

# Роль полиморфизма rs2075575 гена аквапорина 4 в развитии первичной открытоугольной глаукомы

Собанчеев Е.В., Витковский Ю.А., Емельянов А.С., Емельянова А.Н., Жаринова Е.А., Бадмаева Н.А., Савина М.С.

ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации  
Чита, Россия

**Актуальность.** Несмотря на всестороннее изучение патогенеза первичной открытоугольной глаукомы (ПОУГ), механизмы возникновения заболевания до конца не изучены. В настоящее время определена роль аквапоринов в регуляции внутриглазного давления. Были обнаружены мутации, усиливающие и снижающие функции аквапорина 4, описано влияние различных генетических вариантов аквапоринов на величину внутриглазного давления.

**Цель исследования.** Исследовать частоту встречаемости вариантов полиморфизма rs2075575 (C/T) гена аквапорина 4 у больных ПОУГ.

**Материалы и методы.** В исследовании приняли участие 101 пациент с ПОУГ и 80 здоровых людей (контрольная группа). Возраст исследуемых колебался от 45 до 87 лет. Средний возраст составил 66 лет. Критерием включения в основную группу служил диагноз ПОУГ развитой, далеко зашедшей и терминальной стадий. Критериями включения в контрольную группу служили возраст старше 60 лет, отсутствие глаукомы и выраженной соматической патологии. ДНК выделяли из буккального эпителия. Полиморфизм гена аквапорина 4 rs2075575 определяли методом полимеразной цепной реакции.

**Результаты.** Установлено, что распределение генотипов у пациентов с ПОУГ отличается от группы здоровых лиц. Обнаружено, что генотип CC среди больных глаукомой встречается в 1,8 раза чаще, чем в контрольной группе. Наоборот, генотип CT выявляется в 1,5 раза чаще в контрольной группе. Отношение шансов (OR) для генотипа CC равно 2,48 (95% CI 1,30–4,74). У генотипа CT выявляется протекторная роль, OR = 0,52 (95% CI 0,28–0,97). Частота встречаемости генотипа TT в исследуемых группах не различается.

**Выводы.** Полиморфный вариант rs2075575 (C/T) гена аквапорина 4 вносит вклад в риск развития ПОУГ в исследованной выборке.

**Ключевые слова:** глаукома, аквапорин 4, полиморфизм, внутриглазное давление.

Для цитирования: Собанчеев Е.В., Витковский Ю.А., Емельянов А.С., Емельянова А.Н., Жаринова Е.А., Бадмаева Н.А., Савина М.С. Роль полиморфизма rs2075575 гена аквапорина 4 в развитии первичной открытоугольной глаукомы. *Медицинская генетика* 2019; 18(12): 16-20.  
DOI: 10.25557/2073-7998.2019.12.16-20

**Автор для корреспонденции:** Собанчеев Евгений Владимирович, e-mail: EVS88@inbox.ru

**Финансирование.** Работа выполнена в рамках научной тематики ФБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов.

**Поступила:** 30.10.2019

## The role of rs2075575 polymorphism of the aquaporin 4 gene in the development of primary open-angle glaucoma

Sobancheev E.V., Vitkovskiy Yu.A., Emelyanov A.S., Emelyanova A.N., Zharinova E.A., Badmaeva N.A., Savina M.S.

Chita State Medical Academy  
Chita, Russia

**Background.** Despite a comprehensive study of the pathogenesis of the disease, the mechanisms of primary open-angle glaucoma are not completely clear. Currently, the role of aquaporins in the regulation of intraocular pressure has been determined. Mutations were discovered that enhance and decrease the functions of aquaporin 4. The effect of various genetic variants of aquaporins on the value of intraocular pressure is described.

**The aim of research.** To investigate the variability of the polymorphism of aquaporin 4 rs2075575 (C / T) in patients with glaucoma.

**Materials and methods.** 101 persons with primary open-angle glaucoma and 80 persons without glaucoma (the control group) were examined. The age of the subjects ranged from 45 to 87 years. The average age was 66 years. The criterion for inclusion in the main group was the diagnosis of primary open-angle glaucoma of a developed, distant and terminal stage. The criteria for inclusion in the control group were age over 60 years, the absence of glaucoma, the absence of pronounced somatic pathology. DNAs were extracted from buccal epithelium. The polymerase chain reaction (PCR) method was used to determine the polymorphism of the aquaporin gene 4 rs2075575.

**Results.** There was a significant difference in the distribution of genotypes in the study and control groups. CC genotype among patients with glaucoma occurs 1.8 times more often than in the control group. CT genotype, on the contrary, is 1.5 times more

often in the control group. The odds ratio (OR) for this genotype is 2.48 (95% CI 1.30 - 4.74). The CT genotype reveals a protective role, OR = 0.52 (95% CI 0.28 - 0.97). The genotype of TT in the studied groups is slightly different in frequency of occurrence.

**Conclusion.** The frequencies of gene polymorphisms of aquaporin 4 rs2075575 (C/T) in patients with primary open-angle glaucoma and healthy were diverse. The likelihood of developing primary open-angle glaucoma is increased in carriers of the CC genotype. Genotype CT play a protective role for primary open-angle glaucoma.

**Key words:** glaucoma, aquaporin 4, polymorphism, intraocular pressure.

**For citation:** Sobanchev E.V., Vitkovskiy Yu.A., Emelyanov A.S., Emelyanova A.N., Zharinova E.A., Badmaeva N.A., Savina M.S. The role of rs2075575 polymorphism of the aquaporin 4 gene in the development of primary open-angle glaucoma. *Medical genetics* 2019; 18(12): 16-20. [In Rus]

**DOI:** 10.25557/2073-7998.2019.10.16-20

**Corresponding author.** Sobanchev Evgeniy, e-mail: EVS88@inbox.ru.

**Funding.** This work was carried out as part of scientific work of the Chita State Medical Academy.

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

**Accepted:** 30.10.2019

## Введение

Число больных глаукомой в мире составляет 66 млн человек, но к 2020 г. их количество, возможно, возрастет до 79,6 млн. По расчетам, к 2030 г. число больных глаукомой может увеличиться в 2 раза [1].

Первичная открытоугольная глаукома (ПОУГ) — это группа многофакторных заболеваний, при которых поражаются зрительный нерв и ганглионарные клетки сетчатки [2].

Одним из ключевых механизмов повреждения зрительного нерва при глаукоме является клинически значимое повышение внутриглазного давления (ВГД) [3].

Несмотря на всестороннее изучение патогенеза заболевания, механизмы возникновения глаукомы до конца не изучены. Углубление этих знаний позволило бы обосновать не только патогенетическую терапию глаукомы, но и найти подходы для профилактики этого заболевания. Одним из направлений лечения глаукомы является снижение ВГД.

Основными факторами, определяющими величину ВГД являются показатели секреции жидкости мерцательным эпителием цилиарного тела и ее дренажа по Шлеммову каналу. Мерцательный эпителий секретирует изотоническую внутриглазную жидкость с участием солевого транспорта. Дренаж жидкости включает в себя активируемый давлением объемный поток жидкости через Шлеммов канал и движение жидкости путем просачивания через цилиарные мышцы и супрацилиарное пространство [4].

Акваторины — интегральные мембранные белки из более широкого семейства основных внутренних белков (MIP), образующие поры в мембране клеток [5], через которые вода может проходить внутрь клетки быстрее, чем путем диффузии через фосфолипидный бислой [6]. Акваторины определяются в эпителии и эндотелии, участвующих в транспорте жидкости.

Ген, кодирующий аквапорин 4, расположен на хромосоме 18. Полиморфизм rs2075575 (C/T) гена аквапорина 4 расположен в промоторной области гена [7]. К настоящему времени обнаружены мутации в гене аквапорина 4, которые усиливают и снижают его функции [8].

Продукт гена *AQP4* играет значительную роль в развитии отека мозга. При острой водной интоксикации и ишемическом инсульте AQP4-нулевые мыши демонстрируют меньший отек мозга, лучшие неврологические исходы, а также лучшую выживаемость, чем мыши дикого типа [9]. Исследования полиморфизма генов аквапоринов показали отличия в их распределении у больных, склонных к тяжелым формам отека мозга после травмы от здоровых лиц [10]. В свою очередь, обнаружена ассоциация между генотипами СТ/ТТ полиморфизма rs2075575 гена аквапорина 4 и синдромом внезапной младенческой смерти, что указывает на их роль, как предрасполагающих факторов. Младенцы с генотипом, включающим Т-аллель (СТ или ТТ), имели более высокое соотношение массы мозга/тела, чем дети с генотипом СС, из чего авторы делают вывод о том, что изменение гена аквапорина 4 может способствовать отеку мозга [7]. Генетические вариации аквапорина 4 могут быть фактором риска лейкоареоза. При этом заболевании частота генотипов СТ и ТТ полиморфизма rs2075575 у больных значительно выше, чем у здоровых лиц [11].

Описана роль полиморфизма rs2075575 при аквапорин 4-антителоположительном нейромиелите зрительного нерва (болезнь Девика). Частота аллеля Т полиморфизма rs2075575 у пациентов с аквапорин4-антителоположительным нейромиелитом зрительного нерва значительно выше, чем в контрольной группе [12].

Аквапорин 4 определяется в апикальных и базолатеральных мембранах беспигментного цилиарного эпителия, в эндотелии трабекулярной сети [13], а также в клетках Мюллера и астроцитах [14, 15].

Обнаружено значительное снижение ВГД у мышей, лишенных аквапорина 1 и/или аквапорина 4 по сравнению с мышами дикого типа, и это объяснялось уменьшением выработки внутриглазной жидкости, а не изменением ее оттока [16]. Показано, что трансклеточный перенос воды не играет роли в оттоке внутриглазной жидкости, несмотря на экспрессию аквапоринов в трабекулярной сети и эндотелии Шлеммова канала [17]. Вместо этого предлагается парацеллюлярный путь оттока, где объем клеток трабекулярной сети и, следовательно, пространство для оттока, контролируется аквапоринами.

Таким образом, снижение ВГД при дефиците функции аквапорина 4 является следствием сокращения выработки жидкости, связанным с нарушениями изомолярной секреции жидкости мерцательным эпителием или же улучшением ее парацеллюлярного оттока через трабекулярную сеть за счет расширения ее пор.

Эти открытия подталкивают к более глубокому изучению аквапоринов при ПОУГ, включающему не только определение их экспрессии, но и анализ полиморфных вариантов кодирующих их генов. Изменение функции аквапорина 4 представляет собой возможную стратегию для снижения ВГД у пациентов с глаукомой [18].

**Цель исследования:** исследовать частоты встречаемости вариантов полиморфизма rs2075575 (C/T) гена аквапорина 4 у больных глаукомой.

## Методы

В исследовании приняли участие 101 пациент с ПОУГ и 80 здоровых людей (контрольная группа). Возраст исследуемых колебался от 45 до 87 лет. Средний возраст составил 66 лет. Критерием включения в основную группу служил диагноз ПОУГ развитой, далеко зашедшей и терминальной стадий. Диагноз глаукомы подтверждался данными биомикроскопии переднего отрезка глаза, осмотра глазного дна, тонометрии, компьютерной периметрии, оптической когерентной томографии диска зрительного нерва. Критериями включения в контрольную группу служили возраст старше 60 лет, отсутствие глаукомы и выраженной соматической патологии.

ДНК выделяли из буккального эпителия. Полиморфизм гена аквапорина 4 rs2075575 определяли ме-

тодом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с использованием наборов реактивов фирмы «Химэксперт».

Статистический анализ полученных данных проводился с использованием программ Excel и Statistica 9.0. Проверка на равновесие Харди-Вайнберга проводилась с использованием калькулятора HWE [19]. При сравнении частот аллелей и генотипов по качественному бинарному признаку пользовались критерием  $\chi^2$ . Степень риска развития событий оценивали по величине отношения шансов (OR) с расчетом для него 95% доверительного интервала (CI 95%).

В работе с обследуемыми лицами соблюдались этические принципы, предъявляемые Хельсинкской Декларацией Всемирной Медицинской Ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki) 1964 г. с поправками 2013 г. и Правилами клинической практики в Российской Федерации, утвержденными Приказом Минздрава РФ (от 19.06.2003 г., №266).

## Результаты

Нами проведен анализ частот аллелей и генотипов rs2075575 (C/T) гена аквапорина 4. Распределение полиморфных вариантов представлено в **табл. 1**.

Распределение частот генотипов в группе больных глаукомой не соответствует равновесию Харди-Вайнберга ( $\chi^2=18,94$ ,  $p<0,05$ ) (**табл. 2**). В связи с этим, для оценки различия в распределениях может быть применена общая модель наследования. При ее использовании выявлено достоверное отличие распределения генотипов в исследуемой и контрольной группах ( $\chi^2=8,25$ ,  $p=0,02$ ). В группе контроля это равновесие выполняется ( $\chi^2=1,6$ ,  $p=0,21$ ) (**табл. 3**).

Установлено, что генотип CC среди больных глаукомой встречается в 1,8 раза чаще, чем в контрольной группе. Генотип CT, наоборот, в 1,5 раза чаще выявляется в контрольной группе. Таким образом, носительство генотипа CC увеличивает вероятность развития первичной ПОУГ. Отношение шансов **для этого генотипа равно** 2,48 (95% CI 1,30–4,74). Генотип CT играет протекторную роль, OR = 0,52 (95% CI 0,28–0,97) (**табл. 4**). Частота встречаемости генотипа TT в исследуемых группах не отличается.

## Обсуждение

Наша гипотеза состоит в том, что в нарушении водного гомеостаза в глазу может играть роль продукт гена аквапорина 4. Достоверное отличие в распределении генотипов полиморфизма rs 2075575 гена аквапорина 4 у больных глаукомой указывает на его роль

в развитии глаукомы. Мы считаем, что генотип СС приводит к увеличению ВГД за счет увеличения выработки внутриглазной жидкости клетками мерцательного эпителия цилиарного тела за счет увеличения функции аквапорина 4. Для подтверждения этого предположения требуется определение продукции и оттока внутриглазной жидкости у носителей разных генотипов полиморфизма rs2075575 гена аквапорина 4.

Мы предполагаем, что генетические маркеры, определенные в этом исследовании, могут способство-

вать пониманию патогенеза глаукомы и механизмов регуляции внутриглазного давления.

### Заключение

Частоты встречаемости генотипов rs2075575 (С/Т) гена аквапорина 4 различаются у больных ПОУГ и здоровых лиц. У носителей генотипа СС увеличена вероятность развития ПОУГ. Генотип СТ выполняет протекторную роль в развитии заболевания.

Таблица 1

Распределение полиморфных вариантов rs2075575 (С/Т) гена аквапорина 4

| Генотипы | Больные глаукомой | Контрольная группа |
|----------|-------------------|--------------------|
| СС       | 44                | 19                 |
| СТ       | 28                | 34                 |
| ТТ       | 29                | 27                 |
| сумма    | 101               | 80                 |
| аллели   |                   |                    |
| С        | 116               | 72                 |
| Т        | 86                | 88                 |
|          | 202               | 160                |

Таблица 2

Тест Харди-Вайнберга в группе больных глаукомой

| Генотипы   | Больные глаукомой | HWE   | $\chi^2$<br>df = 1 | p      |
|------------|-------------------|-------|--------------------|--------|
|            | n = 101           |       |                    |        |
| Генотип СС | 0,436             | 0,330 | 18,94              | p<0,05 |
| Генотип СТ | 0,277             | 0,489 |                    |        |
| Генотип ТТ | 0,287             | 0,181 |                    |        |

Таблица 3

Тест Харди-Вайнберга для контрольной группы

| Генотипы   | Контрольная группа | HWE   | $\chi^2$<br>df = 1 | p    |
|------------|--------------------|-------|--------------------|------|
|            | n = 80             |       |                    |      |
| Генотип СС | 0,238              | 0,203 | 1,60               | 0,21 |
| Генотип СТ | 0,425              | 0,495 |                    |      |
| Генотип ТТ | 0,338              | 0,303 |                    |      |

Таблица 4

Сравнение частот генотипов полиморфизма rs2075575 (С/Т) гена аквапорина 4

| Генотипы   | Больные глаукомой | Контрольная группа | $\chi^2$<br>df = 2 | p    | OR    |           |
|------------|-------------------|--------------------|--------------------|------|-------|-----------|
|            | n = 101           | n = 80             |                    |      | знач. | 95% CI    |
| Генотип СС | 0,436             | 0,238              | 8,25               | 0,02 | 2,48  | 1,30–4,74 |
| Генотип СТ | 0,277             | 0,425              |                    |      | 0,52  | 0,28–0,97 |
| Генотип ТТ | 0,287             | 0,338              |                    |      | 0,79  | 0,42–1,49 |

## Список литературы

1. Quigley H.A. The number of people with glaucoma worldwide in 2010 and 2020. *Br. J. Ophthalmol.* 2006; 90:262–270.
2. Логунов Н.А., Витковский Ю.А., Харинцева С.В. Полиморфизм G2891A гена кавеолина у здоровых и больных первичной открытоугольной нормотензивной глаукомой. *Забайкальский медицинский вестник.* 2014; 2:17–20.
3. Casson R.J., Chidlow G., Wood J.P. et al. Definition of glaucoma: Clinical and experimental concepts. *Clinical & Experimental Ophthalmology.* 2012;40(4):341–343.
4. Johnstone M.A., Grant W.M. Pressure-dependent change in structures of the aqueous outflow system of human and monkey eyes. *Am. J. Ophthalmol.* 1973; 75:365–383.
5. Agre P. The aquaporin water channels. *Proc Am Thorac Soc.* 2006;(1):5–13.
6. Cooper G. *The Cell: A Molecular Approach.* ASM PRESS. 2009; 544–549.
7. Opdal S.H., Vege A., Stray-Pedersen A., Rognum T.O. Aquaporin-4 gene variation and sudden infant death syndrome. *Pediatr Res.* 2010; 68:48–51.
8. Sorani M.D., Manley G.T., Giacomini K.M. Genetic variation in human aquaporins and effects on phenotypes of water homeostasis. *Human Mutation.* 2008; 29:1108–1117.
9. Manley G.T., Fujimura M., Ma T. et al. Aquaporin-4 deletion in mice reduces brain edema after acute water intoxication and ischemic stroke. *Nature Medicine.* 2000; 6:159–163.
10. Rabinstein A.A. Treatment of cerebral edema. *Neurologist.* 2006; 12:59–73.
11. Yadav B.K., Oh S.Y., Kim N.K. et al. Association of rs2075575 and rs9951307 polymorphisms of AQP-4 gene with leukoaraiosis. *J Stroke Cerebrovasc Dis.* 2014; 23:1199–1206.
12. Ogasawara M., Meguro A., Sakai T. et al. Genetic analysis of the aquaporin-4 gene for anti-AQP4 antibody-positive neuromyelitis optica in a Japanese population. *Jpn J Ophthalmol.* 2016; 60:198.
13. Hamann S., Zeuthen T., La Cour M. et al. Aquaporins in complex tissues: distribution of aquaporins 1–5 in human and rat eye. *Am. J. Physiol.* 1998;1332–1345.
14. Nagelhus E.A., Horio Y., Inanobe A. et al. Immunogold evidence suggests that coupling of K<sup>+</sup> siphoning and water transport in rat retinal Muller cells is mediated by a coenrichment of Kir4.1 and AQP4 in specific membrane domains. *Glia.* 1999; 26:47–54.
15. Tenckhoff S., Hollborn M., Kohen L. et al. Diversity of aquaporin mRNA expressed by rat and human retinas. *Neuroreport.* 2005; 16:53–56.
16. Zhang D., Vetrivel L., Verkman A.S. Aquaporin deletion in mice reduces intraocular pressure and aqueous fluid production. *J Gen Physiol.* 2002; 119:561–569.
17. Stamer W.D., Chan D.W., Conley S.M. et al. Aquaporin-1 expression and conventional aqueous outflow in human eyes. *Exp Eye Res.* 2008; 87:349–355.
18. Agre P., Kozono D. Aquaporin water channels: molecular mechanisms for human diseases. *FEBS Lett.* 2003;555(1): 72–78.
19. Rodriguez S., Gaunt T.R., Day I.N. Hardy-Weinberg equilibrium testing of biological ascertainment for Mendelian randomization studies. *Am J Epidemiol.* 2009; 169:505–514.

## References

1. Quigley H.A. The number of people with glaucoma worldwide in 2010 and 2020. *Br. J. Ophthalmol.* 2006; 90:262–270.
2. Logunov N.A., Vitkovskiy Yu.A., Kharintseva S.V. Polimorfizm G2891A gena kaveolina u zdorovykh i bol'nykh pervichnoy otkrytoy-nol'noy normotenzivnoy glaukomoy [Polymorphism G2891A of the caveolin gene in healthy and patients with primary open-angle normotensive glaucoma]. *Zabaykal'skiy meditsinskiy vestnik [Trans-Baikal Medical Bulletin].* 2014; 2:17–20. (In Russ.)
3. Casson R.J., Chidlow G., Wood J.P. et al. Definition of glaucoma: Clinical and experimental concepts. *Clinical & Experimental Ophthalmology.* 2012;40(4):341–343.
4. Johnstone M.A., Grant W.M. Pressure-dependent change in structures of the aqueous outflow system of human and monkey eyes. *Am. J. Ophthalmol.* 1973; 75:365–383.
5. Agre P. The aquaporin water channels. *Proc Am Thorac Soc.* 2006;(1):5–13.
6. Cooper G. *The Cell: A Molecular Approach.* ASM PRESS. 2009; 544–549.
7. Opdal S.H., Vege A., Stray-Pedersen A., Rognum T.O. Aquaporin-4 gene variation and sudden infant death syndrome. *Pediatr Res.* 2010; 68:48–51.
8. Sorani M.D., Manley G.T., Giacomini K.M. Genetic variation in human aquaporins and effects on phenotypes of water homeostasis. *Human Mutation.* 2008; 29:1108–1117.
9. Manley G.T., Fujimura M., Ma T. et al. Aquaporin-4 deletion in mice reduces brain edema after acute water intoxication and ischemic stroke. *Nature Medicine.* 2000; 6:159–163.
10. Rabinstein A.A. Treatment of cerebral edema. *Neurologist.* 2006; 12:59–73.
11. Yadav B.K., Oh S.Y., Kim N.K. et al. Association of rs2075575 and rs9951307 polymorphisms of AQP-4 gene with leukoaraiosis. *J Stroke Cerebrovasc Dis.* 2014; 23:1199–1206.
12. Ogasawara M., Meguro A., Sakai T. et al. Genetic analysis of the aquaporin-4 gene for anti-AQP4 antibody-positive neuromyelitis optica in a Japanese population. *Jpn J Ophthalmol.* 2016; 60:198.
13. Hamann S., Zeuthen T., La Cour M. et al. Aquaporins in complex tissues: distribution of aquaporins 1–5 in human and rat eye. *Am. J. Physiol.* 1998;1332–1345.
14. Nagelhus E.A., Horio Y., Inanobe A. et al. Immunogold evidence suggests that coupling of K<sup>+</sup> siphoning and water transport in rat retinal Muller cells is mediated by a coenrichment of Kir4.1 and AQP4 in specific membrane domains. *Glia.* 1999; 26:47–54.
15. Tenckhoff S., Hollborn M., Kohen L. et al. Diversity of aquaporin mRNA expressed by rat and human retinas. *Neuroreport.* 2005; 16:53–56.
16. Zhang D., Vetrivel L., Verkman A.S. Aquaporin deletion in mice reduces intraocular pressure and aqueous fluid production. *J Gen Physiol.* 2002; 119:561–569.
17. Stamer W.D., Chan D.W., Conley S.M. et al. Aquaporin-1 expression and conventional aqueous outflow in human eyes. *Exp Eye Res.* 2008; 87:349–355.
18. Agre P., Kozono D. Aquaporin water channels: molecular mechanisms for human diseases. *FEBS Lett.* 2003;555(1): 72–78.
19. Rodriguez S., Gaunt T.R., Day I.N. Hardy-Weinberg equilibrium testing of biological ascertainment for Mendelian randomization studies. *Am J Epidemiol.* 2009; 169:505–514.