

Панель генетических маркеров для прогнозирования риска развития синдрома сухого глаза различной ЭТИОЛОГИИ

Т.Н. Сафонова^{1✉}, ORCID: 0000-0002-4601-0904, safotat@mail.ru

Г.В. Зайцева¹, ORCID: 0000-0001-8575-3076, privezentseva.galya@mail.ru

А.М. Бурденный², ORCID: 0000-0002-9398-8075, burdenny@gmail.com

В.И. Логинов², ORCID: 0000-0003-2668-8096, loginov7w@gmail.com

¹ Научно-исследовательский институт глазных болезней; 119021, Россия, Москва, ул. Россолимо, д. 11, А, Б

² Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии; 125315, Россия, Москва, ул. Балтийская, д. 8

Резюме

Введение. Мировая статистика свидетельствует об увеличении пациентов, в т. ч. молодого возраста, страдающих синдромом сухого глаза (ССГ). Наряду с экзогенными факторами, развитие ССГ зависит от генетической предрасположенности. Изменение экспрессии генов *PTPN22*, *TRIM21* прямо или опосредованно воздействующих на Т-клеточное звено иммунитета, приводит к гиперпродукции цитокинов и, как следствие, повреждению глазной поверхности.

Цель исследования. Создать диагностическую панель генетических маркеров для определения риска развития ССГ различной этиологии.

Материалы и методы. В исследование включено 154 пациента с аутоиммунными заболеваниями (АИЗ) с и без установленно-го ССГ. С диагнозом «ревматоидный артрит» (РА) $n = 79$ и «первичный синдром Шегрена» (ПСС) $n = 75$. Группа контроля: 100 человек без офтальмологических заболеваний, 31 пациент с экзогенным ССГ. Для поиска и анализа изменений в исследуемых генах был использован метод анализа кривых плавления ДНК.

Результаты. Определено прогностическое значение предрасполагающих генотипов гена *TRIM21* маркеров *rs915956* и *rs7947461* с риском развития ССГ на фоне РА ($p \leq 0,001$), маркера *rs4144331* на уровне тенденции ($p \leq 0,1$). Риск развития ССГ на фоне ПСС ассоциирован с наличием предрасполагающих генотипов генов *TRIM21* маркер *rs4144331*, *PTPN22* маркер *rs33996649* ($p \leq 0,001$). Установлена ассоциация полиморфных маркеров гена *TRIM21* маркера *rs7947461* и гена *PTPN22* маркера *rs33996649* ($p \leq 0,01$) с риском развития экзогенного ССГ.

Выводы. Идентифицированы предрасполагающие генотипы и установлены ассоциации полиморфных маркеров генов *TRIM21*, *PTPN22*. Создана диагностическая панель генетических маркеров для прогнозирования ССГ различной этиологии.

Ключевые слова: синдром сухого глаза, полиморфные маркеры, ген *TRIM21*, ген *PTPN22*, диагностическая панель

Для цитирования: Сафонова Т.Н., Зайцева Г.В., Бурденный А.М., Логинов В.И. Панель генетических маркеров для прогнозирования риска развития синдрома сухого глаза различной этиологии. *Медицинский совет.* 2021;(12):366–373. <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2021-12-366-373>.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Panel of genetic markers for predicting the risk of developing dry eye disease of various etiologies

Tatiana N. Safonova^{1✉}, ORCID: 0000-0002-4601-0904, safotat@mail.ru

Galina V. Zaitseva¹, ORCID: 0000-0001-8575-3076, privezentseva.galya@mail.ru

Alexey M. Burdenny², ORCID: 0000-0002-9398-8075, burdenny@gmail.com

Vitaly I. Loginov², ORCID: 0000-0003-2668-8096, loginov7w@gmail.com

¹ Research Institute of Eye Diseases; 11 A, B, Rossolimo St., Moscow, 119021, Russia

² Institute of General Pathology and Pathophysiology; 8, Baltiyskaya St., Moscow, 125315 Russia

Abstract

Introduction. World statistics indicate an increase in patients, including young people, suffering from dry eye disease (DED). Along with exogenous factors, the development of DED depends on a genetic predisposition. Changes in the expression of genes *PTPN22*, *TRIM21*, directly or indirectly affecting the T-cell link of immunity, leads to overproduction of cytokines and, as a consequence, damage to the ocular surface.

This study aimed to design a diagnostic panel of genetic markers to determine the risk for DED of various etiologies development.

Materials and methods. The study included 154 patients with autoimmune diseases with and without established DED. With a diagnosis of rheumatoid arthritis (RA) $n = 79$ and primary Sjogren's syndrome (PSS) $n = 75$. The control group consisted of 100 people without ophthalmic diseases, 31 patients with exogenous DED. In this study, we use melting curve analysis to confirm the results of the association analysis for polymorphic markers in genes.

Results. The prognostic value of the predisposing genotypes of the *TRIM21* gene of the markers *rs915956* and *rs7947461* with the risk of DED in the presence of RA ($p \leq 0.001$), the marker *rs4144331* at the tendency level ($p \leq 0.1$) was determined. The risk of developing

DES against the background of PSS is associated with the presence of the predisposing genotypes of the TRIM21 genes, the rs4144331 marker, and the PTPN22 rs33996649 marker ($p \leq 0.001$). The association of polymorphic markers of the TRIM21 rs7947461 gene and the PTPN22 gene of the rs33996649 marker ($p \leq 0.01$) with the risk of developing exogenous DED was established.

Conclusions. The predisposing genotypes were identified and the associations of polymorphic markers of the TRIM21, PTPN22 genes were established. A diagnostic panel of genetic markers has been created to predict DED of various etiologies.

Key words: dry eye disease, polymorphic markers, TRIM21 gene, PTPN22 gene, diagnostic panel

For citation: Safonova T.N., Zaitseva G.V., Burdenny A.M., Loginov V.I. Panel of genetic markers for predicting the risk of developing dry eye disease of various etiologies. *Meditsinskiy sovet = Medical Council*. 2021;(12):366–373. (In Russ.) <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2021-12-366-373>.

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

ВВЕДЕНИЕ

Синдром сухого глаза (ССГ), или сухой кератоконъюнктивит, роговично-конъюнктивальный ксероз, – многофакторное заболевание, характеризующееся изменениями гомеостаза, поражением структур глазной поверхности, которое связано с дестабилизацией слезной пленки, гиперомолярностью, воспалением и нейросенсорными нарушениями [1]. По данным The International Dry Eye Workshop, распространенность данной патологии достигает 5–75% среди офтальмологических больных [2]. В последнее 10-летие наблюдается рост заболеваемости ССГ у пожилых людей [1], в связи с чем возраст старше 40 лет является одним из факторов риска возникновения синдрома. У женщин субъективные и объективные признаки ССГ обнаруживаются в 1,7 раза чаще, чем у мужчин, что обусловлено возрастным дефицитом андрогенов [3]. Однако симптомы ССГ выявляются и у лиц молодого возраста: у 25% студентов и 30–65% офисных работников [4]. Согласно классификации, ССГ делится по этиологическому и патогенетическому принципу на: 1. Эндогенный (системно-органный), к которому относятся системные аутоиммунные, врожденные и наследственные, эндокринные, инфекционные заболевания, заболевания периферической нервной системы; 2. Экзогенный ССГ – компьютерный зрительный синдром, неблагоприятные экологические факторы, длительные инстилляции препаратов, прием некоторых лекарственных препаратов, ношение контактных линз, лучевая болезнь и др.; 3. Роговичный ССГ – послеоперационные и посттравматические (постожоговые) заболевания роговицы различного генеза; 4. Блефроконъюнктивальный ССГ – хронические блефариты, блефароконъюнктивиты, конъюнктивиты, лагофтальм, пемфигус конъюнктивы и др.; 5. Комбинированный ССГ [5]. ССГ, ассоциированный с системными аутоиммунными заболеваниями (АИЗ), характеризуется наиболее тяжелым клиническим течением, нередко осложняющимся развитием язвы роговицы [6]. АИЗ – это заболевания, патогенетической основой которых служит развитие самоподдерживающегося иммунного ответа на собственные антигены (АГ) организма, приводящего к повреждению клеток, содержащих эти АГ [7]. Среди АИЗ по частоте встречаемости ревматоидный артрит (РА) и первичный синдром Шегрена (ПСШ) [8, 9] занимают одно из первых мест. В 25–30% случаев ССГ является одним

из офтальмологических проявлений РА [10–12] и может определять степень его активности. ССГ также является экспертным признаком диагноза ПСШ, который констатируют у 80–90% пациентов [13–15]. В клинической практике манифестация АИЗ может начинаться с поражения органа зрения [16–18]. В процессе исследований доказана взаимосвязь ПСШ и РА с генетическими факторами [19–22]. Ряду авторов удалось определить вклад полиморфных маркеров генов *TRIM21*, *PTPN22* в развитие этих АИЗ, однако ассоциативной связи с офтальмологическим проявлением выявлено не было [23–26].

В связи с этим одним из значимых направлений исследований является определение полиморфных маркеров данных генов, ассоциированных с повреждением глазной поверхности.

Цель исследования. Создать диагностическую панель генетических маркеров для определения риска развития ССГ различной этиологии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

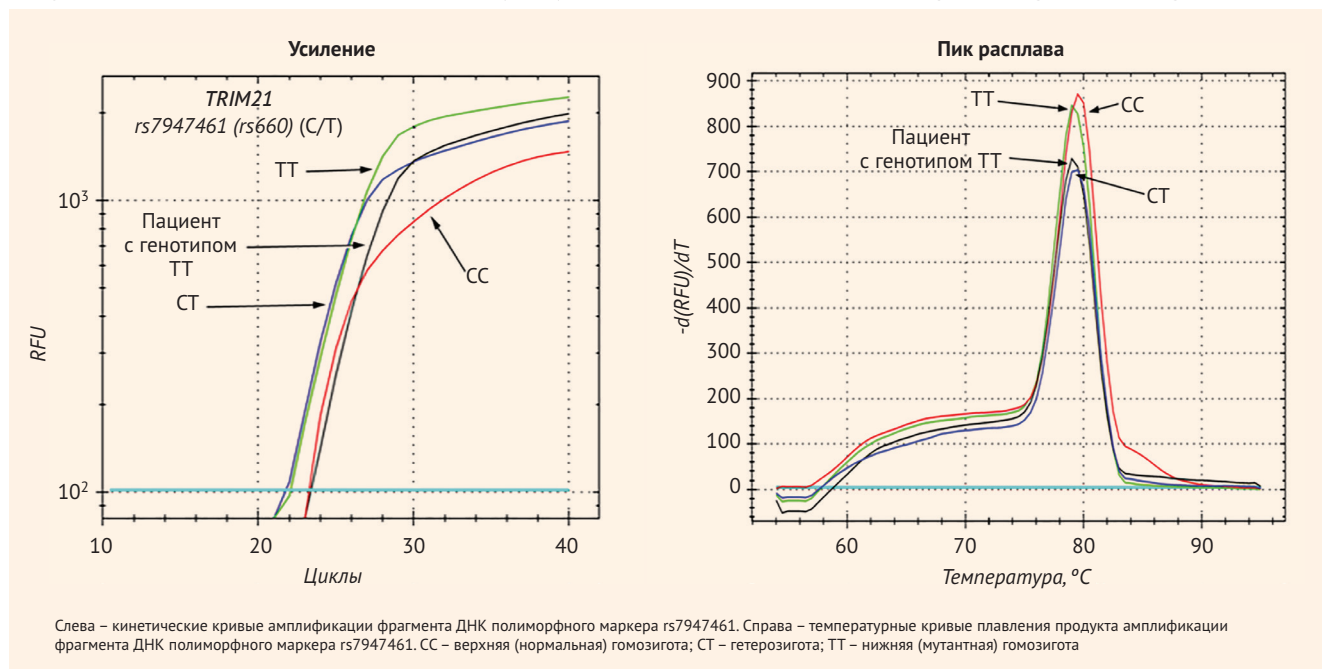
Исследование проводили с соблюдением принципов добровольности и конфиденциальности в соответствии с «Основными законами РФ об охране здоровья граждан» (Указ президента РФ от 24.12.1993 г. №2288).

В исследование было включено 154 пациента (1 мужчина, 153 женщины) в возрасте от 35 до 72 лет (средний возраст 53,5 лет), которым был верифицирован диагноз «РА» ($n = 79$) и «ПСШ» ($n = 75$). Группа контроля состояла из 131 человека. В процессе обследования в группе контроля у 31 установлен диагноз экзогенного ССГ. В результате обследований в зависимости от наличия ССГ пациенты были разделены на 2 основные группы и 4 подгруппы:

- группа 1 – пациенты с установленным диагнозом ПСШ ($n = 75$);
- подгруппа 1.1 – пациенты с признаками ССГ ($n = 40$);
- подгруппа 1.2 – пациенты без признаков ССГ ($n = 35$);
- группа 2 – пациенты с установленным диагнозом РА ($n = 79$);
- подгруппа 2.1 – пациенты с признаками ССГ ($n = 37$);
- подгруппа 2.2 – пациенты без признаков ССГ ($n = 42$).

Все группы были статистически сопоставимы по полу и возрасту. Всем пациентам и группе контроля выполнен

- **Рисунок.** Пример анализа полиморфного маркера rs7947461 (C > T) в гене TRIM21 с использованием кривых плавления ДНК
- **Figure.** Example of the analysis of rs7947461 (C > T) polymorphic marker in the TRIM21 gene using DNA melting curves



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. Выделенные образцы ДНК хранили при температуре -20°C .

Идентифицировали аллели полиморфных маркеров rs915956, rs4144331 и rs7947461 гена TRIM21 и маркера rs33996649 гена PTPN22 с помощью метода: анализ кривых плавления ДНК (High Resolution Melting Point Analysis (HRM)). 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 полимеразы, 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 BioRad CFX96 qPCR System (Bio-Rad, США) по следующей программе: предварительная денатурация: 1 цикл, 95°C , 5 мин; ПЦР: 40 циклов (95°C – 30 с; 58°C – 30 с; 72°C – 30 с). Плавление продуктов амплификации проводили в диапазоне 55 – 95°C с увеличением температуры на $0,5^{\circ}\text{C}$ каждые 10 с (рис.). Обработку полученных данных проводили в программной среде Precision Melt Analysis Software (Bio-Rad).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ полиморфных маркеров rs915956, rs7947461, rs4144331 гена TRIM21 в группе пациентов с ПСШ

С помощью метода анализа кривых плавления ДНК была проведена идентификация частот встречаемости аллелей и генотипов полиморфных маркеров rs4144331, rs915956, rs7947461 гена TRIM21 в выборке пациентов с ПСШ ($n = 75$) и группе контроля ($n = 131$).

При анализе распределения частот генотипов полиморфного маркера rs915956 гена TRIM21 в группе пациентов с ПСШ и контрольной группы для полиморфного маркера не было найдено статистически значимых различий ($p > 0,05$).

При сравнении результатов генотипирования, полученных в подгруппе 1.1 с группой контроля для полиморфного маркера rs7947461 гена TRIM21, выявлена тенденция к ассоциации данного маркера с риском поражения глазной поверхности (табл. 1).

Ассоциации полиморфного маркера rs7947461 гена TRIM21 в подгруппе 1.1 и 1.2 с риском развитием СКК не установлено ($p = 0,901$).

В табл. 2 показана ассоциация полиморфного маркера rs4144331 гена TRIM21 с риском развития ПСШ у пациентов группы 1.

Наблюдаемое распределение частот генотипов по полиморфному маркеру rs4144331 у пациентов группы 1 не соответствует теоретически ожидаемому равновесному распределению Харди – Вайнберга. Несовпадение равновесию Харди – Вайнберга, по всей видимости, объясняется небольшим объемом исследованной выборки.

Предрасполагающий генотип AA полиморфного маркера rs4144331 гена TRIM21 был обнаружен только

- **Таблица 1.** Распределение частот генотипов полиморфного маркера rs7947461 гена TRIM21 у пациентов подгруппы 1.1 и группы контроля
- **Table 1.** Distribution of rs7947461 polymorphic marker genotype frequencies in the TRIM21 gene in patients of subgroup 1.1 and control group

Генотипы	Пациенты 1.1 n = 40	Контроль n = 100	χ^2	p	OR	
					знач.	CI95%
CC	0,350	0,571	4,65	0,09	0,46	0,23–0,92
CT	0,475*	0,371			0,96	0,49–1,90
TT	0,175	0,057			2,19	1,08–4,43

* Распределение частот не соответствует равновесию Харди – Вайнберга.

Примечания: n – объем выборки, χ^2 – значение хи-квадрат, p – значение достоверности, OR (odds ratio) – отношение шансов, 95% C.I. – 95%-ный доверительный интервал (Confidence Interval).

- **Таблица 2.** Распределение частот генотипов полиморфного маркера rs4144331 гена TRIM21 у пациентов группы 1 и контрольной группы

- **Table 2.** Distribution of rs4144331 polymorphic marker genotype frequencies in the TRIM21 gene in patients of group 1 and control group

Генотипы	Пациенты группы 1 n = 75	Контроль n = 100	χ^2	p	OR	
					знач.	CI95%
CC	0,400	0,650	33,79	5,0x10-8	0,23	0,14–0,32
CA	0,225*	0,330			0,38	0,33–0,66
AA	0,375	0,020			4,19	2,38–7,37

* Распределение частот не соответствует равновесию Харди – Вайнберга.

Примечания: n – объем выборки, χ^2 – значение хи-квадрат, p – значение достоверности, OR (odds ratio) – отношение шансов, 95% C.I. – 95%-ный доверительный интервал (Confidence Interval).

- **Таблица 3.** Распределение частот генотипов полиморфного маркера rs4144331 гена TRIM21 у пациентов с ПСШ и группы контроля

- **Table 3.** Distribution of rs4144331 polymorphic marker genotype frequencies in the TRIM21 gene in patients with primary Sjgren's syndrome and control group

Генотипы	Пациенты 1.1 n = 40	Пациенты 1.2 n = 35	χ^2	p	OR	
					знач.	CI95%
CC	0,453	0,650	27,13	1,0 x 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

* Распределение частот не соответствует равновесию Харди – Вайнберга.

Примечания: n – объем выборки, χ^2 – значение хи-квадрат, p – значение достоверности, OR (odds ratio) – отношение шансов, 95% C.I. – 95%-ный доверительный интервал (Confidence Interval).

в группе пациентов с ПСШ, причем как с ССГ, так и без ССГ. В контрольной группе (здоровые добровольцы) данный генотип был обнаружен только у 2 лиц. Для определения ассоциации данного маркера с риском развития ССГ провели сравнение подгрупп 1.1 и 1.2, результаты представлены в *табл. 3*.

Была выявлена ассоциация маркера rs4144331 с развитием ССГ аутоиммунной этиологии ($\chi^2 = 17,50$; OR = 16,87, CI_{95%} = (1,09–142,47), p = 0,004). Участия предрасполагающего генотипа AA в патогенезе экзогенного ССГ не обнаружено (p = 0,7).

Анализ полиморфных маркеров rs915956, rs7947461, rs4144331 гена TRIM21 в группе пациентов с РА

При анализе распределения частот генотипов полиморфных маркеров rs915956, rs7947461, rs4144331 гена TRIM21 на выборке пациентов с РА (n = 79) и группе кон-

троля (n = 131) выявлена ассоциация полиморфного маркера rs915956 с риском развития РА (*табл. 4*).

Также выявлено участие данного маркера в развитии ССГ на фоне РА (*табл. 5*).

Удалось установить, что предрасполагающий генотип TT маркера rs915956 гена TRIM21 предположительно ответственен за развитие ССГ аутоиммунной этиологии. Для подтверждения этой гипотезы дополнительно провели сравнение групп пациентов с аутоиммунным и экзогенным ССГ. На основании статистической обработки полученных результатов ($\chi^2 = 17,50$; OR = 10,77, CI_{95%} = (1,18–98,03), p = 0,017) определено, что маркер ответственен за предрасположенность к развитию ССГ только аутоиммунного генеза и не участвует в развитии экзогенного.

Выявлена ассоциация маркера rs7947461 с развитием повреждения глазной поверхности. Результаты отражены в *табл. 6*.

● **Таблица 4.** Распределение частот генотипов полиморфного маркера rs915956 гена TRIM21 у пациентов группы 2 и группы контроля

● **Table 4.** Distribution of rs915956 polymorphic marker genotype frequencies in the TRIM21 gene in patients of group 2 and control group

Генотипы	Пациенты группы 2 n = 79	Контроль n = 100	χ^2	p	OR	
					знач.	CI95%
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

* Распределение частот не соответствует равновесию Харди – Вайнберга.

Примечания: n – объем выборки, χ^2 – значение хи-квадрат, p – значение достоверности, OR (odds ratio) – отношение шансов, 95% C.I. – 95%-ный доверительный интервал (Confidence Interval).

● **Таблица 5.** Распределение частот генотипов полиморфного маркера rs915956 гена TRIM21 в подгруппах 2.1 и 2.2

● **Table 5.** Distribution of rs915956 polymorphic marker genotype frequencies in the TRIM21 gene in patients of group 2.1 and group 2.2

Генотипы	Пациенты 2.1 n = 37	Пациенты 2.2 n = 42	χ^2	p	OR	
					знач.	CI95%
CC	0,324	0,595	10,70	0,0048	0,30	0,15–0,38
CT	0,324*	0,333			0,55	0,39–1,05
TT	0,351	0,071			3,38	1,71–6,65

* Распределение частот не соответствует равновесию Харди – Вайнберга.

Примечания: n – объем выборки, χ^2 – значение хи-квадрат, p – значение достоверности, OR (odds ratio) – отношение шансов, 95% C.I. – 95%-ный доверительный интервал (Confidence Interval).

● **Таблица 6.** Распределение частот генотипов полиморфного маркера rs7947461 гена TRIM21 в подгруппах 2.1 и 2.2

● **Table 6.** Distribution of rs7947461 polymorphic marker genotype frequencies in the TRIM21 gene in patients of group 2.1 and group 2.2

Генотипы	Пациенты 2.1 n = 37	Пациенты 2.2 n = 42	χ^2	p	OR	
					знач.	CI95%
CC	0,324	0,500	20,56	3,0x10 ⁻⁵	0,27	0,12–0,44
CT	0,189*	0,452			0,23	0,16–0,53
TT	0,486	0,048			3,68	1,89–7,16

* Распределение частот не соответствует равновесию Харди – Вайнберга.

Примечания: n – объем выборки, χ^2 – значение хи-квадрат, p – значение достоверности, OR (odds ratio) – отношение шансов, 95% C.I. – 95%-ный доверительный интервал (Confidence Interval).

Установлено, что наличие генотипа TT маркера rs7947461 повышает риск повреждения глазной поверхности только в подгруппе 2.1. При сравнении этой подгруппы с группой пациентов с экзогенным ССГ с высокой степенью достоверности было установлено, что данный генотип TT маркера rs7947461 ответственен за развитие и экзогенного ССГ (табл. 7).

Статистически значимых различий для маркера rs4144331 найдено не было (p = 0,961), что позволило предположить, ответственность маркера rs4144331 только за развитие РА. Для подтверждения данной гипотезы провели сравнение пациентов группой 2.1 и контрольной (табл. 8).

Полученные результаты подтвердили взаимосвязь предрасполагающего генотипа AA полиморфного маркера rs4144331 гена TRIM21 только с развитием РА, а с ССГ на фоне РА – на уровне тенденции (p = 0,085).

Анализ полиморфных маркеров rs2476601 и rs33996649 гена PTPN22 в группе пациентов с ПСШ

В выборке пациентов с ПСШ (n = 75) и группе контроля (n = 131) был проведен поиск ассоциации и анализ распределения частот генотипов полиморфных маркеров rs2476601, rs33996649 гена PTPN22 методом анализа кри-вых плавления ДНК.

Доказана статистически достоверная ассоциация предрасполагающего генотипа TT полиморфного маркера rs33996649 гена PTPN22 с риском развития ССГ ауто-иммунного генеза (p = 0,001).

Сравнительные результаты генотипирования пациентов с аутоиммунным и экзогенным ССГ представлены в табл. 9.

В результате проведенного исследования установлено, что предрасполагающий генотип TT полиморфного маркера rs33996649 гена PTPN22 ассоциирован с риском возникновения экзогенного ССГ (p = 0,001).

● **Таблица 7.** аспределение частот генотипов полиморфного маркера rs7947461 гена TRIM21 в группах пациентов с ССГ при АИЗ и экзогенном ССГ

● **Table 7.** Distribution of rs7947461 polymorphic marker genotype frequencies in the TRIM21 gene in the groups of patients with dry eye syndrome (DES) in autoimmune diseases and exogenous DES

Генотипы	Пациенты с экз. ССГ n = 31	Пациенты с аут. ССГ n = 37	χ^2	p	OR	
					знач.	CI95%
CC	0,032	0,338	11,04	0,004	0,40	0,21–0,75
CT	0,516*	0,338			1,11	0,61–2,00
TT	0,452	0,324			2,51	1,33–4,72

* Распределение частот не соответствует равновесию Харди – Вайнберга.

Примечания: n – объем выборки, χ^2 – значение хи-квадрат, p – значение достоверности, OR (odds ratio) – отношение шансов, 95% C.I. – 95%-ный доверительный интервал (Confidence Interval).

● **Таблица 8.** Распределение частот генотипов полиморфного маркера rs4144331 гена TRIM21 у пациентов подгруппы 2.1 и группы контроля

● **Table 8.** Distribution of rs4144331 polymorphic marker genotype frequencies in the TRIM21 gene in patients of group 2.1 and control group

Генотипы	Пациенты 2.1 n = 37	Контроль n = 100	χ^2	p	OR	
					знач.	CI95%
CC	0,444	0,480	10,47	0,005	0,63	0,34–0,79
CA	0,278*	0,420			0,52	0,41–0,97
AA	0,278	0,100			1,60	1,03–2,47

* Распределение частот не соответствует равновесию Харди – Вайнберга.

Примечания: n – объем выборки, χ^2 – значение хи-квадрат, p – значение достоверности, OR (odds ratio) – отношение шансов, 95% C.I. – 95%-ный доверительный интервал (Confidence Interval).

● **Таблица 9.** Распределение частот генотипов полиморфного маркера rs33996649 гена PTPN22 в группах пациентов с ССГ аутоиммунной и экзогенной этиологии

● **Table 9.** Distribution of rs33996649 polymorphic marker genotype frequencies in the PTPN22 gene in the groups of patients with DES of autoimmune and exogenous etiology

Генотипы	Пациенты с аут. АИЗ n = 77	Пациенты с экз. ССГ n = 31	χ^2	p	OR	
					знач.	CI95%
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

* Распределение частот не соответствует равновесию Харди – Вайнберга.

Примечания: n – объем выборки, χ^2 – значение хи-квадрат, p – значение достоверности, OR (odds ratio) – отношение шансов, 95% C.I. – 95%-ный доверительный интервал (Confidence Interval).

Анализ полиморфных маркеров rs2476601 и rs33996649 гена PTPN22 в группе пациентов с РА

При анализе распределения частот генотипов полиморфных маркеров rs2476601 и rs33996649 гена PTPN22 у пациентов с РА (n = 79) и контрольной группы (n = 131) не было найдено статистически значимых различий, а также ассоциаций с риском развития ССГ при РА (p = 0,489 и p = 0,168, p = 0,485 и p = 0,118 соответственно).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в результате проведенного исследования была установлена ассоциация полиморфного маркера rs4144331 гена TRIM21 с риском развития ССГ на фоне ПСШ. Выявлено, что предрасполагающий генотип TT полиморфного маркера rs915956 гена TRIM21 ответственен

за высокий риск развития ССГ при РА и не связан с возникновением экзогенного ССГ.

Предрасполагающий генотип TT маркера rs7947461 гена TRIM21 ассоциирован как с развитием ССГ при РА, так и экзогенным ССГ. С высокой степенью достоверности определена взаимосвязь генотипа AA полиморфного маркера rs4144331 гена TRIM21 с риском развития РА и на уровне тенденции с ССГ. Определено прогностическое значение полиморфного маркера rs33996649 гена PTPN22 с риском развития ССГ при ПСШ. Помимо этого, данный маркер был выделен в ходе генотипирования в группе пациентов с экзогенным ССГ. Взаимосвязи второго полиморфного маркера rs2476601 гена PTPN22 с ССГ не установлено. В то же время выявлено, что ни один маркер гена PTPN22 не ассоциирован с ССГ на фоне РА.


● **Таблица 10.** Полиморфные маркеры для прогнозирования возникновения ССГ различной этиологии, включенные в диагностическую панель

● **Table 10.** Polymorphic markers for the prediction of the occurrence of DES of various etiologies included in the test panel

Ген TRIM21				Ген PTPN22
Полиморфный маркер	rs7947461	rs915956	rs4144331	rs33996649
Генотип	ТТ	ТТ	АА	ТТ

Полиморфизмы генов не являются непосредственной и обязательной причиной развития патологического процесса, но могут обуславливать риск его возникновения под воздействием различных внешних факторов. Предложенный современный способ, основанный на методе анализа кривых плавления ДНК, позволяет предложить диагностическую панель определения полиморфных маркеров (табл. 10).

Благодаря одновременному анализу полиморфизмов генов *TRIM21* и *PTPN22* возможно изучение особенностей

фенотипических проявлений офтальмологических нарушений не только аутоиммунной, но и экзогенной этиологии. Данные исследования дополняют алгоритм диагностических методов исследований при ССГ и на доклиническом этапе (при отсутствии клинико-функциональных изменений) – прогнозировать его развитие, а в последующем стать основой для персонализированного подхода к терапии заболевания. 

Поступила / Received 29.06.2021

Поступила после рецензирования / Revised 15.07.2021

Принята в печать / Accepted 16.07.2021

Список литературы

- Craig J.P., Nelson J.D., Azar D.T., Belmonte C., Bron A.J., Chauhan S.K. et al. TFOS DEWS II Report Executive Summary. *Ocul Surf.* 2017;15(4):802–812. <https://doi.org/10.1016/j.jtos.2017.08.003>.
- Şimşek C., Doğru M., Kojima T., Tsubota K. Current Management and Treatment of Dry Eye Disease. *Türk J Ophthalmol.* 2018;48(6):309–313. <https://doi.org/10.4274/tjo.69320>.
- Uchino M. What We Know About the Epidemiology of Dry Eye Disease in Japan. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2018; 59(14):1–6. <https://doi.org/10.1167/jovs.17-23491>.
- Aggarwal S., Galor A. What's new in dry eye disease diagnosis? Current advances and challenges. *F100Res.* 2018;7:F1000 Faculty Rev-1952. <https://doi.org/10.12688/f1000research.16468.1>.
- Полунин Г.С., Куренков В.В., Сафонова Т.Н., Полунина Е.Г. Новая клиническая классификация синдрома сухого глаза. *Рефракционная хирургия и офтальмология.* 2003;3(3):53–56. Режим доступа: https://aktipol.com/usr/files/article_dry_eye.pdf.
- Сафонова Т.Н., Васильев В.И., Лихванцева В.Г. Синдром Шегрена. М.: Московский государственный Университет имени М.В. Ломоносова; 2013. 600 с. Режим доступа: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=28059569>.
- Хаитов Р.М., Ярилин А.А., Пинегин Б.В. *Иммунология: атлас.* М.: ГЭОТАР-Медиа; 2011. 624 с. Режим доступа: http://webirbis.kgmu.kz/irbis64r_11/books/R.M.Хаитов_Иммунология.pdf.
- Bolstad A.I., Jonsson R. Gene Therapy Gene therapeutics in Sjögren's syndrome. *Expert Opin Biol Ther.* 2005;5(6):763–772. <https://doi.org/10.1517/14712598.5.6.763>.
- El-Asrar A.M., Struyf S., Al-Kharashi S.A., Missotten L., Van Damme J., Geboes K. Expression of T lymphocyte chemoattractants and activation markers in vernal keratoconjunctivitis. *Br J Ophthalmol.* 2002;86(10):1175–1180. <https://doi.org/10.1136/bjo.86.10.1175>.
- Albertsmeyer A.C., Kakkassery V., Spurr-Michaud S., Beeks O., Gipson I.K. Effect of pro-inflammatory mediators on membrane-associated mucins expressed by human ocular surface epithelial cells. *Exp Eye Res.* 2010;90(3):444–451. <https://doi.org/10.1016/j.exer.2009.12.009>.
- Tamhane M., Cabrera-Ghayouri S., Abelian G., Viswanath V. Review of Biomarkers in Ocular Matrices: Challenges and Opportunities. *Pharm Res.* 2019;36(3):40. <https://doi.org/10.1007/s11095-019-2569-8>.
- McDermott A.M., Perez V., Huang A.J., Pflugfelder S.C., Stern M.E., Baudouin C. et al. Pathways of corneal and ocular surface inflammation: a perspective from the cullensymposium. *Ocul Surf.* 2005;3(4 Suppl.):S131–S138. [https://doi.org/10.1016/s1542-0124\(12\)70238-0](https://doi.org/10.1016/s1542-0124(12)70238-0).
- Marshall L.L., Stevens G.A. Management of Primary Sjögren's Syndrome. *Consult Pharm.* 2018;33(12):691–701. <https://doi.org/10.4140/TCPn.2018.691>.
- Kuklinski E., Asbell P.A. Sjogren's syndrome from the perspective of ophthalmology. *Clin Immunol.* 2017;182:55–61. <https://doi.org/10.1016/j.clim.2017.04.017>.
- Zlatanović G., Veselinović D., Cekić S., Zivković M., Dordević-Jocić J., Zlatanović M. Ocular manifestation of rheumatoid arthritis-different forms and frequency. *Bosn J Basic Med Sci.* 2010;10(4):323–327. <https://doi.org/10.17305/bjbm.2010.2680>.
- Kang M.H., Kim M.K., Lee H.J., Lee H.I., Wee W.R., Lee J.H. Interleukin-17 in various ocular surface inflammatory diseases. *J Korean Med Science.* 2011;26(7):938–944. <https://doi.org/10.3346/jkms.2011.26.7.938>.
- Daguano C., Bochinia C., Gehlén M. Anterior uveitis in the absence of scleritis in a patient with rheumatoid arthritis: case report. *Arq Bras Oftalmol.* 2011;74(2):132–133. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21779672/>.
- Kemeny-Beke A., Szodoray P. Ocular manifestations of rheumatic diseases. *Int Ophthalmol.* 2020;40(2):503–510. <https://doi.org/10.1007/s10792-019-01183-9>.
- Raychaudhuri S., Sandor C., Stahl E.A., Freudenberg J., Lee H.S., Jia X. et al. Five amino acids in three HLA proteins explain most of the association between MHC and seropositive rheumatoid arthritis. *Nat Genet.* 2012;44(3):291–296. <https://doi.org/10.1038/ng.1076>.
- Tong X., Li Z., Wu Y., Fu X., Zhang Y., Fan H. COMT 158G/A and CYP1B1 432C/G polymorphisms increase the risk of endometriosis and adenomyosis: a meta-analysis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2014;179:17–21. <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2014.04.039>.
- Сафонова Т.Н., Зайцева Г.В. Молекулярно-генетические исследования в прогнозе течения сухого кератоконъюнктивита. *Вестник офтальмологии.* 2018;134(3):108–115. <https://doi.org/10.17116/oftalma20181343108>.
- Сафонова Т.Н., Зайцева Г.В., Бурденный А.М., Лукина С.С., Логинов В.И. Взаимосвязь полиморфизмов гена *TRIM21* с тяжестью сухого кератоконъюнктивита при ревматоидном артрите и болезни Шегрена. *Вестник офтальмологии.* 2019;135(5):192–197. <https://doi.org/10.17116/oftalma2019135052192>.
- Al-Majdoub M., Koy C., Lorenz P., Thiesen H.J., Glocker M.O. Mass spectrometric and peptide chip characterization of an assembled epitope: analysis of a polyclonal antibody model serum directed against the Sjögren/systemic lupus erythematosus autoantigen TRIM21. *J Mass Spectrom.* 2013;48(6):651–659. <https://doi.org/10.1002/jmr.3208>.
- Begovich A.B., Carlton V.E., Honigberg L.A., Schrod J., Chokkalingam A.P., Alexander H.C. et al. A missense single nucleotide polymorphism in a gene encoding a protein tyrosine phosphatase (PTPN22) is associated with rheumatoid arthritis. *Am J Hum Genet.* 2004;75(2):330–337. <https://doi.org/10.1086/422827>.
- Bottini N., Peterson E.J. Tyrosine Phosphatase PTPN22: multifunctional regulator of immune signaling, development and disease. *Annu Rev Immunol.* 2013;32:83–119. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-032713-120249>.
- Huang J.J., Qiu Y.R., Li H.X., Sun D.H., Yang J., Yang C.L. A PTPN22 promoter polymorphism 21123G>C is associated with RA pathogenesis in Chinese. *Rheumatol Int.* 2012;32(3):767–771. <https://doi.org/10.1007/s00296-010-1705-x>.

References

- Craig J.P., Nelson J.D., Azar D.T., Belmonte C., Bron A.J., Chauhan S.K. et al. TFOS DEWS II Report Executive Summary. *Ocul Surf.* 2017;15(4):802–812. <https://doi.org/10.1016/j.jtos.2017.08.003>.
- Şimşek C., Dođru M., Kojima T., Tsubota K. Current Management and Treatment of Dry Eye Disease. *Turk J Ophthalmol.* 2018;48(6):309–313. <https://doi.org/10.4274/tjo.69320>.
- Uchino M. What We Know About the Epidemiology of Dry Eye Disease in Japan. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2018; 59(14):1–6. <https://doi.org/10.1167/iovs.17-23491>.
- Aggarwal S., Galor A. What's new in dry eye disease diagnosis? Current advances and challenges. *F100Res.* 2018;7:F1000 Faculty Rev-1952. <https://doi.org/10.12688/f1000research.16468.1>.
- Polunin G.S., Kurenkov V.V., Safonova T.N., Polunina E.G. New clinical classification of dry eye syndrome. *Refraktsionnaya khirurgiya i oftalmologiya = Refractive Surgery and Ophthalmology.* 2003;3(3):53–56. (In Russ.) Available at: https://aktipol.com/usr/files/article_dry_eye.pdf.
- Safonova T.N., Vasiliev V.I., Likhvantseva V.G. *Sjogren syndrome.* Moscow: Lomonosov Moscow State University; 2013. 600 p. (In Russ.) Available at: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=28059569>.
- Khaitov P.M., Yarin A.A., Pinegin B.V. *Immunology: atlas.* Moscow: GEOTAR-Media; 2011. 624 p. (In Russ.) Available at: http://webirbis.kgmu.kz/irbis64r_11/books/P.M.Хайтов_Иммунология.pdf.
- Bolstad A.I., Jonsson R. Gene Therapy Gene therapeutics in Sjögren's syndrome. *Expert Opin Biol Ther.* 2005;5(6):763–772. <https://doi.org/10.1517/14712598.5.6.763>.
- El-Asrar A.M., Struyf S., Al-Kharashi S.A., Missotten L., Van Damme J., Geboes K. Expression of T lymphocyte chemoattractants and activation markers in vernal keratoconjunctivitis. *Br J Ophthalmol.* 2002;86(10):1175–1180. <https://doi.org/10.1136/bjo.86.10.1175>.
- Albertsmeijer A.C., Kakkassery V., Spurr-Michaud S., Beeks O., Gipson I.K. Effect of pro-inflammatory mediators on membrane-associated mucins expressed by human ocular surface epithelial cells. *Exp Eye Res.* 2010;90(3):444–451. <https://doi.org/10.1016/j.exer.2009.12.009>.
- Tamhane M., Cabrera-Ghayouri S., Abelian G., Viswanath V. Review of Biomarkers in Ocular Matrices: Challenges and Opportunities. *Pharm Res.* 2019;36(3):40. <https://doi.org/10.1007/s11095-019-2569-8>.
- McDermott A.M., Perez V., Huang A.J., Pflugfelder S.C., Stern M.E., Baudouin C. et al. Pathways of corneal and ocular surface inflammation: a perspective from the cullensymposium. *Ocul Surf.* 2005;3(4 Suppl): S131–138. [https://doi.org/10.1016/s1542-0124\(12\)70238-0](https://doi.org/10.1016/s1542-0124(12)70238-0).
- Marshall L.L., Stevens G.A. Management of Primary Sjögren's Syndrome. *Consult Pharm.* 2018;33(12):691–701. <https://doi.org/10.4140/TCPn.2018.691>.
- Kuklinski E., Asbell P.A. Sjogren's syndrome from the perspective of ophthalmology. *Clin Immunol.* 2017;182:55–61. <https://doi.org/10.1016/j.clim.2017.04.017>.
- Zlatanović G., Veselinović D., Cekić S., Zivković M., Dorđević-Jocić J., Zlatanović M. Ocular manifestation of rheumatoid arthritis-different forms and frequency. *Bosn J Basic Med Sci.* 2010;10(4):323–327. <https://doi.org/10.17305/bjbm.2010.2680>.
- Kang M.H., Kim M.K., Lee H.J., Lee H.I., Wee W.R., Lee J.H. Interleukin-17 in various ocular surface inflammatory diseases. *J Korean Med Science.* 2011;26(7):938–944. <https://doi.org/10.3346/jkms.2011.26.7.938>.
- Daguano C., Bochinia C., Gehlén M. Anterior uveitis in the absence of scleritis in a patient with rheumatoid arthritis: case report. *Arq Bras Oftalmol.* 2011;74(2):132–133. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21779672/>.
- Kemeny-Beke A., Szodoray P. Ocular manifestations of rheumatic diseases. *Int Ophthalmol.* 2020;40(2):503–510. <https://doi.org/10.1007/s10792-019-01183-9>.
- Raychaudhuri S., Sandor C., Stahl E.A., Freudenberg J., Lee H.S., Jia X. et al. Five amino acids in three HLA proteins explain most of the association between MHC and seropositive rheumatoid arthritis. *Nat Genet.* 2012;44(3):291–296. <https://doi.org/10.1038/ng.1076>.
- Tong X., Li Z., Wu Y., Fu X., Zhang Y., Fan H. COMT 158G/A and CYP1B1 432C/G polymorphisms increase the risk of endometriosis and adenomyosis: a meta-analysis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2014;179:17–21. <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2014.04.039>.
- Safonova T.N., Zaitseva G.V. Molecular genetic examination for dry eye syndrome prognosis. *Vestnik Oftalmologii = The Russian Annals of Ophthalmology.* 2018;134(3):108–115. <https://doi.org/10.17116/oftalma20181343108>.
- Zaitseva G.V., Loginov V.I., Burdenniy A.M., Lukina S.S. Association of polymorphisms of the TRIM21 gene with the severity of dry keratoconjunctivitis in rheumatoid arthritis and Sjögren's disease. *Vestnik Oftalmologii = The Russian Annals of Ophthalmology.* 2019;135(5):192–198. (In Russ.) <https://doi.org/10.17116/oftalma2019135052192>.
- Al-Majdoub M., Koy C., Lorenz P., Thiesen H.J., Glocker M.O. Mass spectrometric and peptide chip characterization of an assembled epitope: analysis of a polyclonal antibody model serum directed against the Sjögren/systemic lupus erythematosus autoantigen TRIM21. *J Mass Spectrom.* 2013;48(6):651–659. <https://doi.org/10.1002/jmr.3208>.
- Begovich A.B., Carlton V.E., Honigberg L.A., Schrodi S.J., Chokkalingam A.P., Alexander H.C. et al. A missense single nucleotide polymorphism in a gene encoding a protein tyrosine phosphatase (PTPN22) is associated with rheumatoid arthritis. *Am J Hum Genet.* 2004;75(2):330–337. <https://doi.org/10.1086/422827>.
- Bottini N., Peterson E.J. Tyrosine Phosphatase PTPN22: multifunctional regulator of immune signaling, development and disease. *Annu Rev Immunol.* 2013;32:83–119. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-032713-120249>.
- Huang J.J., Qiu Y.R., Li H.X., Sun D.H., Yang J., Yang C.L. A PTPN22 promoter polymorphism 21123G>C is associated with RA pathogenesis in Chinese. *Rheumatol Int.* 2012;32(3):767–771. <https://doi.org/10.1007/s00296-010-1705-x>.

Информация об авторах:

Сафонова Татьяна Николаевна, к.м.н., ведущий научный сотрудник отделения патологии слезного аппарата, Научно-исследовательский институт глазных болезней; 119021, Россия, Москва, ул. Россолимо, д. 11, А, Б; safotat@mail.ru

Зайцева Галина Валерьевна, младший научный сотрудник отделения патологии слезного аппарата, Научно-исследовательский институт глазных болезней; 119021, Россия, Москва, ул. Россолимо, д. 11, А, Б; privezentseva.galya@mail.ru

Бурденный Алексей Михайлович, к.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории патогеномики и транскриптомики, Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии; 125315, Россия, Москва, ул. Балтийская, д. 8; burdenyuy@gmail.com

Логинов Виталий Игоревич, к.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории патогеномики и транскриптомики, Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии; 125315, Россия, Москва, ул. Балтийская, д. 8; loginov7w@gmail.com

Information about the authors:

Tatiana N. Safonova, Cand. Sci. (Med.), Leading Researcher of the Department of Pathology of the Lacrimal System, Research Institute of Eye Diseases; 11 A, B, Rossolimo St., Moscow, 119021, Russia; safotat@mail.ru

Galina V. Zaitseva, Junior Researcher, Department of Lacrimal System Pathology, Research Institute of Eye Diseases; 11 A, B, Rossolimo St., Moscow, 119021, Russia; privezentseva.galya@mail.ru

Alexey M. Burdennyy, Cand. Sci. (Biol.), Leading Researcher, Laboratory of Pathogenomics and Transcriptomics, Institute of General Pathology and Pathophysiology; 8, Baltiyskaya St., Moscow, 125315 Russia; burdennyy@gmail.com

Vitaly I. Loginov, Cand. Sci. (Biol.), Leading Researcher, Laboratory of Pathogenomics and Transcriptomics, Institute of General Pathology and Pathophysiology; 8, Baltiyskaya St., Moscow, 125315 Russia; loginov7w@gmail.com