



Сафонова Т.Н.¹, Зайцева Г.В.¹ ✉, Бурденный А.М.², Логинов В.И.²

¹ Научно-исследовательский институт глазных болезней, Москва, Россия

² Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии, Москва, Россия

Возможности генотипирования в определении этиологии синдрома сухого глаза

Конфликт интересов: не заявлен.

Подана: 03.12.2021

Принята: 10.05.2022

Контакты: privezentseva.galya@mail.ru

Резюме

Этиология синдрома сухого глаза (ССГ), также называемого сухим кератоконъюнктивитом, разнообразна. Существует большое количество факторов риска развития заболевания, и их число увеличивается. Проведенные до настоящего времени исследования в данной области неполно отражают патогенетические механизмы и закономерности развития синдрома ССГ. Объективное офтальмологическое обследование с изучением анамнестических данных не всегда позволяет комплексно оценить состояние глазной поверхности, прогнозировать течение ССГ и, главное, установить причину заболевания. Знание патогенетических особенностей синдрома важно для его своевременной диагностики и последующего лечения. Молекулярно-генетический анализ может помочь в определении этиологии ССГ при проведении дифференциальной диагностики, обеспечивая тем самым персонализированный подход при назначении терапии.

Цель. Определить этиологию ССГ на основе генотипирования полиморфных маркеров генов THBS1, GTF2I, MUC1, TRIM21, STAT4, PTPN22.

Материалы и методы. Обследовано 108 пациентов с ССГ различной этиологии. Всем пациентам проводили импрессионно-цитологическое исследование конъюнктивы и лазерную сканирующую конфокальную микроскопию. Генетическое исследование осуществляли методом анализа кривых плавления ДНК.

Результаты. С высокой степенью достоверности была доказана ассоциация маркера rs4144331 гена TRIM21 с риском развития ССГ на фоне первичного синдрома Шегрена (ПСШ), ревматоидного артрита (РА). Для маркера rs7582694 гена STAT4 установлена достоверная ассоциация с риском развития ССГ на фоне ПСШ. При анализе распределения частот генотипов полиморфных маркеров гена PTPN22 установлена достоверная ассоциация с риском развития ССГ на фоне ПСШ. Для предрасполагающего генотипа ТТ полиморфного маркера rs117026326 гена GTF2I выявлена ассоциация с риском развития ССГ ($p=0,095$) и ПСШ ($p=0,075$) на уровне тенденции, ассоциации с риском развития ССГ на фоне РА не установлено.

Заключение. Выявленные гены-предикторы (THBS1, MUC1, TRIM21, STAT4, PTPN22, GTF2I) позволяют установить этиологию развития ССГ.



Ключевые слова: синдром сухого глаза, полиморфные маркеры, гены THBS1, MUC1, TRIM21, STAT4, PTPN22, GTF2I, первичный синдром Шегрена, ревматоидный артрит

Safonova T.¹, Zaitseva G.¹ ✉, Burdenny A.², Loginov V.²

¹ Research Institute of Eye Diseases, Moscow, Russia

² Research Institute of General Pathology and Pathophysiology, Moscow, Russia

Genotyping Possibilities in Determining the Etiology of Dry Eye Disease

Conflict of interest: nothing to declare.

Submitted: 03.12.2021

Accepted: 10.05.2022

Contacts: privezentseva.galya@mail.ru

Abstract

The etiology of dry eye disease (DED), also called dry keratoconjunctivitis, is diverse. There are a large number of risk factors for the development of the disease, the number of which is increasing. The studies conducted so far in this area do not fully reflect the pathogenetic mechanisms and patterns of development of the DED. An objective ophthalmological examination with the study of anamnestic data will not always allow a comprehensive assessment of the condition of the eye surface, predict the course of DED and, most importantly, determine the cause of the disease. Knowledge of the pathogenetic features of the syndrome is important for its timely diagnosis and subsequent treatment. Molecular genetic analysis can help in determining the etiology of DED during differential diagnosis, thereby providing a personalized approach when prescribing therapy.

Purpose. To determine the etiology of DED based on genotyping of polymorphic markers of the genes THBS1, GTF2I, MUC1, TRIM21, STAT4, PTPN22.

Materials and methods. 108 patients with DED of various etiologies were examined. All patients underwent an impression-cytological examination of the conjunctiva and laser scanning confocal microscopy. The genetic study was carried out by analyzing the melting curves of DNA.

Results. The association of the marker rs4144331 of the TRIM21 gene with the risk of developing DED on the background of primary Sjogren's syndrome (PSS), on the background of rheumatoid arthritis (RA) was proved with a high degree of reliability. For the marker rs7582694 of the STAT4 gene, a reliable association with the risk of developing DED against the background of PSS was established. When analyzing the frequency distribution of genotypes of polymorphic markers of the PTPN22 gene, a reliable association with the risk of developing DED against the background of PSS was established. For the predisposing TT genotype of the polymorphic marker rs117026326 of the GTF2I gene, an association with the risk of developing DED ($p=0.095$) and PSS ($p=0.075$) was revealed at the trend level, an association with the risk of developing DED against the background of RA was not established.

Conclusion. The revealed predictor genes (THBS1, MUC1, TRIM21, STAT4, PTPN22, GTF2I) allow us to establish the etiology of the development of DED.

Keywords: dry eye disease, polymorphic markers, THBS1, MUC1, TRIM21, STAT4, PTPN22, GTF2I genes, primary Sjogren's syndrome, rheumatoid arthritis

■ ВВЕДЕНИЕ

По результатам, опубликованным исследовательской группой Dry Eye Workshop в 2017 г., синдром сухого глаза (ССГ) представляет собой полиэтиологическое заболевание. Следует отметить его достаточно высокую распространенность в различных регионах мира, которая составляет 5–75% от общей популяции [1, 2]. Это заболевание относят к актуальной проблеме здравоохранения во всем мире, которая имеет большую значимость для людей различных рас, возраста и пола [2]. Согласно официальному определению Международной рабочей группы по исследованию сухого глаза TFOS DEWS-II «синдром сухого глаза» представляет собой многофакторное заболевание глазной поверхности, характеризующееся потерей гомеостаза слезной пленки и сопровождающееся глазными симптомами, на почве нестабильности слезной пленки, гиперосмолярности, воспаления, повреждения глазной поверхности и нейросенсорных нарушений» [1]. Существующие классификации ССГ основаны на различиях в этиологии, патогенезе, клинических проявлениях, степени тяжести заболевания. Согласно Мадридской классификации при установлении диагноза ССГ он должен удовлетворять трем критериям:

- 1) этиопатогенезу (причины развития заболевания были сгруппированы в 10 подгрупп: возрастную, гормональную, фармакологическую, иммунопатогенетическую, генетическую, воспалительную, травматическую, нейродеривативную, алиментарную, танталическую);
- 2) наличию дисфункции экзокринных желез, приводящей к недостаточности водно-белковой фракции, липидного и муцинового слоев;
- 3) выявлению одной из трех степеней тяжести клинических проявлений заболевания.

J. Murube было предложено разделить ССГ на две формы: гипосекреторную, связанную с поражением слезных желез, и эвапоративную [4].

Эффективность лечения ССГ во многом зависит от этиологии процесса и сроков установления диагноза с момента манифестации заболевания. Наиболее трудно поддается терапевтической коррекции ССГ аутоиммунной этиологии. При выборе тактики лечения необходимо выявление этиологических факторов. С этой целью проводят комплекс диагностических исследований, поскольку чувствительность и специфичность каждого теста в отдельности не превышает 80%. Диагностический алгоритм ССГ, использующийся в настоящее время, включает: сбор анамнеза заболевания и анализ факторов риска, проведение стандартных и дополнительных офтальмологических методов обследования органа зрения. К дополнительным методам относят: определение индекса поражения глазной поверхности – Ocular Surface Disease Index (OSDI) [3], проведение функциональных проб (тест Ширмера, проба Норна), определение осмолярности слезной пленки и окрашивание глазной поверхности витальными красителями (флуоресцеином и лиссаминовым зеленым). Данные



методы обследования позволяют выявить нарушения гомеостаза слезной пленки и поставить диагноз «синдром сухого глаза». Используемые в ходе обследования методы мейбографии, интерферометрии липидного слоя, импрессионно-цитологического исследования конъюнктивы, лазерной конфокальной биомикроскопии роговицы детализируют поражение структур глазной поверхности, но не могут служить критериями при определении этиологии изменения глазной поверхности.

Исследования последнего десятилетия продемонстрировали роль молекулярно-генетических нарушений в развитии ССГ [3–5]. С высокой степенью достоверности установлен вклад полиморфных маркеров генов THBS1, GTF2I, MUC1, TRIM21, STAT4, PTPN22 в риск развития ССГ при ревматоидном артрите и синдроме Шегрена [6, 7]. Полученные данные позволяют не только установить и прогнозировать развитие ССГ при указанных заболеваниях, но и дифференцировать этиологию поражения глазной поверхности при этих системных аутоиммунных процессах. Особую ценность это имеет в случаях отсутствия клинико-функциональных проявлений ССГ, что важно для дальнейшего ведения пациента. Как показывает клинический опыт, назначение базисной терапии на ранних этапах развития основного заболевания в значительной степени повышает эффективность местной терапии [7]. В связи с этим необходимы новые подходы к диагностике, позволяющей проводить дифференциальный анализ основных причин развития ССГ, что будет способствовать выбору соответствующей терапевтической тактики.

■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Определение этиологии ССГ на основе генотипирования полиморфных маркеров генов THBS1, GTF2I, MUC1, TRIM21, STAT4, PTPN22.

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проводили с соблюдением принципов добровольности и конфиденциальности в соответствии с «Основами законодательства РФ об охране здоровья граждан» (Указ Президента Российской Федерации от 24.12.1993 № 2288).

В исследование включили 108 пациентов с ССГ различной этиологии в возрасте от 35 до 72 лет, которые были разделены на следующие группы на основании этиологии заболевания:

- 1) пациенты с ССГ на фоне ПСШ (n=40);
- 2) пациенты с ССГ на фоне РА (n=37);
- 3) пациенты с ССГ экзогенной этиологии (n=31).

Группа контроля состояла из здоровых добровольцев без аутоиммунных заболеваний (АИЗ) и отягощенной наследственности (n=100). Все группы были статистически сопоставимы по полу и возрасту пациентов. В работе с пациентами соблюдались этические принципы, предъявляемые Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki). Наличие ССГ определяли на основании клинико-функционального обследования, включавшего стандартное и дополнительное офтальмологическое обследование: тест Ширмера I, II, пробу Норна, тесты с витальными красителями, которые оценивали по Оксфордской шкале.

Оценку морфологического состояния конъюнктивы и роговицы осуществляли методами импрессионно-цитологического исследования конъюнктивы и лазерной

сканирующей конфокальной микроскопией (ЛСКМ). Генетическое исследование проводили методом анализа кривых плавления ДНК (High Resolution Melting Point Analysis (HRM)). Пациентам и лицам группы контроля был выполнен забор венозной крови. Материалом для исследования служила геномная ДНК, выделенная из лейкоцитов периферической крови с помощью протеинкиназы К с последующей фенольно-хлороформной экстракцией и осаждением этанолом в два этапа. Выделенные образцы ДНК хранили при температуре -20°C .

При работе использовали набор qPCRmix-HS SYBR, предназначенный для ПЦР в реальном времени с интеркалирующим красителем SYBR Green I, в соответствии с протоколом производителя (Евроген, Россия). В состав qPCRmix-HS SYBR входили следующие компоненты: HS Taq ДНК-полимераза, краситель SYBR Green I, смесь нуклеотидтрифосфатов, Mg^{2+} , реакционный буфер. Реакционный буфер оптимизирован для специфичной работы HS Taq ДНК-полимеразы, а также для длительного хранения и многократного замораживания-размораживания смеси. Концентрация ионов магния в 1х реакционной смеси – 3 мМ, концентрация каждого нуклеотидтрифосфата – 0,2 мМ. ПЦР проводили в 25 мкл реакционной смеси, содержащей 1х qPCRmix-HS SYBR, по 0,4 мкМ каждого праймера, 50–100 нг ДНК матрицы; в 96-луночных планшетах «Optical Reaction Plate» на амплификаторе Bio-Rad CFX96 qPCR System (Bio-Rad, США) по следующей программе: предварительная денатурация – 1 цикл, 95°C , 5 мин.; ПЦР – 40 циклов (95°C – 30 сек.; 58°C – 30 сек.; 72°C – 30 сек.). Плавление продуктов амплификации проводили в диапазоне $55\text{--}95^{\circ}\text{C}$ с увеличением температуры на $0,5^{\circ}\text{C}$ каждые 10 сек. Обработку полученных данных проводили в программной среде Precision Melt Analysis Software (Bio-Rad). Пример анализа полиморфного маркера rs7947461 (C>T) в гене TRIM21 с использованием кривых плавления ДНК представлен на рис. 1А, 1В.

Статистическую обработку результатов при оценке полиморфизма генов проводили с использованием закона генетического равновесия Харди – Вайнберга для аутосомных признаков. Статистическую обработку результатов проводили с использованием программы «STATISTICA 8». Для анализа хода и структуры нервных волокон роговицы использовали авторское программное обеспечение Liner 1.2S [8, 9]. При

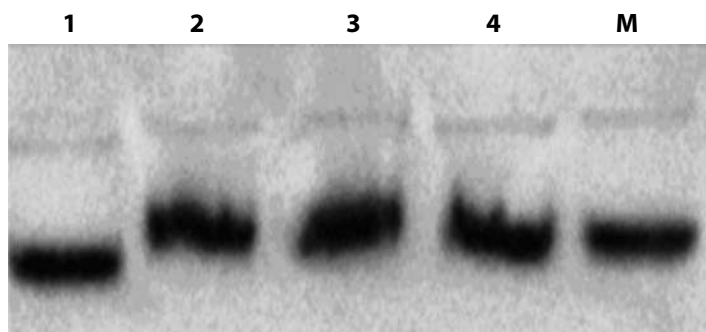


Рис. 1А. I этап. Выделение ДНК. Электрофоретическое разделение препаратов ДНК в 0,8%-ном агарозном геле. М – маркер фаг λ

Fig. 1A. Stage I. DNA isolation. Electrophoretic separation of DNA preparations in 0.8% agarose gel. M – phage marker λ

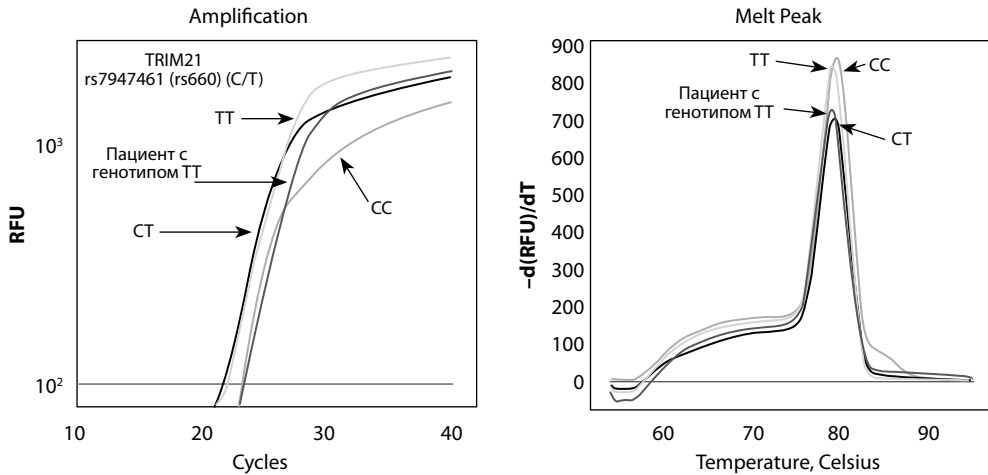


Рис. 1B. II этап. Анализ полиморфного маркера rs7947461 гена TRIM21 методом анализа кривых плавления ДНК. Слева – кинетические кривые амплификации фрагмента ДНК. Справа – температурные кривые плавления продукта амплификации фрагмента ДНК. CC – верхняя (нормальная) гомозигота; CT – гетерозигота; TT – нижняя (мутантная) гомозигота
Fig. 1B. Stage II. Analysis of polymorphic marker rs7947461 of TRIM21 gene by DNA melting curve analysis. Left – kinetic curves of DNA fragment amplification. Right – temperature melting curves of DNA fragment amplification product. CC – upper (normal) homozygote; CT – heterozygote; TT – lower (mutant) homozygote

сравнении частот встречаемости генотипов применяли критерий Пирсона, а для малых выборок – точный критерий Фишера. Комплексная оценка связей между контрольной и исследуемыми группами заключалась в использовании логистической регрессии, определении отношения шансов (OR) с 95%-ным доверительным интервалом (CI) и уровнем значимости, равным 0,05.

■ РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

По результатам клинико-функционального обследования установлено значительное снижение функциональных показателей у большинства пациентов с АИЗ, что соответствовало средней и тяжелой степени поражения глазной поверхности. При этом в группе без АИЗ изменения были незначительными. Результаты исследования представлены в табл. 1.

При обследовании лиц группы контроля (n=100) данные функциональных показателей были в пределах нормальных значений. По результатам морфологических исследований признаки ксеротических изменений конъюнктивы и роговицы отсутствовали.

Всем пациентам 1-й группы было проведено ЛСКМ-исследование. Анализировали ход и структуру нервных волокон роговицы (НВР). Значение коэффициента анизотропии составило 2,18. Высокие значения указанного коэффициента наблюдали при однонаправленном и вытянутом положении НВР, что соответствовало минимальному повреждению структуры волокна. Чем ниже были значения коэффициента анизотропии направленности, тем с большей вероятностью у пациента наблюдали нарушение хода и структуры НВР (рис. 2).

Таблица 1
Результаты клинико-функционального обследования пациентов с ССГ различной этиологии
Table 1
Results of clinico-functional examination of patients with DED of different etiology

Клинико-функциональные показатели	Количество случаев (n=108)		
	Пациенты с ССГ при ПСШ (n=40)	Пациенты с ССГ при РА (n=37)	Пациенты с экзогенным ССГ (n=31)
Тест Ширмера I			
Более 15 мм	0	1	5
15–10 мм	2	4	4
9–5 мм	12	5	7
Менее 5 мм	26	27	15
Тест Ширмера II			
Более 5 мм	13	18	29
5 мм и менее	27	19	2
Проба Норна			
15–10 сек.	4	9	1
9–5 сек.	5	7	16
Менее 5 сек.	31	21	14
Оксфордская шкала оценки поражения глазной поверхности			
0 баллов	4	2	8
I балл	5	1	17
II балла	4	7	3
III балла	7	4	2
IV балла	17	21	1
V баллов	3	2	0

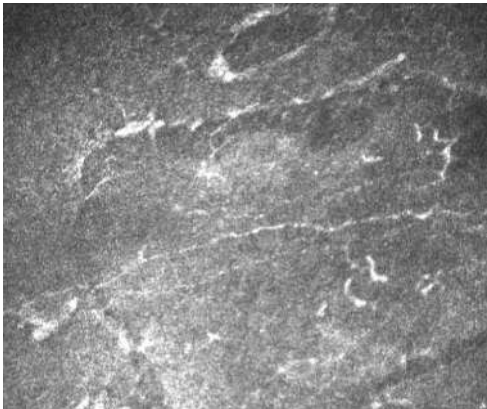


Рис. 2. Сканограмма ЛСКМ пациента с ССГ на фоне ПСШ. Ход и структура НВР нарушены, НВР разнонаправленно ориентированы, «четкообразные», истончены. На периферии отмечены выраженная извитость, снижение их количества
Fig. 2. Scanogram of LSCM in a patient with DED on the background of PSS. The course and structure of the KNF are disturbed, the KNF are multidirectionally oriented, "sharply shaped", thinning. The periphery showed marked tortuosity, reduced number of them

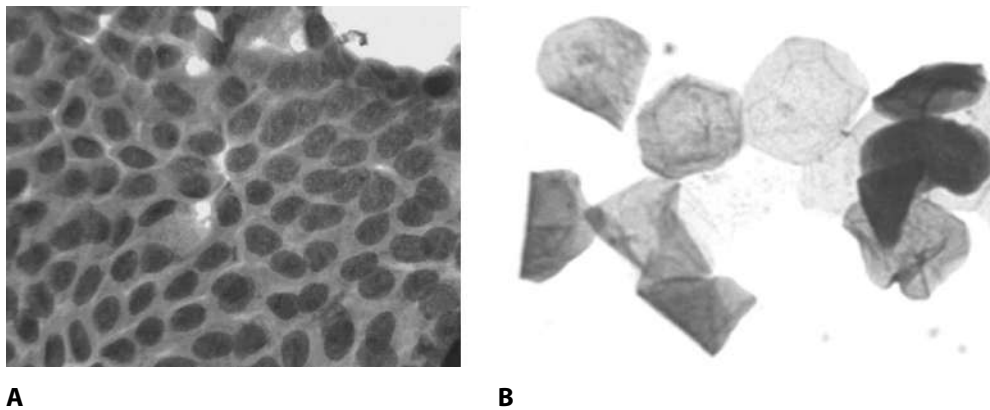


Рис. 3. Импрессионно-цитологическое исследование конъюнктивы пациента с ССГ на фоне ПСШ (окраска по Романовскому – Гимзе, ув. 400). А – клеточный полиморфизм, нечеткие контуры ядра, межклеточные границы, зерна кератогиалина в цитоплазме ряда эпителиоцитов; В – прообраз бокаловидных клеток. Единичные лейкоциты
Fig. 3. Immission-cytological examination of conjunctiva of patient with DED on the background of PSS (staining by Romanovsky – Giemse, $\times 400$). А – cell polymorphism, indistinct nucleus contours, intercellular boundaries, keratogialin grains in cytoplasm of some epitheliocytes; В – prototype of bovalized cells. Single leucocytes

На основании данных импрессионно-цитологического исследования конъюнктивы у всех пациентов этой группы диагностировали суб- и декомпенсированную стадии ССГ. Выявлены участки различной степени дистрофически измененного эпителия конъюнктивы, повышенная десквамация поверхностных эпителиоцитов с образованием бесклеточных зон. Отмечено значительное снижение плотности бокаловидных клеток, местами до полного отсутствия в поле зрения. Вместо них встречались редко расположенные «светлые» клетки – abortивная форма бокаловидных

Таблица 2
Распределение частот генотипов полиморфных маркеров генов TRIM21 и PTPN22 у пациентов с ПСШ и группы контроля
Table 2
Distribution of genotype frequencies of polymorphic markers of TRIM21 and PTPN22 genes in PSS patients and control group

Ген / полиморф- ный маркер	Гено- типы	Пациенты 1-й группы, n=40	Контроль, n=100	χ^2	p	OR	
						Знач.	CI _{95%}
TRIM21 rs4144331	CC	0,453	0,650	27,13	$1,0 \times 10^{-6}$	0,31	0,19–0,41
	CA	0,253*	0,330			0,49	0,42–0,75
	AA	0,293	0,020			3,19	1,97–5,17
PTPN22 rs33996649	CC	0,627	0,800	10,69	0,0048	0,37	0,21–0,67
	CT	0,267*	0,190			0,96	0,62–1,47
	TT	0,106	0,010			2,69	1,50–4,84

Примечания: * распределение частот не соответствует равновесию Харди – Вайнберга; n – объем выборки; χ^2 – значение хи-квадрат; p – значение достоверности; OR (odds ratio) – отношение шансов; 95% CI – 95%-ный доверительный интервал (Confidence Interval).

клеток. Наличие единичных более крупных «светлых» клеток – прообраз бокаловидных клеток (рис. 3).

У этой группы пациентов была установлена достоверная ассоциация только с одним полиморфным маркером гена TRIM21 (табл. 2).

Риск развития ССГ, ассоциированный с наличием предрасполагающих генотипов генов THBS1, маркер rs2228262, STAT4, маркер rs7574865, GTF2I, маркер rs117026326, находился на уровне тенденции ($p \leq 0,1$).

При проведении ЛСКМ-исследования у всех пациентов 2-й группы было зафиксировано изменение хода и структуры НВР (рис. 4). Значение коэффициента анизотропии составило 2,25.

По результатам импрессионно-цитологического исследования конъюнктивы у пациентов этой группы в 100% случаев были диагностированы изменения эпителия конъюнктивы в стадии декомпенсации. Выявлены выраженные дистрофические изменения эпителия: клеточный поли- и плеоморфизм, бесклеточные участки, нечеткие границы ядер, гомогенизированная отечная цитоплазма, повышенная десквамация эпителиоцитов, практически полное отсутствие бокаловидных клеток, единичные лейкоциты (рис. 5).

С высокой степенью достоверности была доказана ассоциация полиморфных маркеров rs915956, rs7947461, rs4144331 гена TRIM21 с риском развития РА. Результаты представлены в табл. 3.

Для генов MUC1, маркер rs4072037, THBS1, маркер rs2292305, ассоциативной связи установлено не было. Достоверность результатов находилась на уровне тенденции ($p \leq 0,1$), что можно объяснить мощностью выборки.

При анализе данных ЛСКМ 3-й группы пациентов были выявлены незначительные изменения структуры и хода НВР (рис. 6). Значение коэффициента анизотропии составило 3,6.

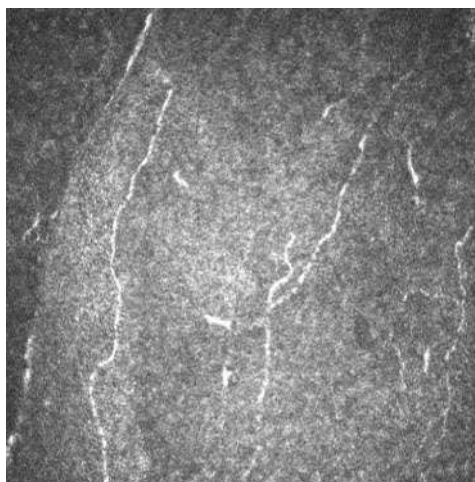


Рис. 4. Сканограмма ЛСКМ пациента с ССГ на фоне РА. НВР извиты, разнонаправлены, «четкообразной» формы, незначительно истончены. Количество НВР уменьшено
Fig. 4. Scanogram of LSCM in a patient with DED against RA background. The KNF are tortuous, multidirectional, "sharply" shaped and slightly thinning. The number of KNF decreased

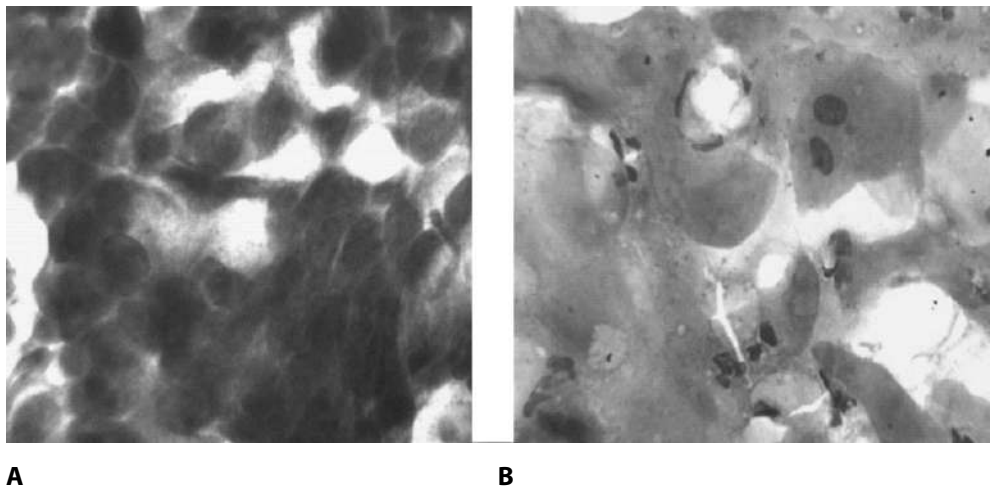


Рис. 5. А, В – импрессионно-цитологическое исследование конъюнктивы пациента с ССГ на фоне РА (окраска по Романовскому – Гимзе, ув. 400). Клеточный поли- и плеоморфизм, бесклеточные участки, нечеткие границы ядер, гомогенизированная отечная цитоплазма, повышенная десквамация эпителиоцитов. Практически полное отсутствие бокаловидных клеток
Fig. 5A, B. Impressive cytological examination of conjunctiva of a patient with DED against the background of RA (staining by Romanovsky – Giemse, $\times 400$). Cell poly- and pleomorphism, cell-free areas, indistinct borders of nuclei, homogenized edematous cytoplasm, increased desquamation of epithelial cells. Almost complete absence of goblet cells

У всех пациентов этой группы при проведении импрессионно-цитологического исследования конъюнктивы были обнаружены изменения эпителия конъюнктивы по типу сухого глаза в стадии компенсации. Отмечены признаки асептического воспаления. Выявлены дистрофические изменения эпителия: клеточный полиморфизм, сглаженные межклеточные границы, встречающиеся нечеткие контуры ядер,

Таблица 3
Распределение частот генотипов полиморфных маркеров rs915956, rs7947461 гена TRIM21 у пациентов с ССГ на фоне РА и контрольной группы
Table 3
Distribution of genotype frequencies of polymorphic markers rs915956, rs7947461 of TRIM21 gene in DED patients with RA and controls

Полиморф- ный маркер	Гено- типы	Пациенты 2-й группы, n=37	Контроль, n=100	χ^2	p	OR	
						Знач.	CI _{95%}
rs915956	CC	0,324	0,670	17,81	0,0001	0,25	0,14–0,41
	CT	0,324*	0,240			0,70	0,44–1,20
	TT	0,351	0,090			3,97	2,25–7,01
rs7947461	CC	0,324	0,480	25,26	$3,0 \times 10^{-6}$	0,32	0,16–0,44
	CT	0,189*	0,420			0,28	0,19–0,52
	TT	0,486	0,100			3,09	1,78–5,35

Примечания: * распределение частот не соответствует равновесию Харди – Вайнберга; n – объем выборки; χ^2 – значение хи-квадрат; p – значение достоверности; OR (odds ratio) – отношение шансов; 95% CI – 95%-ный доверительный интервал (Confidence Interval).

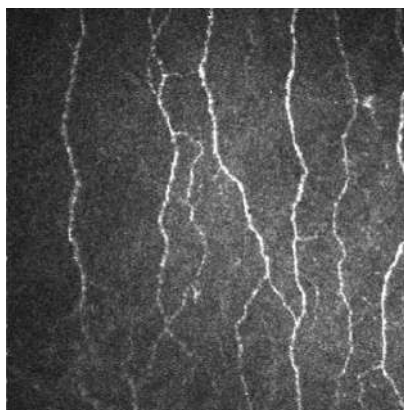
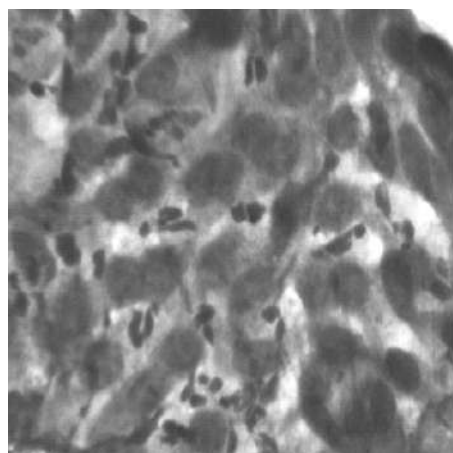
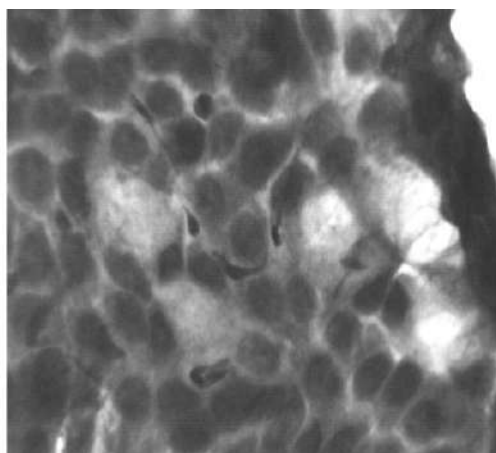


Рис. 6. Сканограмма ЛСКМ пациента с экзогенным ССГ. НВР однонаправлены, вытянуты, местами «четкообразной» формы, хорошо контрастируют на темном фоне. Количество НВР не изменено
Fig. 6. Scanogram of LSCM in a patient with exogenous DED. KNF are unidirectional, elongated, "sharply" shaped in some places, contrasting well against dark background. Number of KNF unchanged

гомогенизированная цитоплазма, неравномерно распределенные (единичные в поле зрения или участки заместительной гиперплазии) бокаловидные клетки. Выраженная лейкоцитарная инфильтрация (рис. 7).



A



B

Рис. 7. Импрессионно-цитологическое исследование конъюнктивы пациента с экзогенным ССГ (окраска по Романовскому – Гимзе, ув. 400). А – клеточный полиморфизм, сглаженные межклеточные границы, нечеткие контуры ядер, гомогенизированная цитоплазма; В – неравномерное распределение бокаловидных клеток. Выраженная лейкоцитарная инфильтрация

Fig. 7. The cytological study of the conjunctiva of a patient with exogenous DED (Romanovsky – Giemse staining, $\times 400$). A – cell polymorphism, smoothed intercellular boundaries, indistinct nucleus contours, homogenized cytoplasm; B – irregular distribution of goblet cell. A pronounced leucocytic infiltration

Таблица 4
Распределение частот генотипов полиморфных маркеров генов TRIM21, PTPN22 в 1-й, 2-й, 3-й группе пациентов
Table 4
Distribution of genotype frequencies of polymorphic markers of TRIM21, PTPN22 genes in the 1st, 2nd, 3rd groups of patients

Ген / полиморф- ный маркер	Гено- типы	Пациенты 1-й, 2-й группы, n=77	Пациенты 3-й группы, n=31	χ^2	p	OR	
						Знач.	CI _{95%}
TRIM21 rs7947461	CC	0,338	0,032	11,04	0,004	0,40	0,21–0,75
	CT	0,338*	0,516			1,11	0,61–2,00
	TT	0,324	0,452			2,51	1,33–4,72
PTPN22 rs33996649	CC	0,506	0,871	12,37	0,002	0,21	0,08–0,55
	CT	0,390*	0,097			1,58	0,87–2,88
	TT	0,104	0,032			4,86	1,83–12,90

Примечания: * распределение частот не соответствует равновесию Харди – Вайнберга; n – объем выборки, χ^2 – значение хи-квадрат; p – значение достоверности; OR (odds ratio) – отношение шансов; 95% CI – 95%-ный доверительный интервал (Confidence Interval).

В этой группе пациентов для предрасполагающих генотипов полиморфных маркеров генов TRIM21, PTPN22 удалось установить ассоциацию с риском развития ССГ экзогенной этиологии. Результаты представлены в табл. 4.

Таким образом, полученные в ходе исследования данные позволили определить полиморфные маркеры генов, ответственных за риск развития ССГ различной этиологии, причем при увеличении количества знаков «+» эта вероятность возрастает (табл. 5).

Таблица 5
Полиморфные маркеры генов, ответственных за риск развития ССГ различной этиологии
Table 5
Polymorphic markers of genes responsible for risk of CHD of different etiology

Ген / полиморфный маркер	ССГ при ПСШ	ССГ при РА	ССГ экзогенный
TRIM21	rs7947461		
		+	+
	rs915956		
		+	
	rs4144331		
PTPN22	+		
	rs33996649		
	+		+
THBS1	rs2292305		
		+	
	rs2228262		
	+		
STAT4	rs7574865		
	+		
GTF2I	rs117026326		
	+		
MUC1	rs4072037		
		+	

■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты проведенного исследования показали, что морфофункциональные методы не могут служить дифференциально-диагностическим критерием изменения глазной поверхности при ССГ различной этиологии. В отличие от этого определение полиморфных маркеров генов THBS1, MUC1, TRIM21, STAT4, RPTN22, GTF2I позволяет установить этиологию ССГ.

Данное исследование является пилотным в этой области. Небольшое количество пациентов, включенных в исследование, не позволило определить чувствительность и специфичность предлагаемого диагностического теста в рамках генетического исследования. Увеличение мощности выборки среди различных этнических групп сделает возможным решение этой задачи, что и определит в последующем место и значение данного теста в алгоритме диагностики ССГ.

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Craig J.P., Nelson J.D., Azar D.T. (2017) TFOS DEWS II Report Executive Summary. *Ocul Surf*, vol. 15, no 4, pp. 802–812.
2. Brzheskii V.V. (2002) Dry eye syndrome: a disease of civilization. *Okulist*, vol. 9 no 10, pp. 8–9.
3. Aggarwal S., Galor A. (2018) What's new in dry eye disease diagnosis? Current advances and challenges. *Faculty Res*, no 1952, pp. 1–7.
4. Murube, J., NÉmeth, J., HÖh, H., Kaynak-hekimhan, P., Horwath-winter, J., Agarwal, A., Baudouin, C., Benitez del castillo, J.M., Cervenka, S., Chenzhuo, L., Ducasse, A., Durán, J., Holly, F., Javate, R., Nepp, J., Paulsen, F., Rahimi, A., Raus, P., Shalaby, O., Sieg, P., Soriano, H., Spinelli, D., Ugurbas, S.H., Van setten, G. (2005) The Triple Classification of Dry Eye for Practical Clinical Use. *European Journal of Ophthalmology*, vol.15, no 6, pp. 660–667.
5. Schiffman R. M., Christianson M. D., Jacobsen G. (2000) Reliability and validity of the ocular surface disease index. *Arch. Ophthalmol*, vol. 118, no 5, pp. 615–621, 6-9.
6. Safonova T.N., Zajceva G.V. (2018) Association of polymorphisms today with the development of dry keratoconjunctivitis in rheumatoid arthritis and Sjogren's syndrome. *Vestnik oftalmologii*, vol. 134, no 3, pp. 108-115.
7. T.N. Safonova, Z.V. Surnina, G.V. Zajceva, A.M. Burdennyj, V.I. Loginov (2020) To study the role of polymorphic markers rs1478604, rs2292305, rs2228262 of the THBS1 gene in the development of dry keratoconjunctivitis in Sjogren's syndrome. *Byulleten' eksperimental'noj biologii i mediciny*, vol.169, no 5, pp. 640-643.
8. Avetisov S.E., Novikov I.A., Mahotin S.S., Surnina Z.V. (2015) Calculation of coefficients of anisotropy and symmetry of orientation of corneal nerves based on automated recognition of digital confocal images. *Medicinskaya tekhnika*, vol. 3, no 291, pp. 23-25.
9. Avetisov S.E., Novikov I.A., Mahotin S.S., Surnina Z.V. (2015) A new principle of morphometric examination of corneal nerve fibers based on confocal biomicroscopy in diabetes mellitus. *Vestnik oftalmologii*, vol. 131, no 4, pp. 5-14.