Хидиятова Ирина Михайловна – д.б.н., в.н.с. лаборатории молекулярной генетики человека ФГБУН «Институт биохимии и генетики» УНЦ РАН. Адрес: 450045, г. Уфа, Проспект Октября, 71. Тел./факс: 8(347) 235-60-88.

Хуснутдинова Эльза Камилевна – д.б.н., зав. лабораторией молекулярной генетики человека ФГБУН «Институт биохимии и генетики» УНЦ РАН. Адрес: 450045, г. Уфа, Проспект Октября, 71. Тел./факс: 8(347) 235-60-88.

ЛИТЕРАТУРА

- Allingham, R. The genetics of primary open-angle glaucoma: a review / R. Allingham, Y. Liu, D.J. Rhee // *Experimental eye research*. – 2009. – Vol. 88, № 4. – P. 837-844.
- Myocilin Polymorphisms and Primary Open-Angle Glaucoma: A Systematic Review and Meta-Analysis / J.W. Cheng [et al.] // *PLoS one*. – 2012. – Vol. 7, № 9. – P. e46632.
- Founder TIGR/myocilin mutations for glaucoma in the Quebec population / M. Faucher [et al.] // *Human molecular genetics*. – 2002. – Vol. 11, № 18. – P. 2077-2090.
- Fingert, J.H. Primary open-angle glaucoma genes / J.H. Fingert // *Eye*. – 2011. – Vol. 25, № 5. – P. 587-595.
- Fuse, N. Genetic bases for glaucoma / N. Fuse // *The Tohoku journal of experimental medicine*. – 2010. – Vol. 221, № 1. – P.1-10.
- Myocilin levels in primary open-angle glaucoma and pseudoexfoliation glaucoma human aqueous humor / K.G. Howell [et al.] // *Journal of glaucoma*. – 2010. – Vol. 19, № 9. – P. 569
- Low prevalence of myocilin mutations in an African American population with primary open-angle glaucoma / W. Liu [et al.] // *Molecular vision*. – 2012. – Vol. 18. – P. 2241.
- Liu, Y. Glaucoma. Chapter / Y. Liu, R.R. Allingham // *Genomic and Personalized Medicine*, 2nd edition. by Ginsburg & Willard. – 2013. – Vol. 1, № 2. – P. 1082-1094.
- Liu, Y. Molecular genetics in glaucoma / Y. Liu, R. Allingham // *Experimental eye research*. – 2011. – Vol. 93, № 4. – P. 331-339.
- Novel and known MYOC exon 3 mutations in an admixed Peruvian primary open-angle glaucoma population / V. Mendoza-Reinoso [et al.] // *Molecular Vision*. – 2012. – Vol. 18. – P. 2067.
- Quigley, H.A. The number of people with glaucoma world-wide in 2010 and 2020 / H.A. Quigley, A.T. Broman // *British Journal of Ophthalmology*. – 2006. – Vol. 90. – P. 262-267.
- Mutations and polymorphisms in the genes for myocilin and optineur in as the risk factors of primary open-angle glaucoma / V.V. Rakhmanov [et al.] // *Genetika*. – 2005. – Vol. 41, № 11. – P. 1567.
- Clinical implications of old and new genes for open-angle glaucoma/ W.D. Ramdas [et al.] // *Ophthalmology*. – 2011. – Vol. 118, № 12. – P. 2389-2397.
- World Health Organization (WHO), <http://www.who.int/topics/blindness> (Accessed June 14, 2013).

УДК 617.72

А.Ш. Загидуллина, Р.Р. Саттарова, Р.А. Батыршин, Р.А. Абраров, Г.Ф. Муллағалиева, Р.Р. Кутлугалямова, 2015

А.Ш. Загидуллина¹, Р.Р. Саттарова², Р.А. Батыршин¹,
Р.А. Абраров¹, Г.Ф. Муллағалиева¹, Р.Р. Кутлугалямова¹

ОПРЕДЕЛЕНИЕ РИСКА РАЗВИТИЯ ПЕРВИЧНОЙ ЗАКРЫТОУГОЛЬНОЙ ГЛАУКОМЫ НА ОСНОВАНИИ ОФТАЛЬМОБИОМЕТРИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ ГЛАЗА

¹ГБОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет»

Минздрава России, г. Уфа

²Центр лазерного восстановления зрения «Optimed», г. Уфа

Нами проанализированы показатели ультразвуковой эхобиометрии 40 пациентов (80 глаз) с первичной закрытоугольной глаукомой и 40 здоровых лиц (80 глаз). Исследование показало низкую чувствительность теста «relative lens position» (RLP) (22,5%) при достаточно высокой специфичности и высокую чувствительность индекса офтальмобиометрического фактора (ОБФ) (100%) при крайне низкой специфичности. Показано, что применение данных методов в клинической практике имеет ряд ограничений и существует необходимость создания новых тестов определения риска развития первичной закрытоугольной глаукомы с учетом анатомических параметров глаза.

Ключевые слова: первичная закрытоугольная глаукома, офтальмобиометрические тесты, чувствительность, специфичность, точность.

A.Sh. Zagidullina, R.R. Sattarova, R.A. Batyrshin,
R.A. Abrarov, G.F. Mullagalieva, R.R. Kutlugalyamova

RISK OF PRIMARY ANGLE-CLOSURE GLAUCOMA DEVELOPMENT BASED ON EYE OPHTHALMOBIOMETRIC PARAMETERS

We have analyzed the echo biometry parameters of 40 patients (80 eyes) with primary angle-closure glaucoma and 40 healthy subjects (80 eyes). The study showed a low sensitivity of the test relative lens position (RLP) (22,5%) at a high enough specificity, and high sensitivity of OBF index (100 %) with a very low specificity. The data obtained revealed that the use of these methods in clinical practice is limited, and there is a need for new tests to determine the risk of primary angle-closure glaucoma development taking into account anatomical parameters of the eye.

Key words: primary angle-closure glaucoma, ophthalmobiometric tests, sensitivity, specificity, accuracy.

Одно из первых мест среди причин необратимой слепоты, слабовидения и первичной инвалидности в мире занимает глаукома [2,12]. В России уровень общей заболеваемости достигает 918,0 случая на 100 000 взрослого населения. Первичная закрытоугольная глаукома (ПЗУГ) с относительным зрачковым блоком в европейских странах составляет до 10-15% всех случаев глаукомы [3]. По данным

рядов авторов, в странах Азии доля ПЗУГ может достигать до 80% [9]. ПЗУГ зачастую встречается у лиц работоспособного возраста и в короткие сроки может приводить к значительной потере зрения, вплоть до слепоты.

Взаимосвязь анатомических размеров глазного яблока, сагиттальных размеров анатомических структур глаза и риска развития ПЗУГ в настоящий момент не вызывает со-