

**АНАЛИЗ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ АЛЛЕЛЕЙ ГЕНА-РЕЦЕПТОРА ВИТАМИНА D ПРИ МИОПИИ**

**В. Ю. Горбунова** — ГАУ ДПО «Институт развития образования Республики Башкортостан», заведующий кафедрой естественно-научного образования, профессор, доктор биологических наук; **Г. Н. Резбаева** — ФГБУ «Всероссийский центр глазной и пластической хирургии» Минздрава России, заведующая отделом детской офтальмологии, врач-офтальмолог; **Е. В. Воробьева** — ФГБОУ ВО «Башкирский государственный педагогический университет им. М. Акмуллы», доцент кафедры генетики, кандидат биологических наук; **В. У. Галимова** — ФГБОУ ВО «Башкирский ГМУ» Минздрава России, профессор кафедры офтальмологии с курсом ИДПО, доктор медицинских наук.

**ANALYSIS OF THE INTERACTION OF THE VITAMIN D RECEPTOR GENE ALLELES IN MYOPIA**

**V. Yu. Gorbunova** — Institute of Education Development of the Republic of Bashkortostan, Head of Department of Natural Science Education, Professor, DSc; **G. N. Rezbaeva** — Russian Eye and Plastic Surgery Centre, Head of Department of Pediatric Ophthalmology, Ophthalmologist; **E. V. Vorobyeva** — Bashkir State Pedagogical University, Associate Professor of Department of Genetics, PhD; **V. U. Galimova** — Bashkir State Medical University, Professor of Department of Ophthalmology, DSc.

Дата поступления — 01.04.2021 г.

Дата принятия в печать — 26.05.2021 г.

**Горбунова В. Ю., Резбаева Г. Н., Воробьева Е. В., Галимова В. У.** Анализ взаимодействия аллелей гена-рецептора витамина D при миопии. Саратовский научно-медицинский журнал 2021; 17 (2): 286–291.

**Цель:** анализ взаимодействия аллелей гена-рецептора витамина D (VDR) у пациентов с миопией для использования в персонализированной ранней диагностике и профилактике болезни. **Материал и методы.** Общая выборка исследования состояла из образцов ДНК 226 человек, проживающих на территории Российской Федерации. Контрольная выборка включала 103 человека: 45 мужчин (43%) и 58 женщин (56%) с исходной эмметропией (длина ПЗО 22,4–24,2 мм). ДНК из венозной крови выделяли по методике К. Мэтью фенольно-хлороформным методом экстракции. Генотипирование выполняли по методу KASP™ Real-time, PCR. **Результаты.** Впервые проведено изучение совместного влияния четырех аллелей гена VDR на функционирование различных структур глазного аппарата, нарушение которых может приводить к развитию миопии. Гаплотипный анализ выявил протективное сочетание аллелей b/b (rs1544410, BsmI) и T/T (rs2228570, FokI) гена VDR, которое обеспечивает нормальный синтез коллагена склеры ( $p=0,03$ ,  $\chi^2=4,51$ ). **Заключение.** Выявлены гаплотипы B/B (rs1544410, BsmI) C/C (rs2228570) и B/b (rs1544410, BsmI) C/C (rs2228570) в гене VDR, которые характеризуют развитие осложненной миопии и могут использоваться как диагностические маркеры для раннего выявления предрасположенности к миопии и проведения предиктивных и профилактических мероприятий.

**Ключевые слова:** миопия, коллаген, ген-рецептор витамина D.

**Gorbunova VYu, Rezbaeva GN, Vorobyeva EV, Galimova VU.** Analysis of the interaction of the vitamin D receptor gene alleles in myopia. Saratov Journal of Medical Scientific Research 2021; 17 (2): 286–291.

**Objective:** to analyze the interaction of the vitamin D receptor (VDR) gene alleles in patients with myopia for use in its personalized early diagnosis and prevention. **Material and Methods.** The total sample of the study consisted of DNA samples of 226 people living on the territory of the Russian Federation. The control sample included 103 people: 45 men (43%) and 58 women (56%) with initial emmetropia (PZO length is 22.4–24.2 mm). DNA from venous blood was isolated according to C. Mathew by the phenol-chloroform extraction method. Genotyping was performed using the KASP™ Real-time, PCR method. **Results.** For the first time, the study of the combined effect of four alleles of the VDR gene on the functioning of various structures of the ocular apparatus, the violation of which can lead to the development of myopia, was carried out. Haplotype analysis revealed a protective combination of alleles b/b (rs1544410, BsmI) and T/T (rs2228570, FokI) of the VDR gene, which provides normal synthesis of sclera collagen ( $p=0.03$ ,  $\chi^2=4.51$ ). **Conclusion.** Haplotypes B/B (rs1544410, BsmI) C/C (rs2228570) and B/b (rs1544410, BsmI) C/C (rs2228570) in the VDR gene were identified, which characterize the development of complicated myopia and can be used as diagnostic markers for early detection of predisposition to myopia and predictive and preventive measures.

**Key words:** myopia, collagen, vitamin D receptor gene.

**Введение.** Миопия квалифицируется как многофакторное заболевание, и если этиология со стороны анатомических особенностей строения глаза на данный момент изучена, то исследование вклада генетических факторов в предрасположенность к миопии представлено меньше.

Миопия — это особенность строения оптики глаза (аномалия рефракции), при которой лучи, преломляемые оптической системой, фокусируются перед сетчаткой.

В публикациях последних лет особое внимание уделяется роли гена-регулятора метаболизма коллагена — VDR (vitamin D receptor), продуктом которого является рецептор к витамину D. Установлено, что одной из мишеней для VDR, активированного витамином D, является ингибирование на транскрипционном уровне синтеза многих изоформ коллагена, в том числе коллагенов типа I, III и V [1], являющихся

компонентами матрикса склеры глаза, дезорганизация чего ведет к миопической рефракции. Следовательно, рецептор к витамину D, а также сам витамин D могут участвовать в развитии миопии.

Несмотря на большое число имеющихся публикаций, по-прежнему не ясно, как именно генетические системы и их взаимодействие в организме приводят к патологии структур глаза и в дальнейшем вызывают миопическую рефракцию. В связи с этим возникает необходимость исследования вклада протективных и непротективных аллелей гена VDR в развитие миопии.

Ген VDR расположен на коротком плече 12-й хромосомы (12p12-q14), имеет размер около 80 Кб и содержит 9 экзонов и 8 интронов [2]. В гене выделяют некодирующую и кодирующую области. Некодирующая область находится на 5' — конце гена и включает 1 экзон, состоящий из нескольких доменов: 1a, 1b и 1c. Последующие восемь экзонов (2–9-й) кодируют структурную часть белкового продукта гена VDR [2].

Рецептор витамина D играет роль посредника в передаче биологического действия 1,25-дигидрок-

**Ответственный автор** — Резбаева Гульнара Нилевна  
Тел.: +7 (909) 3509988  
E-mail: gulnarani@mail.ru

сивитамина D3 (1 $\alpha$ ,25 (OH) 2D3) — кальцитриола), модулируя экспрессию генов на транскрипционном и посттрансляционном уровнях [3].

Для исследования ассоциации представляют интерес следующие полиморфизмы: *rs1544410 (BsmI)* и *rs2228570 (FokI)*. Полиморфный сайт гена как *BsmI (rs1544410)*, находящийся в 8-м интроне, связан со стабильностью мРНК [4]. Полиморфизм представляет собой замену нуклеотида A>G в старт-кодоне, что приводит к смещению инициаторного кодона на три кодона от начала. В результате альтернативного сплайсинга образуются несколько вариантов транскриптов, кодирующих различные белки.

Непротективный аллель \*B (G) связывают с увеличением экспрессии гена, что ведет к увеличению образования продукта и, следовательно, к более активному ингибированию нормального синтеза коллагена.

Протективный аллель \*b (A) характеризуется нормальным уровнем образования рецептора к витамину D, что приводит к умеренной работе последнего и не влияет на синтез изоформ коллагена.

Полиморфизм *FokI* располагается во 2-м экзоне гена *VDR* и воздействует на транскрипционные процессы. Замена T на C при трансляции старт-кодона (соответственно замена ATG — ACG) ведет к синтезу двух вариантов белка: длинному (аллель \*T или \*f, также называемый формой M1, т.е. метионин в 1-й позиции) и короткому (аллель \*C или \*F, также называемый формой M4, т.е. метионин в 4-й позиции). Стоит отметить, что длинный белок (генотип T/T или f/f) обладает более выраженной транскрипционной активностью по сравнению с короткой.

**Цель:** анализ взаимодействия аллелей гена-рецептора витамина D (*VDR*) у пациентов с миопией для использования в ее персонализированной ранней диагностике и профилактике.

**Материал и методы.** Общая выборка исследования состояла из образцов ДНК 226 человек, проживающих на территории Российской Федерации. Все обследованные студенты, а также дети и их законные представители были информированы о проводимом исследовании, получено письменное информированное согласие на участие в нем и обработку персональных данных с одобрением биоэтического комитета.

Одна группа включала больных с клинически подтвержденным диагнозом «миопия» (123 человека: 55 мужчин (45%) и 68 женщин (55%)), с разной степенью миопии и различной длиной переднезадней оси глаза (ПЗО). Высокая степень миопии характеризуется величиной клинической рефракции (дптр) более (-) 6,0 и ПЗО 25,1–27,2 мм.

Контрольная выборка состояла из 103 человек: 45 мужчин (43%) и 58 женщин (56%) с исходной эмметропией (длина ПЗО 22,4–24,2 мм).

Молекулярно-генетическая работа выполнена в лаборатории Центра молекулярно-генетических и инновационных исследований при кафедре генетики естественно-географического факультета Башкирского государственного педагогического университета им. М. Акмуллы. Клинические исследования проведены в ФГБУ «Всероссийский центр глазной и пластической хирургии» Минздрава России.

Для определения клинической рефракции применяли объективный способ с помощью автоматического рефракто/кератометра HRK-7000 фирмы Huvitz. Переднезаднюю длину оси глаза определяли с помощью оптического биометра IOL-Master 500 (Carl Zeiss, Германия). Для определения кандидатных генов при генетико-эпидемиологических исследованиях использовалась программа SNPStats, которая находится в открытом доступе по ссылке: <https://www.snpstats.net> [5].

Для получения ДНК необходимой степени чистоты и достаточного молекулярного веса использовали методику выделения ДНК из крови, разработанную К. Мэтью [6]. Праймеры (табл. 1) подобраны из базы данных GenBank (<http://ncbi.nlm.nih.gov>). Генотипирование проводили по методу KASP™ (Kompetitive Allele Specific PCR) на анализаторе серии BIO-RADCFX Real-time, PCR. Межгенное взаимодействие определяли по программе Multifactor Dimensionality Reduction 2.0 (MDR 2.0).

Статистическая обработка данных выполнена с использованием пакета программ Statistica for Windows 6.0 (StatSoft), программного обеспечения MS Excel 2013 (Microsoft). Для выявления ассоциации между генотипами и клиническими значениями статистическая обработка данных проведена с использованием таблиц сопряженности 2x<sup>2</sup> (с поправкой Йейтса на непрерывность). Для проверки соответствия эмпирического распределения частот генотипов теоретически ожидаемому равновесному распределению Харди — Вайнберга использовали модифицированный критерий  $\chi^2$  (P). При попарном сравнении частот генотипов и аллелей в двух различных группах использовался двусторонний критерий Фишера  $p$  ( $F_2$ ). Достоверными считали различия частот аллелей и генотипов при значении  $p \leq 0,05$ . Для всех исследованных полиморфных вариантов, как в контрольной, так и в опытной выборке, распределение частот генотипов данных локусов соответствует равновесию Харди — Вайнберга ( $p < 0,05$ ).

**Результаты.** Анализ распределения частот генотипов и аллелей по полиморфному варианту *rs1544410* гена *VDR* показал, что протективный ал-

Таблица 1

Тип полиморфизма и последовательность праймеров

Тип полиморфизма, локализация	Праймеры (рестриктаза)	Ссылка
<b>VDR</b> <i>rs2228570 (FokI, Ex4+4T&gt;C)</i> 12p12-q14, 2-й экзон	Прямой: 5'AGCTGGCCCTGGCACTGACTCTGCTCT-3' Обратный: 5'ATGGAACACSTTGCTTCTTCCCTC-3' Рестриктаза: <i>FokI</i> (инкубация при 37°C)	[1]
<b>VDR</b> <i>rs1544410 (BsmI), A&gt;G</i> 12p12-q14, 8-й интрон	Прямой: 5' — GCATCGTCTCCCCAGGTATG-3' Обратный: 5' — ACCAGCGGAAGAGGTCAAG-3' Рестриктаза: <i>PctI</i> (инкубация при 37°C)	[4]

Распределение частот генотипов и аллелей по полиморфному варианту *rs1544410* гена *VDR*

Генотип/аллель	Контроль (n=103)		Миопы (n=123)		p (χ <sup>2</sup> )
	n	p <sup>i</sup> +s <sup>i</sup>	n	p <sup>i</sup> +s <sup>i</sup>	
V/B	18	0,17±0,03	43	0,35±0,04	0,004 (7,83) *
V/b	47	0,46±0,05	38	0,31±0,04	0,023 (5,4) *
b/b	38	0,37±0,05	42	0,34±0,04	0,772 (0,085)
*B	83	0,40±0,03	124	0,50±0,03	0,04 (4,22) *
*b	123	0,60±0,03	122	0,50±0,03	0,04 (4,22) *

Примечание: \* — p<0,01.

Алель \*b достоверно чаще встречается в группе здоровых индивидов (p=0,04, χ<sup>2</sup>=4,22). Так, частота аллеля \*b в группе здоровых людей составляет 60%, при 50% в группе с миопией. Гетерозиготный генотип V/b встречается в группе контроля с частотой 46%, а в группе миопов с частотой 31%, что связано с протективной функцией аллеля \*b, который характеризуется нормальным уровнем образования рецептора к витамину D, что приводит к умеренной работе последнего и не снижает синтез изоформ коллагена склеральной ткани глаза (табл. 2).

В группе с миопией достоверно выше частота мутантного аллеля \*B и гомозиготного по мутантному аллелю генотипа V/B (p=0,04, χ<sup>2</sup>=4,22 и p=0,006, χ<sup>2</sup>=7,83 соответственно). Частота аллеля \*B в группе с миопией составляет 50%, что выше, чем в группе контроля: 40%. Мутантный гомозиготный генотип V/B встречается в группе миопов с частотой 35%, что значительно выше, чем в группе контроля: 17%. Это связано с более активной экспрессией гена, что ведет к увеличению образования белкового продукта и, следовательно, к более активному ингибированию нормального синтеза коллагена склеры. Анализ взаимодействия аллелей полиморфного варианта *rs1544410* гена *VDR* с помощью программы SNPstats выявил рецессивный тип их взаимодействия (p=0,0018, AIC=305,8 (табл. 3).

Учитывая, что наиболее подходящая модель выбирается согласно наименьшему критерию Акаике (AIC), в данном случае достоверной моделью взаимодействия считается рецессивная. Такая модель свидетельствует о том, что для проявления заболевания требуются оба варианта непротективных аллелей,

т.е. гомозигота — V/B, а гетерозиготные особи V/b защищены при наличии рецессивного аллеля.

Результаты анализа распределения частот генотипов и аллелей по полиморфному варианту *rs2228570* гена *VDR* в группе с миопией и группе контроля с помощью таблицы сопряженности 2x<sup>2</sup> с поправкой Йейтса на непрерывность представлены в табл. 4.

Анализ распределения частот генотипов и аллелей показал достоверные значения по протективному генотипу T/T (p=0,055, χ<sup>2</sup>=3,67). В группе контроля данный генотип встречается с частотой 39%, а в группе больных наблюдается у 26% индивидов. Протективный аллель \*T достоверно чаще встречается в контроле: у 67%, а среди миопов у 53% (p=0,0031, χ<sup>2</sup>=9,36).

В группе с миопией достоверно выше частота мутантного аллеля \*C и гомозиготного по мутантному аллелю генотипа C/C (p=0,0031, χ<sup>2</sup>=9,36 и p=0,001, χ<sup>2</sup>=12,118 соответственно). Частота аллеля \*C в группе с миопией составляет 47%, что выше, чем в группе контроля: 33%. Мутантный гомозиготный генотип C/C встречается в группе миопов с частотой 20%, что значительно выше, чем в группе контроля: 4%, из чего следует, что транскрипционно менее активный короткий вариант \*C связан с подавлением нормального синтеза изоформ коллагена, что не способствует нормальному формированию склеральной ткани.

Результаты SNP-анализа полиморфного варианта *rs2228570* гена *VDR*, проведенного с помощью программы SNPstas, представлены в табл. 5.

SNP-анализ полиморфного варианта *rs2228570* гена *VDR* выявил три достоверные модели взаимодействия: кодоминантную (p=0,0001, AIC=301,1, ОШ=1,40, ДИ=0,78–2,50), рецессивную (p=0,0001,

Таблица 3

SNP-анализ полиморфного варианта *rs1544410* гена *VDR*

Модель	Генотип	Контроль	Миопы	ОШ (95% ДИ)	p	AIC
Кодоминантная	b/b	38 (36,9%)	42 (34,1%)	1,00	0,004	306,7*
	V/b	47 (45,6%)	37 (30,1%)	0,71 (0,39–1,32)		
	V/B	18 (17,5%)	44 (35,8%)	2,21 (1,10–4,46)		
Доминантная	b/b	38 (36,9%)	42 (34,1%)	1,00	0,67	315,3
	V/b — V/B	65 (63,1%)	81 (65,8%)	1,13 (0,65–1,95)		
Рецессивная	b/b — V/b	85 (82,5%)	79 (64,2%)	1,00	0,001	305,8*
	V/B	18 (17,5%)	44 (35,8%)	2,63 (1,40–4,93)		
Сверхдоминантная	b/b — V/B	56 (54,4%)	86 (69,9%)	1,00	0,016	309,7
	V/b	47 (45,6%)	37 (30,1%)	0,51 (0,30–0,89)		
Лог-аддитивная	- —	- —	- —	1,41 (1,00–1,97)	0,045	311,5

Примечание: \* — p<0,01.

Таблица 4

## Распределение частот генотипов и аллелей по полиморфному варианту rs2228570 гена VDR

Генотип/аллель	Контроль (n=103)		Миопы (n=123)		p (x <sup>2</sup> )
	n	p <sup>i</sup> +s <sup>i</sup>	n	p <sup>i</sup> +s <sup>i</sup>	
C/C	4	0,04±0,02	25	0,20±0,03	0,001 (12,118) *
C/T	59	0,57±0,05	66	0,54±0,04	0,680 (0,17)
T/T	40	0,39±0,05	32	0,26±0,04	0,055 (3,67) *
*C	67	0,33±0,03	116	0,47±0,03	0,003 (9,36) *
*T	139	0,67±0,03	130	0,53±0,03	0,003 (9,36) *

Примечание: \* — p&lt;0,01.

Таблица 5

## SNP-анализ полиморфного варианта rs2228570 гена VDR

Модель	Генотип	Контроль	Миопы	ОШ (95% ДИ)	p	AIC
Кодоминантная	T/T	40 (38,8%)	32 (26,0%)	1,00	0,0001	301,1*
	C/T	59 (57,3%)	66 (53,7%)	1,40 (0,78–2,50)		
	C/C	4 (3,9%)	25 (20,3%)	3,92 (1,21–12,75)		
Доминантная	T/T	40 (38,8%)	32 (26,0%)	1,00	0,04	311,3
	C/T — C/C	63 (61,2%)	91 (74%)	1,81 (1,03–3,18)		
Рецессивная	T/T — C/T	99 (96,1%)	98 (79,7%)	1,00	0,0001	300,4*
	C/C	4 (3,9%)	25 (20,3%)	6,31 (2,12–18,81)		
Сверхдоминантная	T/T — C/C	44 (42,7%)	57 (46,3%)	1,00	0,59	315,2
	C/T	59 (57,3%)	66 (53,7%)	0,86 (0,51–1,46)		
Лог-аддитивная	-	-	-	2,11 (1,36–3,26)	0,0001	303,6*

Примечание: \* — p&lt;0,01.

AIC=300,4, ОШ=6,31, ДИ=2,12–18,81) и лог-аддитивную (p=0,0001, AIC=303,6, ОШ=2,11, ДИ=1,36–3,26), каждая из которых свидетельствует о рисковом влиянии мутантного генотипа C/C и аллеля \*C на развитие миопии.

Кодоминантная модель взаимодействия указывает на то, что каждый генотип изменяет риск развития миопии, независимо от остальных, неаддитивно [5], а значит, наличие даже одного мутантного аллеля \*C является рисковым для развития миопии.

Учитывая, что наиболее подходящая модель выбирается согласно наименьшему критерию Акаике (AIC), в данном случае достоверной моделью взаимодействия считается рецессивная. Такая модель

свидетельствует о том, что для проявления заболевания требуются оба варианта непротективных аллелей, т.е. гомозигота — C/C.

Проанализировано 9 из девяти возможных сочетаний попарного сравнения гаплотипов аллелей гена VDR (rs1544410, BsmI) и VDR (rs2228570, FokI) в группе с миопией и в группе контроля. Гаплотипный анализ распределения частот сочетаний аллелей гена VDR по полиморфным вариантам (rs1544410, BsmI) и VDR (rs2228570, FokI) выявил достоверное различие в исследуемых группах по сочетанию протективных генотипов b/b и T/T. В группе контроля такое сочетание имеют 47% индивидов, а в группе с миопией 24% (p=0,03, x<sup>2</sup>=4,51; табл. 6).

Таблица 6

## Распределение частот сочетаний генотипов полиморфных вариантов гена VDR (rs1544410, BsmI) и VDR (rs2228570, FokI)

Контроль (n=103)				Миопы (n=123)				p (x <sup>2</sup> )
VDR (BsmI)	VDR (FokI)	n	p <sup>i</sup>	VDR (BsmI)	VDR (FokI)	n	p <sup>i</sup>	
b/b	T/T	18	0,47	b/b	T/T	10	0,24	0,03 (4,51) *
b/b	C/T	17	0,45	b/b	C/T	21	0,51	0,91 (0,013)
b/b	C/C	3	0,08	b/b	C/C	10	0,25	0,09 (2,81)

Контроль (n=103)				Миопия (n=123)				p ( $\chi^2$ )
VDR (BsmI)	VDR (FokI)	n	p <sup>i</sup>	VDR (BsmI)	VDR (FokI)	n	p <sup>i</sup>	
B/b	T/T	17	0,36	B/b	T/T	9	0,24	0,03 (4,65) *
B/b	C/T	30	0,64	B/b	C/T	20	0,54	0,03 (4,69) *
B/b	C/C	1	0,04	B/b	C/C	9	0,22	0,06 (7,85) *
B/B	T/T	5	0,28	B/B	T/T	13	0,3	0,13 (2,49)
B/B	C/T	12	0,66	B/B	C/T	25	0,57	0,008 (3,08) *
B/B	C/C	1	0,06	B/B	C/C	6	0,13	0,09 (2,85) *

Примечание: \* —  $p < 0,05$ .

Выявлено протективное влияние рецессивных аллелей и в гаплотипах B/b и T/T ( $p=0,03$ ,  $\chi^2=4,65$ ), B/b и C/T ( $p=0,03$ ,  $\chi^2=4,69$ ), B/b и C/C ( $p=0,06$ ,  $\chi^2=7,85$ ). Мутантные аллели гена *VDR* связаны с более активной экспрессией гена, что ведет к увеличению образования продукта и, следовательно, к более активному ингибированию нормального синтеза коллагена склеры, что увеличивает риск нарушений в ее строении и ведет к развитию миопии. Гаплотипы B/B (*rs1544410*, *BsmI*) C/C (*rs2228570*) в гене *VDR* характеризуют предрасположенность к развитию осложненной миопии. Так, у этих пациентов наблюдаются высокая величина клинической рефракции и высокие характеристики переднезадней оси глаза.

**Обсуждение.** Известно, что рецептор к витамину D (*VDR*) относится к ядерным рецепторам надсемейства транскрипционных факторов, лигандами для которых являются стероидные гормоны. Данная группа рецепторов включает в себя рецепторы к эстрогенам, прогестерону, андрогенам, глюкокортикоидным и минералокортикоидным гормонам. Основным лигандом для *VDR* является витамин 1,25 (ОН) 2D3 [7]. Рецептор витамина D играет роль посредника в передаче биологического действия 1,25-дигидроксивитамина D3 (1a,25 (ОН) 2D3) — кальцитриола, модулируя экспрессию генов на транскрипционном и посттрансляционном уровнях [3].

Рецепторы к витамину D (РВД) обнаружены в клетках более тридцати тканей организма человека, в том числе в фоторецепторах, ганглиозных клетках и клетках пигментного эпителия сетчатки, эпителии ресничного тела и хрусталика, а также в эндотелии и базальном эпителии роговицы [8].

Функции *VDR* в тканях глаза человека до сих пор не изучены. Однако было установлено, что одной из мишеней для *VDR*, активированного витамином D, является ингибирование на транскрипционном уровне синтеза многих изоформ коллагена, в том числе коллагенов типа I, III и V, являющихся компонентами матрикса склеры [1]. Для исследования в области миопии представляет интерес такой полиморфный сайт гена, как *BsmI* (*rs1544410*), находящийся в 8-м интроне, который связан со стабильностью мРНК [4].

Возможной функцией рецептора к витамину D (ген *VDR*) в тканях глаза может быть регуляция экспрессии генов коллагенов. Следовательно, рецептор к витамину D, а также сам витамин D могут иметь значение в регуляции роста глаза и, соответственно, в развитии миопии.

Мутации же, приводящие к замене любой аминокислоты, исключают возможность связывания рецептора к витамину D (ген *VDR*) со специфической по-

следовательностью ДНК, прерывая РВД-зависимую активацию генов-мишеней.

РВД, как и другие ядерные рецепторы, регулирует транскрипцию генов путем связывания с их специфическими последовательностями в области промоторов. Такие последовательности были названы элементами ответа витамина (ЭОВД). В настоящее время обнаружено ограниченное количество генов, находящихся под контролем кальцитриола. ЭОВД представляет собой прямой повтор гексануклеотидной последовательности G/AGGTG/CA с трёхнуклеотидной областью спейсера, отделяющего две части элемента. Одним из генов, содержащих ЭОВД, является ген *COL1A1*, и установлено, что одной из мишеней для *VDR*, активированного витамином D, является ингибирование на транскрипционном уровне синтеза многих изоформ коллагена, в том числе коллагенов типа I, III и V, являющихся компонентами матрикса склеры, нарушение структуры которой ведет к миопии [4].

Следовательно, рецептор к витамину D, а также сам витамин D могут играть роль в патогенезе миопии, так как ведущим фактором в патогенезе миопии является растяжение склеры вследствие ослабления ее прочностных свойств из-за ингибирования синтеза изоформ коллагена. В нашем исследовании показана достоверно высокая частота распределения непротективных аллелей и генотипов по гену *VDR* в группе с клинически диагностированной миопией в сравнении с контрольной группой.

Поэтому дальнейшие исследования необходимо направить на изучение аллелей генов, кодирующих коллагены разных типов, особенно коллаген 1-го тип (ген *COL1A1*), который является определяющим в предрасположенности к миопии. Дальнейшие исследования взаимного влияния аллелей генов, кодирующих коллагены, и усвоения витамина D необходимы для выявления их взаимодействия как для предикции развития миопии, так и для профилактики заболевания до его манифестации. Это уникальная возможность для раскрытия и понимания данной аномалии рефракции.

**Заключение.** Выявлена взаимосвязь степени тяжести миопии у пациентов с полиморфизмами гена *VDR*. Анализ распределения частот генотипов и аллелей по полиморфному варианту *rs1544410* гена *VDR* показал, что протективный аллель \*b (A) чаще встречается в группе здоровых индивидов, который характеризуется нормальным уровнем образования рецептора к витамину D, что приводит к умеренной работе последнего и не снижает синтез изоформ коллагена склеральной ткани глаза.

Другой полиморфизм *VDR* (*rs2228570*, *FokI*) представляет собой замену нуклеотида по типу тран-

зиции ( $A > G$ ) в старт-кодоне, что приводит к смещению инициаторного кодона на три кодона от начала. В результате альтернативного сплайсинга образуются несколько вариантов транскриптов, кодирующих различные белки. Непротективный аллель \*B (G) связывают с увеличением экспрессии гена, что ведет к увеличению образования продукта и, следовательно, к более активному ингибированию нормального синтеза коллагена.

Выявлено повышение частоты гомозиготного генотипа C/C и непротективного аллеля \*C полиморфного варианта rs2228570 гена VDR в группе с миопией, поскольку данный аллель подавляет РВД-зависимую активацию генов-мишеней нормального синтеза изоформ коллагена и сдерживает нормальное формирование склеральной ткани из-за нестабильности мРНК. Следовательно, происходит более активное ингибирование нормального формирования склеральной ткани. Выполненное исследование демонстрирует, что пациенты, наследующие этот аллель, составляют группу с высокой миопией.

Гаплотипный анализ выявил протективные сочетания аллелей b/b (rs1544410, BsmI) и T/T (rs2228570, FokI), B/b (rs1544410, BsmI) и T/T (rs2228570, FokI), B/b (rs1544410, BsmI) и C/T (rs2228570, FokI) гена VDR, которые обеспечивают нормальный синтез коллагена склеры ( $p=0,03$ ,  $\chi^2=4,51$ ).

Выявлены гаплотипы B/B (rs1544410, BsmI) C/C (rs2228570) и B/b (rs1544410, BsmI) C/C (rs2228570) в гене VDR, которые характеризуют предрасположенность к развитию осложненной миопии.

Таким образом, показано, что сочетания непротективных аллелей и генотипов по полиморфным вариантам в гене VDR могут быть использованы как диагностические маркеры выявления предрасположенности к миопии, поскольку продукты мутантных

аллелей вызывают нарушения в структурах «каркаса» глазного аппарата, что ведет к миопической рефракции из-за подавления нормального синтеза изоформ коллагена и не способствует нормальному формированию склеральной ткани.

**Конфликт интересов** отсутствует.

### References (Литература)

1. Artaza JN, Norris KC. Vitamin D reduces the expression of collagen and key profibrotic factors by inducing an antifibrotic phenotype in mesenchymal multipotent cells. *J Endocrinol* 2009; 200 (2): 207–21.
2. Haussler MR, Whitfield GK, Haussler CA, et al. The nuclear vitamin D receptor: biological and molecular regulatory properties revealed. *J Bone Miner Res* 1998; (13): 325–49.
3. Andrew R, Baker R, Yong S, et al. Cloning and expression of full-length cDNA, encoding Human vitamin D receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988; (85): 3294–8.
4. Uitterlinden AG, Fang Y, Van Meurs JB. Genetics and biology of vitamin D receptor polymorphisms. *Gene* 2004; 338 (2): 143–56.
5. Kutikhin AG, Yuzhalin AE, Ponasenkov AV. Modern trends in statistical data processing and presentation of results in candidate genetic and epidemiological studies. *Fundamental and Clinical Medicine* 2017; 2 (2): 77–82. Russian (Кутихин А. Г., Южалин А. Е., Понасенков А. В. Современные тенденции статистической обработки данных и представления результатов в кандидатных генетико-эпидемиологических исследованиях. *Фундаментальная и клиническая медицина* 2017; 2 (2): 77–82).
6. Mathew CC. The isolation of high molecular weight eukaryotic DNA. In: Walker JM, ed. *Methods in Molecular Biology*. Human Press, 1984. Vol. 2, p. 31–4.
7. Amano Y, Komiyama K, Makishima M. Vitamin D and periodontal disease. *J Oral Sci* 2009; 51 (1): 11–20.
8. Johnson JA, Grande JP, Roche PC, et al. Immunolocalization of the calcitriol receptor, calbindin-D28k and the plasma membrane calcium pump in the human eye. *Curr Eye Res* 1995; 14 (2): 101–8.

УДК 617.7–07:617.753.2

Оригинальная статья

## ИССЛЕДОВАНИЕ БИОМЕХАНИЧЕСКИХ СВОЙСТВ РОГОВИЦЫ У ПАЦИЕНТОВ С МИОПИЕЙ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ОРТОКЕРАТОЛОГИЧЕСКИХ ЛИНЗ

**Е. А. Ежова** — ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С. Н. Федорова» Минздрава России, Волгоградский филиал, врач-офтальмолог, кандидат медицинских наук; **И. В. Платонова** — ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С. Н. Федорова» Минздрава России, Волгоградский филиал, врач-офтальмолог; **Е. Г. Солодкова** — ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С. Н. Федорова» Минздрава России, Волгоградский филиал, заведующая офтальмологическим отделением коррекции аномалий рефракции, кандидат медицинских наук; **В. П. Фокин** — ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С. Н. Федорова» Минздрава России, директор Волгоградского филиала, профессор, доктор медицинских наук; **С. В. Балалин** — ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С. Н. Федорова» Минздрава России, Волгоградский филиал, заведующий научным отделом, доктор медицинских наук.

## INVESTIGATION OF THE BIOMECHANICAL PROPERTIES OF THE CORNEA IN PATIENTS WITH MYOPIA USING ORTHOKERATOLOGICAL LENSES

**E. A. Ezhova** — S. Fedorov Eye Microsurgery Federal State Institution, Volgograd branch, Ophthalmologist, PhD; **I. V. Platono** — S. Fedorov Eye Microsurgery Federal State Institution, Volgograd branch, Ophthalmologist; **E. G. Solodkova** — S. Fedorov Eye Microsurgery Federal State Institution, Volgograd branch, Head of the Ophthalmological Department of Correction of Refractive Errors, PhD; **V. P. Fokin** — S. Fedorov Eye Microsurgery Federal State Institution, Head of Volgograd branch, Professor, DSc; **S. V. Balalin** — S. Fedorov Eye Microsurgery Federal State Institution, Volgograd branch, Head of the Science Department, DSc.

Дата поступления — 01.04.2021 г.

Дата принятия в печать — 26.05.2021 г.

**Ежова Е. А., Платонова И. В., Солодкова Е. Г., Фокин В. П., Балалин С. В.** Исследование биомеханических свойств роговицы у пациентов с миопией при использовании ортокератологических линз. *Саратовский научно-медицинский журнал* 2021; 17 (2): 291–295.

**Цель:** проанализировать влияние ортокератологических линз (ОКЛ) на биомеханические свойства роговицы у пациентов с миопией. **Материал и методы.** Проведено клинико-функциональное обследование 34 пациентов с миопией (34 глаза), которым были подобраны ОКЛ. Исследование показателей биомеханических