

დავით ტვილდიანის სამედიცინო უნივერსიტეტი

ხელნაწერის უფლებით

**ნინო კობახიძე**

**ექსფოლიაციური სინდრომი კატარაქტის  
გამო ოპერირებულ ქართული პოპულაციის  
პაციენტებში**

მედიცინის დოქტორის აკადემიური ხარისხის  
მოსაპოვებლად წარდგენილი დისერტაციის

**ავტორეფერატი**

თბილისი, 2020

ნაშრომი შესრულებულია დავით ტვილდიანის სამედიცინო უნივერსიტეტის, კლინიკა „ჩიჩუბის სამედიცინო ცენტრ მზერა“-ს, სინგაპურის თვალის ეროვნული ცენტრისა და სინგაპურის თვალის კვლევითი ინსტიტუტის ბაზებზე.

**სამეცნიერო ხელმძღვანელები:**

- |                        |   |
|------------------------|---|
| <b>სერგო თაბაგარი,</b> | მედიცინის მეცნიერებათა დოქტორი,<br>დავით ტვილდიანის სამედიცინო<br>უნივერსიტეტის პროფესორი |
| <b>გიორგი ჩიჩუა</b>    | მედიცინის მეცნიერებათა დოქტორი,<br>ნიუ ვიჟენ უნივერსიტეტის<br>მოწვეული პროფესორი          |
| <b>თინ აუნგი,</b>      | მედიცინის დოქტორი, სინგაპურის<br>თვალის კვლევითი ინსტიტუტის<br>პროფესორი                  |

**ოფიციალური ოპონენტები:**

- |                          |   |
|--------------------------|---|
| <b>მერაბ დვალი</b>       | მედიცინის მეცნიერებათა დოქტორი,<br>თბილისის სახელმწიფო<br>სამედიცინო უნივერსიტეტის პროფესორი          |
| <b>ადამ კოტორაშვილი</b>  | ბიოლოგიის დოქტორი,<br>ილიას სახელმწიფო უნივერსიტეტის<br>მოწვეული პროფესორი                            |
| <b>თინათინ ზურაშვილი</b> | მედიცინის მეცნიერებათა დოქტორი,<br>დავით ტვილდიანის სამედიცინო<br>უნივერსიტეტის ასოცირებული პროფესორი |

დისერტაციის დაცვა შედგება 2020 წლის 29 ოქტომბერს სთ-ზე დავით ტვილდიანის სახ. სამედიცინო უნივერსიტეტის საკონფერენციო დარბაზში (0159, თბილისი, ლუბლიანას ქ 13/მ.ჭიაურელის ქ. 6)

ავტორეფერატი დაიგზავნა 2020 წლის 15 ოქტომბერს.

სწავლული მდივანი

**მარიამ ვაჩნაძე**

## ნაშრომის ზოგადი დახასიათება

### პრობლემის აქტუალობა

ექსფოლიაციური სინდრომი წარმოადგენს ასაკთან შეჭიდულ დაავადებას, რომელიც მსოფლიოს მასშტაბით მილიონობით ადამიანთან გვხვდება. მისი ზუსტი გავრცელება საქართველოში უცნობია, თუმცა ოფთალმოლოგები და განსაკუთრებით წინა მონაკვეთის ქირურგები თანხმდებიან, რომ ის ძალიან ხშირია კატარაქტით დაავადებულ პაციენტებში. ექსფოლიაციური სინდრომი არის ყველაზე მძიმე გართულებების მიზეზი კატარაქტის ქირურგიის დროს.

ექსფოლიაციური სინდრომი ხასიათდება ფიბრილური ექსტრაცელულური ნივთიერების ჰიპერპროდუქციით და პროგრესული აკუმულირებით თვალის წინა მონაკვეთის სხვადასხვა სტრუქტურებში. მისი პათოგენეზი უცნობია. ასევე უცნობია, რა მექანიზმებით ხდება მეორადი ექსფოლიაციური გლაუკომის განვითარება სინდრომით დაავადებულ პაციენტთა ნაწილში. ამ ტიპის გლაუკომა ერთ-ერთი ყველაზე მძიმედ მიმდინარე ფორმაა, ნაკლებად ექვემდებარება კონსერვატულ მკურნალობას, სწრაფად პროგრესირებს და ხშირად საჭიროებს ადრეულ ქირურგიულ ჩარევებს.

ექსფოლიაციური სინდრომს ხშირად სხვადასხვა სისტემურ დაავადებას უკავშირებენ. განსაკუთრებით საყურადღებოა სისტემურის სხლძარღვოვანი პათოლოგიები, როგორცაა გულის იშემიური დაავადება, მიოკარდიუმის ინფარქტი და ცერებროვასკულური დაავადება. ამ დაავადებებთან კავშირს ხსნიან ექსფოლიაციური ნივთიერებების სისხლძარღვების კედლებში ჩალაგებით, რის შედეგადაც შესაძლოა დაირღვეს სისხლძარღვების

ელასტიურობა და განვითარდეს იშემია სხვადასხვა ორგანოში.

მრავალი კვლევა მიუთითებს ექსფოლიაციური სინდრომის გენეტიკურ წარმომავლობაზე. ცნობილია, რომ მისი გავრცელება სხვადასხვა სხვადასხვა პოპულაციაში და მეტწილად გვხვდება მისი ოჯახური აგრეგაცია. პირველი გენეტიკური მარკერი აღმოჩენილ იქნა 2007 წელს, თუმცა ამავე კვლევამ აჩვენა, რომ ეს პოლიმორფიზმები შესაძლოა ჯანმრთელ ინდივიდებშიც შეგვხვდეს. აქედან გამომდინარე, ცხადია, რომ მხოლოდ ერთი გენის პოლიმორფიზმები ვერ იქნება ექსფოლიაციური სინდრომისა და ექსფოლიაციური გლაუკომის გამომწვევი მიზეზი. შესაბამისად, ეს საკითხი მომდევნო კვლევებს საჭიროებს.

## **კვლევის მიზანი**

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა შეგვესწავლა ექსფოლიაციურისინდრომისგავლენაკატარაქტისქირურგიის დროს გამოვლენილ სირთულეებსა და გართულებებზე, ასევე განგვესაზღვრა მისი ეპიდემიოლოგიური და ეპიდგენეტიკური მახასიათებლები და კავშირი სისტემურ სისხლძარღვოვან დაავადებებთან ქართველ პაციენტებში.

## **კვლევის ამოცანები**

- შესწავლილ იქნას ექსფოლიაციური სინდრომის გავრცელება კატარაქტის მქონე პაციენტებში
- შესწავლილ იქნას ექსფოლიაციური გლაუკომის გავრცელება კატარაქტის მქონე პაციენტებში
- განისაზღვროს ექსფოლიაციური სინდრომის კავშირის სისტემურ სისხლძარღვოვან დაავადებებთან

- განისაზღვროს LOXL1, CACNA1A, POMP, SEMA6A, TMEM136, RBMS3 and AGPAT1 გენების პოლიმორფიზმების კავშირი ექსფოლიაციურ სინდრომთან
- განისაზღვროს LOXL1, CACNA1A, POMP, SEMA6A, TMEM136, RBMS3 and AGPAT1 გენების პოლიმორფიზმების კავშირი ექსფოლიაციურ გლაუკომასთან

## ნაშრომის მეცნიერული სიახლე

საქართველოში არ მოიპოვება კვლევა, რომელიც შეაფასებდა ექსფოლიაციური სინდრომის გავლენას კატარაქტის ქირურგიაზე. არ არის შესწავლილი მისი ეპიდემიოლოგია და სინდრომით გამოწვეული ქირურგიული ტექნიკური სირთულეები, ასევე გართულებები, რომლებიც ექსფოლიაციურ სინდრომთან არის კავშირში.

ლიტერატურაში ბევრია კვლევა, რომელიც ცდილობს შეაფასოს ექსფოლიაციური სინდრომის კავშირი სხვადასხვა სისტემურ სისხლძარღვოვან პათოლოგიასთან, თუმცა შედეგები ყველა კვლევას სხვადასხვა აქვს. ეს საკითხი ასევე არ შესწავლილა ეთნიკურ ქართველებში.

ლიტერატურაში ასევე ბევრია ისეთი კვლევა, რომელიც ექსფოლიაციური სინდრომის გენეტიკურ საწყისებს სწავლობს, თუმცა ყველა ავტორი LOXL1 გენის პოლიმორფიზმების შესწავლით იფარგლება. მიუხედავად იმისა, რომ ამ გენის პოლიმორფიზმები მნიშვნელოვნად ზრდის სინდრომის განვითარების რისკს, პათოგენეზური მექანიზმები აუხსნელია და, შესაბამისად, ეს საკითხიც უფრო ღრმა შესწავლას საჭიროებს.

## ნაშრომის პრაქტიკული ღირებულება

აღნიშნული ნაშრომი პირველი მცდელობაა საქართველოში ექსფოლიაციური სინდრომის კატარაქტის ქირურგიაზე გავლენის დახასიათებისა. ჩვენ ვაფასებთ მის კავშირს გულსისხლძარღვთა პათოლოგიებთან, რათა დავაზუსტოთ ლიტერატურაში არსებული სხვადასხვა სახის მოსაზრებები. რაც ყველაზე მნიშვნელოვანია, ეს პირველი კვლევაა, რომელიც ახასიათებს ექსფოლიაციური სინდრომისა და გლაუკომის გენეტიკურ საწყისებს ეთნიკურ ქართველებში, რაც მნიშვნელოვანი წინგადადგმული ნაბიჯია ამ მდგომარეობის პათოგენეზის შესწავლის პროცესში.

## ნაშრომის აპრობაცია

ნაშრომის აპრობაცია შედგა კლინიკა „ჩიჩუების სამედიცინო ცენტრ მზერა“-ში 2020 წლის 29 ივლისს.

სადისერტაციო მასალები და შედეგები მოხსენებულ იქნა:

1. მე-13 საერთაშორისო სამედიცინო პოსტდიპლომურ კონფერენციაზე, ჩარლის უნივერსიტეტი, 24-25 ნოემბერი 2016, ჰრადეც კრალოვე, ჩეხეთი
2. საქართველოს ოფთალმოლოგთა ასოციაციისა (GOS) და ევროპის ოფთალმოლოგთა ასოციაციის (SOE) მე-2 ერთობლივ კონგრესზე, 10-12 ივნისი 2016, თბილისი, საქართველო
3. ევროპის კატარაქტისა და რეფრაქციული ქირურგიების საზოგადოების (ESCRS) 34 კონგრესზე. 10-14 სექტემბერი, 2016, კოპენჰაგენი, დანია
4. საქართველოს ოფთალმოლოგთა ასოციაციისა (GOS) და ევროპის ოფთალმოლოგთა ასოციაციის (SOE)

მე-3 ერთობლივ კონგრესზე, 30 ივნისი - 1 ივლისი, 2018, თბილისი, საქართველო

5. ევროპის კატარაქტისა და რეფრაქციული ქირურგიების საზოგადოების (ESCRS) 36 კონგრესზე. 22-26 სექტემბერი 2018, ვენა ავსტრია

სადისერტაციო ნაშრომის ირგვლივ გამოქვეყნებულია 3 სტატია და 3 თეზისი, სადაც ასახულია დისერტაციის ძირითადი შედეგები, რაც შეესაბამება აკადემიური ხარისხის მინიჭების დებულებისა და ინსტრუქციის მოთხოვნებს.

კვლევა შესრულდა შოთა რუსთაველის საქართველოს ეროვნული სამეცნიერო ფონდის მიერ მხარდაჭერილი საგრანტო პროექტის PhD 2016\_39 ფარგლებში. მადლობას ვუხდით ფონდს მხარდაჭერისთვის.

## **დისერტაციის სტრუქტურა და მოცულობა**

დისერტაცია შესრულებულია ინგლისურ ენაზე, შედგება 8 ნაწილისგან: შესავალი, ლიტერატურის მიმოხილვა, კვლევის მასალა და მეთოდები, კვლევის შედეგები, შედეგების განხილვა, დასკვნები, პრაქტიკული რეკომენდაციები, გამოყენებული ლიტერატურის სია. ნაშრომი მოიცავს 93 გვერდს, ილუსტრირებულია 10 სურათით და 15 ცხრილით. ლიტერატურა მოიცავს 134 წყაროს.

## **კვლევის დიზაინი**

ჩვენს მიერ წარმოდებული კვლევა იყო შემთხვევა-კონტროლის ტიპის. კვლევის ხანგრძლივობა 4 წელი.

კვლევაში ჩართული იყო ავტორის მიერ კატარაქტის გამო ოპერირებული პაციენტები. პაციენტები დაიყო 2

ჯგუფად. საკვლევი ჯგუფი შეადგინა ექსფოლიაციური სინდრომის მქონე პაციენტებმა, რომელთა შორის გამოიყო ექსფოლიაციური გლაუკომის მქონე პაციენტების ქვეჯგუფი. საკონტროლო ჯგუფი შეადგინეს პაციენტებმა, რომელთაც ექსფოლიაციური სინდრომი არ დაუდასტურდათ.

## **ეთიკური თანხმობა**

კვლევის ეთიკური მხარე შეფასებულ იქნა დავით ტვილდიანის სახ. უნივერსიტეტის ეთიკური კომისიის მიერ. კვლევაში ჩართულმა ყველა პაციენტმა მოაწერა ხელი ინფორმირებული თანხმობის წერილობით ფორმას.

## **კვლევის მეთოდები**

კვლევაში ჩაერთო შპს „ჩიჩუების სამედიცინო ცენტრ მზერა“-ში ავტორის მიერ კატარაქტის გამო ოპერირებული პაციენტები. პაციენტებს უტარდებოდათ სტანდარტული ოფთალმოლოგიური კვლევები, რომლებიც მოიცავდა აუტორეფრაქტომეტრიას, კერატომეტრიას, მხედველობის სიმახვილის განსაზღვრას, ტონომეტრიას, ბიომიკროსკოპიას, ოფთალმოსკოპიას, ექობიომეტრიას. კომპიუტერული პერიმეტრია ტარდებოდა გლაუკომის დიაგნოსტიკის შემთხვევაში. ექსფოლიაციური სინდრომის დიაგნოსტიკა ხდებოდა ბიომიკროსკოპიის დროს გუგის კიდეზე ან ბროლის წინა კაფსულაზე ექსფოლიაციური ნივთიერებების აღმოჩენის საფუძველზე. ექსფოლიაციური გლაუკომის დიაგნოზი ისმებოდა აღნიშნულ ცვლილებებთან ერთად, მხედველობის ნერვის დვრილის დამახასიათებელი ცვლილებების აღმოჩენის შემთხვევაში. პაციენტები, რომლებსაც დაუდასტურდათ სინდრომის არსებობა, ჩაერთვნენ საკვლევ ჯგუფში,



რომელშიც გამოიყო ექსფოლიაციური გლაუკომის მქონეთა ქვეჯგუფი. საკონტროლო ჯგუფში გაერთიანდნენ მხოლოდ კატარაქტის დიაგნოზის მქონე პაციენტები. გამორიცხვის კრიტერიუმად ითვლებოდა უვეიტისა და ნეოვასკულარული გლაუკომის დიაგნოზი.

ყველა პაციენტს უტარდებოდა სისხლის რუტინული ანალიზები და მათი ჯანმრთელობის მდგომარეობა ფასდებოდა ზოგადი პროფილის ექიმის მიერ. დამატებით ელექტროკარდიოგრაფია ტარდებოდა თერაპევტის გადაწყვეტილებით, საჭიროების მიხედვით. აღინიშნებოდა სისტემური კომორბიდობები, რომლებიც, შემდგომ შესწავლილ იქნა რეტროსპექტულად ელექტრონული მონაცემთა ბაზის საფუძველზე.

ყველა პაციენტს ჩაუტარდა ფაკომულსიფიკაცია და ხელოვნური ბროლის იმპლანტაცია სტანდარტული მეთოდით, რომელიც მოცავდა ორ პარაცენტეზს, ძირითად 2.75 მმ-იან განაკვეთს, მრგვალ უწყვეტ კაფსულორექსისს, ფაკომულსიფიკაციას Infiniti ფაკომანქანით (Alcon, USA), კორტიკალური მასების მოცილებას ბიძანუალურად, იოლ-ის იმპლანტაციას და ჭრილობების დახურვას ფიზიოლოგიური ხსნარით იმბიბირებით. ძალიან ვიწრო გუგების შემთხვევაში გამოიყენებოდა ირის-რეტრაქტორები, ბროლის სუბლოქსაციის დროს ინტრაკაფსულური რკალები და კაფსულის რეტრაქტორები. ცინის იოგების მნიშვნელოვანი დიალიზის შემთხვევაში, თვალი რჩებოდა აფაკიური და იგეგმებოდა დამატებითი ჩარევა იოლ-ის იმპლანტაციისთვის სკლერაზე ფიქსაციით.

პრეოპერაციულად ასევე ვიღებდით 5მლ ვენურ სისხლს, რომელიც ინახებოდა მაცივარში EDTA-ს შემცველ სინჯარებში. გენეტიკური კვლევისთვის მასალა იგზავნებოდა სინგაპურის თვალის კვლევითი ინსტიტუტის გენეტიკურ

ლაბორატორიაში.

Illumina OmniExpress მიკროჩიპების საშუალებით ხდებოდა გენომის სრული კვლევა - Genome-Wide Association Study (GWAS). ამ პროცესისთვის გამოიყენებოდა ჩიპები, რომლებიც დაფარულია ათასობით მიკროსკოპული წერტილით, რომლებიც შეიცავს დნმ-ის ერთჯაჭვიან ფრაგმენტებს. ეს ფრაგმენტები ადამიანის გენომში არსებულ დნმ-ის ფრაგმენტების შესაბამისია. საკვლევი პაციენტების სისხლიდან მიიღებოდა დენატურირებული დნმ-ის ფრაგმენტები, რომლებიც დაიტანებოდა მიკროჩიპებზე. კომპლემენტარული ჯაჭვების ბმის შემდეგ, ჩიპებზე ხდებოდა დნმ პოლიმერაზისა და ფლორესცენით მონიშნული ნუკლეოტიდების დატანა, რის შედეგადაც წარმოიქმნებოდა სინთეზური დნმ-ის ჯაჭვები. მონიშნული ნუკლეოტიდების ნათების სკანირება ხდებოდა მაღალი რეზოლუციის მქონე ლაზერის საშუალებით, რომელიც ახდენდა პოლიმორფიზმების იდენტიფიცირებას.

### **სტატისტიკური ანალიზი**

მონაცემების სტატისტიკური დამუშავება ჩატარდა სტატისტიკური პროგრამა R-ის საშუალებით. გამოყენებულ იქნა ლოგისტიკური რეგრესიის ანალიზი,  $\chi^2$  (პირსონის კორექციით), OR 95%-იანი სარწმუნო ინტერვალით. პოლიმორფიზმები, რომლებმაც გადააჭარბეს  $P \leq 5 \times 10^{-8}$ -ს, მიჩნეულ იქნენ ექსფოლიაციურ სინდრომთან ასოცირებული გენებად.

## კვლევის შედეგები

**ექსფოლიაციური სინდრომის გავლენა კატარაქტის ქირურგიაზე** - კვლევის ეპიდემიოლოგიურ ნაწილში ჩაერთო ავტორის მიერ კატარაქტის გამო ოპერირებული 863 პაციენტი, საშუალო ასაკით 74(+3.7) წელი. პაციენტების 43% შეადგინეს ქალებმა, ხოლო 57% მამაკაცებმა. ექსფოლიაციური სინდრომის მქონე სულ 310 (36%) პაციენტი იდენტიფიცირდა, საიდანაც 13%-ს აღმოაჩნდა ექსფოლიაციური გლაუკომა. 553-მა პაციენტმა შეადგინა საკონტროლო ჯგუფი.

**ცხრილი 1.** პაციენტების დემოგრაფიული მახასიათებლები, რომლებსაც ავტორის მიერ ჩაუტარდათ ფაკოემულსიფიკაცია

ჯგუფი		მამაკაცი	ქალი
ჯამი	863	492 (57 %)	371 (43 %)
XFS	310 (36%)	139 (44.8 %)	171 (55.2 %)
XFS მხოლოდ	270 (87%)	117 (43 %)	153 (57 %)
XFG	40 (13%)	22 (55 %)	18 (45 %)
საკონტროლო	553 (64%)	255 (46 %)	298 (54 %)

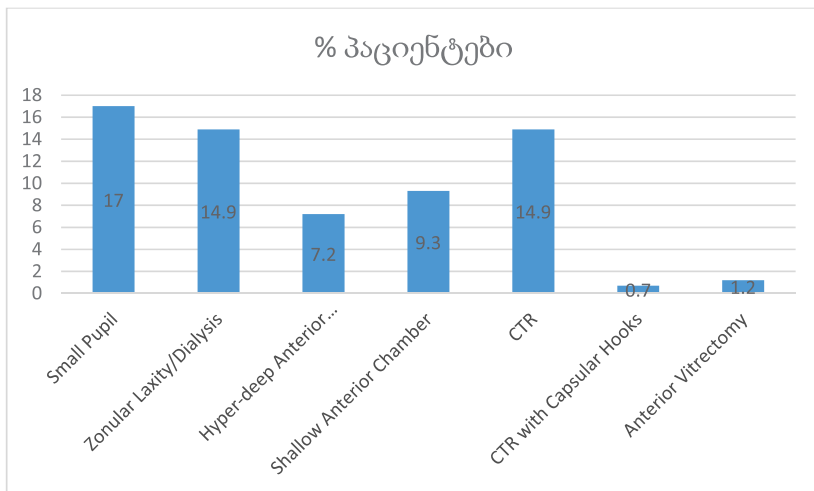
ცხრილ 2-ში მოცემულია პაციენტების რაოდენობა, რომელთანაც აღნიშნა სხვადასხვა სახის ტექნიკური სირთულეები ფაკოემულსიფიკაციის დროს. ეს ცხრილი მოიცავს როგორც საკვლევი, ასევე საკონტროლო ჯგუფის პაციენტებს. ყველაზე ხშირი სირთულე იყო არასათანადო მიდრიაზეი პაციენტების 17%-ში, ცინის იოგების სისუსტე/დიალიზი - 15%-ში, ძალიან ღრმა ან ძალიან ვიწრო წინა საკანი, რაც ართულებდა ფაკოემულსიფიკაციას 8 და 9%-ში,

შესაბამისად. დამატებითი ქირურგიული მანიპულაციები, როგორცაა ინტრაკაფსულური რალებისა და კაფსულის რეტრაქტორების გამოყენება, საჭირო გახდა შემთხვევების დაახლოებით 15%-ში. წინა ვიტრექტომია ჩატარდა 10 პაციენტს.

**ცხრილი 2.** პაციენტები, რომელთანაც ფაკომულსიფიკაციის დროს აღინიშნა ტექნიკური სირთულეები

სირთულე	რაოდენობა	%
ვიწრო გუგა	151	17
ცინის სისუსტე/დიალიზის იოგების	129	14.9
ღრმა წინა საკანი	62	7.2
ვიწრო წინა საკანი	80	9.3
ინტრაკაფსულური რკალი CTR	121	14.9
CTR და კაფსულის რეტრაქტორები	6	0.7
წინა ვიტრექტომია	10	1.2

**დიაგრამა 1. პაციენტები, რომლებთანაც ვაკოემულსიფიკაციის დროს აღინიშნა ტექნიკური სირთულეები**

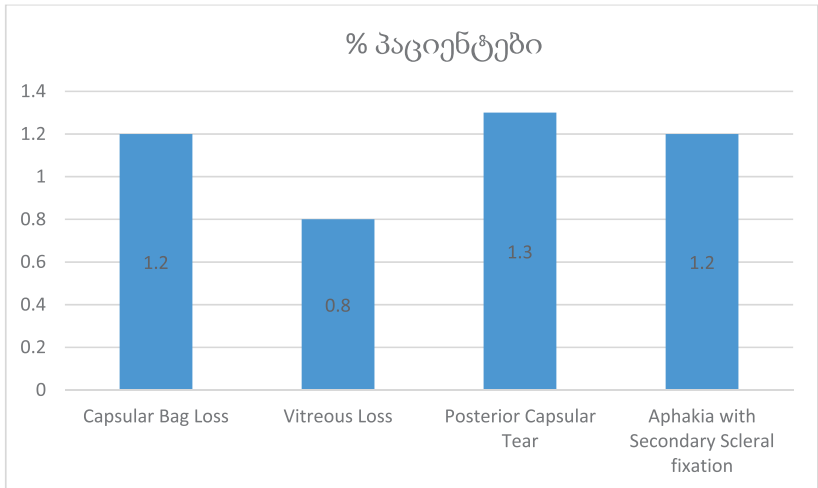


მე-3 ცხრილსა და მე-2 დიაგრამაზე ნაჩვენებია ინტრაოპერაციული გართულებები კატარაქტის ქირურგიის დროს. საბედნიეროდ, ოპერირებული პაციენტების მხოლოდ 1.2%-ში დასრულდა ცუდი შედეგით და საჭირო გახდა დამატებითი ქირურგიული ჩარევა. ბროლის ჩანთის დაკარგვა და მინისებრის დაღვრა, ასევე უკანა კაფსულის დარღვევა დაფიქსირდა პაციენტების 1%-ში. კლინიკური და მხედველობითი გამოსავლების შეფასება ამ ნაშრომის მიზანს არ წარმოადგენდა, ჩვენ ვაფასებდით მხოლოდ ფაკოემულსიფიკაციის ტექნიკურ მხარეს.

**ცხრილი 3.** პაციენტები, რომლებთანაც ფაკომულსიფიკაციის დროს აღინიშნა გართულებები

გართულება	რაოდენობა	%
ბროლის ჩანთის დაკარგვა	10	1.2
მინისებრის დაღვრა	7	0.8
უკანა კაფსულის დარღვევა	11	1.3
აფაკია იოლ-ის მეორადი იმპლანტაციით	10	1.2

**დიაგრამა 2.** პაციენტები, რომელთანაც ფაკომულსიფიკაციის დროს აღინიშნა გართულებები



შემდეგი ინტრაოპერაციული ტექნიკური სირთულეები და გართულებები იქნა ნანახი ექსფოლიაციური სინდრომის მქონე პაციენტებში საკონტროლო ჯგუფთან შედარებით:

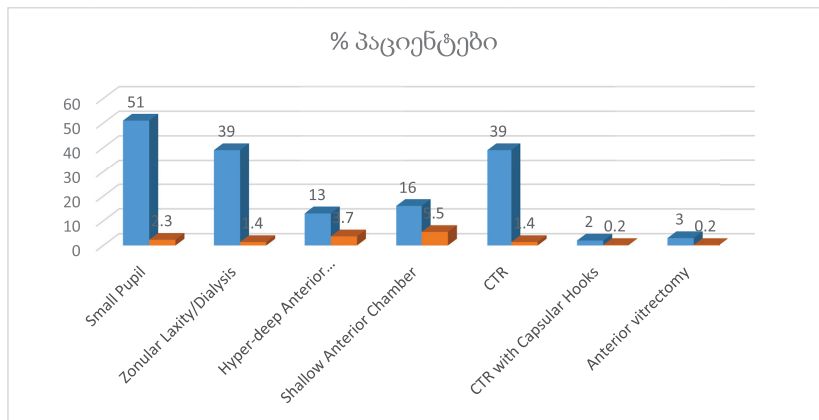
ვიწრო გუგა 138 (51%) ექსფოლიაციური სინდრომის მქონე პაციენტებში, 13 (2.3%) -ის წინააღმდეგ. ( $p < 0.05$ , OR 43.4, 95% CI 23.842 to 79.099). ცინის იოგების სისუსტე/დიალიზი 121 პაციენტში (39%), 8 (1.4%) კონტროლთან შედარებით ( $p < 0.05$ , OR 56.1, 95% CI 26.836 to 117.4). ამ უკანასკნელ შემთხვევებში აღინიშნებოდა თვალის გადატანილი გადატანილი ტრავმები. ძალიან ღრმა წინა საკანი შეგვხვდა 41 (13%) საკვლევ და 21 (3.7%) საკონტროლო ჯგუფის პაციენტში. ( $p < 0.05$ , OR 1.29, 95% CI 2.671 to 7.99553). ამ მდგომარეობას საკონტროლო ჯგუფში მეტწილად ახლდა მაღალი მიოპია. მეორეს მხრივ, ვიწრო საკანი ჰქონდა 49 (16%) საკვლევ და 31 (5.5%) საკონტროლო ინდივიდს ( $p < 0.05$ , OR 3.8, 95% CI 2.363 to 6.127).

გამომდინარე ცინის იოგების დიალიზის მოცულობიდან, იმპლანტირებულ იქნა ან მხოლოდ ინტრაკაფსულარული რკალები (121 პაციენტი, 39%) ან რკალები და კაფსულის რეტრაქტორები (5 პაციენტი – 2%). საკონტროლო ჯგუფში რკალი გამოყენებულ იქნა 8 შემთხვევაში (მეტწილად უკავშირდება ტრავმას), ხოლო რეტრაქტორები მხოლოდ 1 შემთხვევაში ( $p < 0.05$ , OR 56.1, 95% CI 26.836 to 117.422) და ( $p < 0.05$ , OR 10.6, 95% CI 1.233 to 91.214), შესაბამისად. წინა ვიტრექტომია ჩატარდა 9 ძირითადი და 1 საკონტროლო ჯგუფის პაციენტს (OR 19.3795% CI 2.442 to 153.762). ეს მონაცემები მოცემულია მე-4 ცხრილსა და მე-3 დიაგრამაზე.

**ცხრილი 4.** ტექნიკური სირთულეები ექსფოლიაციური სინდრომის მქონე და ჯანმრთელ პაციენტებში.

სირთულე	Cases	Controls	P	OR (95% CI)
	N=270 (%)	N=553 (%)		
ვიწრო გუბა	138 (51)	13 (2.3)	<0.05	43.4 (23.842 to 79.099)
ცინის იოგების სისუსტე/დიალიზი	121 (39)	8 (1.4)	<0.05	56.1 (26.836 to 117.4)
ღრმა წინა საკანი	41 (13)	21 (3.7)	<0.05	1.29 (2.671 to 7.99553)
ვიწრო წინა საკანი	49 (16)	31 (5.5)	<0.05	3.8 (2.363 to 6.127)
ინტრაკაფსულური რკალი CTR	121 (39)	8 (1.4)	<0.005	56.1 (26.836 to 117.422)
CTR და კაფსულის რეტრაქტორები	5 (2)	1 (0.2)	<0.05	10.6 (1.233 to 91.214)
წინა ვიტრექტომია	9 (3)	1(0.2)	<0.05	19.37 (2.442 to 153.762)

**დიაგრამა 3.** ტექნიკური სირთულეები ექსფოლიაციური სინდრომის მქონე და ჯანმრთელ პაციენტებში.





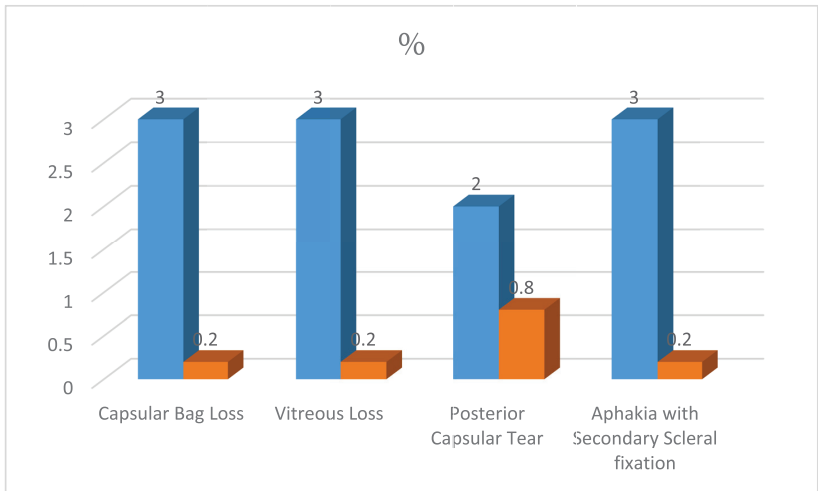
ბროლის ჩანთის შენარჩუნება ვერ მოხერხდა ექსფოლიაციური სინდრომის მქონე 9 (3%) პაციენტში, მინისებრის დაღვრა დაფიქსირდა 6 (2%) პაციენტში. საკონტროლო ჯგუფიდან მხოლოდ 1 პაციენტში მოხდა კაფსულისა და მინისებრის კარგვა. ამ პაციენტს ანამნეზში ჰქონდა გადატანილი ტრავმა ( $p < 0.05$ , OR 19.37, 2.442 to 153.762) და ( $p < 0.05$ , OR 13.8, 95% CI 1.53 to 106.63), შესაბამისად. ამ პაციენტთან ჩარევა დასრულდა აფაკით და დაიგეგმა იოლის იმპლანტაცია სკლერაზე ფიქსაციით. უნდა აღინიშნოს, რომ ცხრავე პაციენტს საკვლევი ჯგუფიდან აღნიშნებოდა მეოთხე ხარისხის ყავისფერი კატარაქტა, რაც კომბინაციაში ექსფოლიაციურ სინდრომთან, წარმოადგენს ყველაზე დიდ სირთულეს კატარაქტის ქირურგიაში.

ცხრა სინდრომის მქონე პაციენტში დასრულდა ოპერაცია აფაკით (3%) შედარებით 1 (0.2%) ტრავმულ კატარაქტასთან ექსფოლიაციების გარეშე, როგორც ზემოთ იყო აღნიშნული ( $p < 0.05$ , OR 10.6, 95% CI 2.442 to 153.762). უკანა კაფსულის გახევა დაფიქსირდა ერთნაირი რაოდენობის პაციენტში ორივე ჯგუფში, განსხვავება სტატისტიკურად სარწმუნო არ იყო. ყველა შემთხვევაში იოლ იმპლანტირდა სულკუსში და დამატებითი ქირურგიული ჩარევის საჭიროება არ დამდგარა.

**ცხრილი 5.** გართულებები ექსფოლიაციური სინდრომის მქონე და ჯანმრთელ პაციენტებში.

გართულება	Cases	Controls	P value	OR (95% CI)
	N=270 (%)	N=553 (%)		
ბროლის ჩანთის დაკარგვა	9 (3)	1 (0.2)	<0.005	19.37 (2.442 to 153.762)
მინისებრის დაღვრა	6 (3)	1(0.2)	<0.005	13.8 (1.53 to 106.63)
უკანა კაფსულის დარღვევა	6 (2)	5 (0.8)	>0.05	2.5 (0.767 to 8.386)
აფაკია იოლ-ის მფორადი იმპლანტაციით	9 (3)	1 (0.2)	<0.05	19.37 (2.442 to 153.762)

**დიაგრამა 4.** გართულებები ექსფოლიაციური სინდრომის მქონე და ჯანმრთელ პაციენტებში.



**ექსფოლიაციური სინდრომი და სისტემური სისხლძარღვოვანი დაავადებები** – კვლევის ამ ნაწილში ჩაერთო 236 დაავადებული და 250 ჯანმრთელი პაციენტი,

საუალო ასაკით 76 (+6.1) წელი. მათი დემოგრაფიული მახასიათებლები მოცემულია ცხრილ 2-ში.

**ცხრილი 6.** პაციენტების დემოგრაფიული მახასიათებლები, რომლებთანაც შესწავლილ იქნა ექსფოლიაციური სინდრომის სისტემურ სისხლძარღვოვან დაავადებებთან კავშირი.

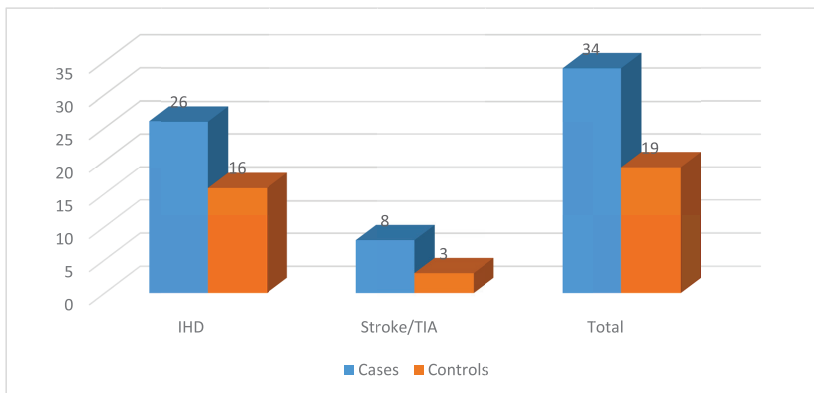
ჯგუფი	ჯამი	მამაკაცი	ქალი
XFS	236	108 (46 %)	128 (54 %)
XFS ხოლოდ	205 ( 87%)	91 (44 %)	114 (56 %)
XFG	31 (15 %)	17 (55 %)	14 (45 %)
კონტროლი	150	76 (30 %)	174 (70 %)

ჩვენი კვლევის შედეგად არ გამოვლენილა მნიშვნელოვანი ასოციაცია ექსფოლიაციურ სინდრომსა და არტერიულ ჰიპერტენზიას შორის, თუმცა ჩვენ აღმოვაჩინეთ კორელაცია სინდრომსა და გულის იშემიურ დაავადებას შორის. ექსფოლიაციური სინდრომის არსებობა 80%-ით ზრდიდა გიდ-ის რისკს ( $p=0.02$ , OR 1.8; 95% CI: 1.141 to 2.763). ასევე მაღალი იყო მიოკარდიუმის ინფარქტის რისკი ( $p=0.05$ , OR 1.8; 95% CI: 0.99 to 3.604) და ცერებროვასკულარული მოვლენების რისკი ( $p=0.01$ , OR=3; 95% CI: 1.254 to 7.37). ჯამში სისხლძარღვოვანი პათოლოგიების განვითარების რისკი ამ ჯგუფში იყო გაორმაგებული ( $p=0.0002$  OR=3; 95% CI: 1.454 to 3.327) (ცხრილი 3).

**ცხრილი 7.** ექსფოლიაციური სინდრომის ასოციაცია სისტემურ სისხლძარღვოვან დაავადებებთან

	Cases	Controls	P value	OR (95% CI)
	<b>N=236</b>	<b>N=250</b>		
გოდ	62 (26%)	41 (16%)	0.02	1.8 (1.141 to 2.763)
გოდ და მი	27 (11%)	16 (6%)	0.05	1.9 (0.99 to 3.604)
ინსულტი/ტიშ	19 (8%)	7 (3%)	0.01	3 (1.254 to 7.37)
ჯამი	81(34)	48(19)	0.0002	2.2 (1.454 to 3.327)

**დიაგრამა 5.** ექსფოლიაციური სინდრომის ასოციაცია სისტემურ სისხლძარღვოვან დაავადებებთან



**ექსფოლიაციური სინდრომის გენეტიკა** – გენეტიკურ კვლევაში ჩართული იყო 139 პაციენტი საშუალო ასაკით 73.7 (+ 6.4) წელი, 73 პაციენტი (56%) იყო ქალი, ხოლო 59 პაციენტი (44%) იყო მამაკაცი. 114 (86%) პაციენტს ქონდა მხოლოდ ექსფოლიაციური სინდრომი, ხოლო 14%-ში შეგვხვდა ექსფოლიაციური გლავუკომა. საკონტროლო ჯგუფი შეადგინა 199-მა პაციენტმა, რომელთაც არ ჰქონდათ ექსფოლიაციური სინდრომის რაიმე კლინიკური ნიშანი. 130 (65%) პაციენტი იყო ქალი და 69 (35%) პაციენტი იყო მამაკაცი. დემოგრაფიული

მახასიათებლები მოცემულია ცხრილ 4-ში.

**ცხრილი 8.** გენეტიკურ კვლევაში ჩართული პაციენტების დემოგრაფიული მახასიათებლები

	ჯამი	მამაკაცი	ქალი
XFS	132	59 (44 %)	73 (56 %)
XFS მხოლოდ	114 (86%)	49 (43 %)	65 (57 %)
XFG	18 (14 %)	10 (55 %)	8 (45 %)
კონტროლი	199	69 (35 %)	130 (65 %)

LOXL1-ის სამი ვარიანტი იქნა ქართველ ინდივიდებში იდენტიფიცირებული: rs2165241, rs4886776 (R141L) და rs8042039 (G153D). პირველი არის ინტრონული, ხოლო დანარჩენი ორი არის ეგზონური ვარიანტები, რომლებიც 99%-ით იდენტურნი არიან ყველაზე ფართოდ ცნობილი rs1048661 და rs3825942 პოლიმორფიზმებისა. მე-5 ცხრილში მოცემულია მათი ალელებისა და გენოტიპების ასოციაცია ექსფოლიაციურ სინდრომთან.

rs2165241 A ალელის სიხშირე მნიშვნელოვნად განსხვავდებოდა ძირითადი და საკონტროლო გჯუფის პაციენტებში ( $p=0.0001$ ) და ის დაავადების განვითარების რისკს ზრდიდა თითქმის 4-ჯერ ( $OR=3.8$ ; 95% CI 2.6339 to 5.5802). ის დაავადებულთა 83%-ში გვხვდებოდა. მათი 70% იყო ჰომოზიგოტი, რაც მათ რისკს 6-ჯერ ზრდიდა ( $p=0.0001$ ;  $OR= 5.7$ ; 95% CI: 1.9518 to 16.5321). ჰეტეროზიგოტებში რისკი იზრდებოდა 4.5-ჯერ ( $p=0.0001$ ;  $OR= 4.5$ ; 95% CI: 2.8199 to 7.2454). საინტერესოა, რომ ჯანმრთელი ინდივიდების თითქმის 60%-ში შეგვხვდა rs2165241-ს მაღალი რისკის ალელი და მათი მესამედი იყო ჰომოზიგოტი.

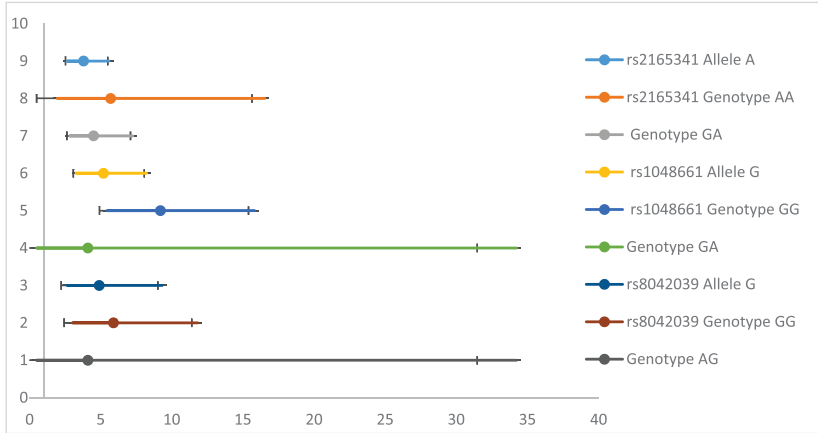
rs4886776-ის G ალელი კიდევ უფრო მეტ რისკთან ასოცირდა. იგი შეგვხვდა დაავადებულთა 90%-ში. G ალელთან ასოცირდებოდა 5-ჯერ გაზრდილი დაავადების რისკი ( $p=0.0001$ ,  $OR=5.2$ ; 95% CI 3.2732 to 8.2217). საინტერესოა, რომ ჰეტეროზიგოტური დამემკვიდრება არ ზრდის დაავადების განვითარების რისკს, ხოლო ჰომოზიგოტური - ზრდის რისკს 10-ჯერ ( $p=0.0001$ ;  $OR=9.2$ ; 95% CI 5.4476 to 15.7981). G ალელი ჯანმრთელი ადამიანების მესამედში, ხოლო მათი ნახევარი გახლდათ ჰომოზიგოტი.

რაც შეეხება rs8042039-ის G ალელს, ის ექსფოლიაციური სინდრომის განვითარების რისკს ზრდიდა 5-ჯერ ( $p=0.0001$ ;  $OR=4.9$ ; 95% CI 2.6378 to 9.3135). ამ შემთხვევაშიც ჰეტეროზიგოტები არ იყვნენ გაზრდილი რისკის ქვეშ, ხოლო ჰომოზიგოტური დამემკვიდრების შემთხვევაში რისკი იზრდებოდა 6-ჯერ. G ალელი გვხვდებოდა ჯანმრთელი ინდივიდების 80%-ში და მათი მესამედი იყო ჰომოზიგოტი.

**ცხრილი 9.** LOXL1 გენის ალელებისა და გენოტიპების ასოციაცია ექსფოლიაციურ სინდრომთან.

SNP		Controls % (n=199)	XFS % (n=132)	P value	OR (95% CI)
<b>rs2165341</b>					
<b>Allele</b>	A	58.5	82.6	0.0001	3.8 (2.6339 to 5.5802)
	G	41.5	17.4	0.0001	0.2 (0.1387-0.3576)
<b>Genotype</b>	AA	32.2	68.2	0.0001	5.7 (1.9518 to 16.5321)
	GA	52.7	28.8	0.0001	4.5 (2.8199 to 7.2454)
	GG	15.1	3	0.0001	0.2 (0.0313 to 0.2781)
	Total	64/105/30 (AA/GA/GG)	90/38/4 (AA/GA/GG)		
<b>rs4886776</b>					
<b>Allele</b>	G	64.8	90.5	0.0001	5.2 (3.2732 to 8.2217)
	A	35.2	9.5	0.0001	0.2 (0.1216 to 0.3055)
<b>Genotype</b>	GG	32.7	81.8	0.0001	9.2 (5.4476 to 15.7981)
	GA	64.3	17.4	0.19	4.1 (0.4846 to 34.2232)
	AA	3	0.8	0.0001	0.1 (0.0165-1.1782)
	Total	65/128/6 (GG/GA/AA)	108/28/1 (GG/GA/AA)		
<b>rs8042039</b>					
<b>Allele</b>	G	80.9	95.4	0.0001	4.9 (2.6378 to 9.3135)
	A	19.1	4.5	0.0001	0.2 (0.0286 to 2.0209)
<b>Genotype</b>	GG	64.8	91.7	0.0001	5.9 (3.0168 to 11.8102)
	AG	32.2	7.5	0.16	4.1 (0.4846 to 34.2232)
	AA	3	0.8	0.0001	0.2 (0.0233 to 1.6544)
	Total	129/64/6 (GG/GA/AA)	121/10/1 (GG/GA/AA)		

**დიაგრამა 6.** LOXL1 ექსფოლიაციური სინდრომის მქონე და ჯანმრთელ პაციენტებში



ჩვენ ასევე მოვახდინეთ 6 სხვა გენის იდენტიფიცირება, როგორცაა CACNA1A rs4926244, POMP rs7329408, TMEM136 rs11827818, AGPAT1 rs3130283, RBMS3 rs12490863 და SEMA6A rs10072088.

ამ გენებიდან, მხოლოდ SEMA6A, POMP და CACNA1A აღმოჩნდა ექსფოლიაციურ სინდრომთან კავშირში. SEMA6A-ს G ალელი, რომელიც ფიგურირებს ლიტერატურაში, არ აღმოჩნდა დაავადებასთან კავშირში ქართულ პოპულაციაში, არამედ სარისკო აღმოჩნდა A ალელი. მისი სიხშირე მნიშვნელოვნად მეტი იყო ჯანმრთელ ინდივიდებთან შედარებით ( $p=0.001$ ). ის დაავადების განვითარების რისკს ზრდიდა 80%-ით. ის დაავადებულთა 81%-ში შეგვხვდა, მათდან 65% იყო ჰომოზიგოტი. ჰეტეროზიგოტული დამემკვიდრების შემთხვევაში რისკი იზრდებოდა 2-ჯერ ( $p=0.001$ ; OR = 1.8; 95% CI: 1.2676 to 2.6973), ხოლო ჰომოზიგოტური დამემკვიდრებისას - 4-ჯერ ( $p=0.001$ ; OR= 4.0; 95% CI: 1.1531 to 13.9903). საინტერესოა, რომ A ალელი

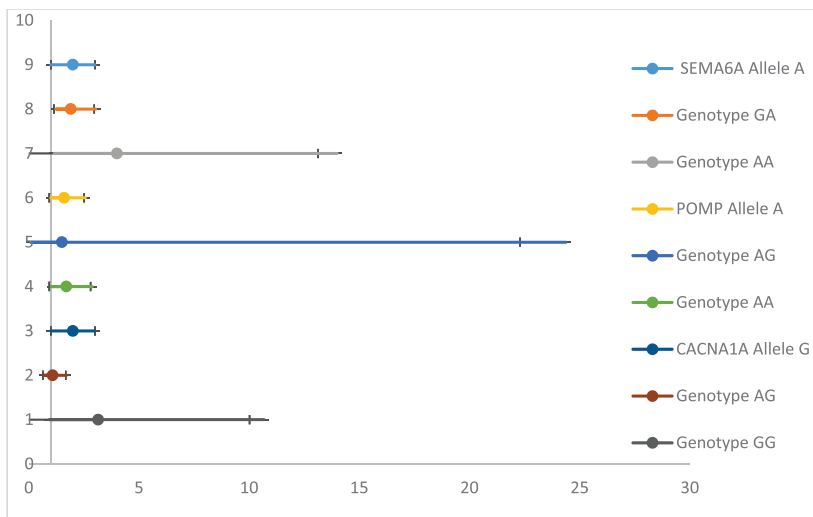


შეგვხვდა ჯანმრთელი პაციენტების 70%-ში და მათი ნახევარი იყო ჰომოზიგოტი.

POMP-ის მაღალი რისკის მქონე A ალელი შეგვხვდა დაავადებულთა მხოლოდ 16%-ში. ის დაავადების რისკს ზრდიდა 60%-ით ( $p=0.005$ ; OR= 1.6; 95% CI: 0.9931 to 2.5634). ჰეტეროზიგოტებში გაზრდილი რისკი არ აღინიშნა, ხოლო ჰომოზიგოტებში რისკი იზრდებოდა 70%-ით. ჯანმრთელ პაციენტებში A ალელი შეგვხვდა 10%-ში და მათი მხოლოდ 0.5% იყო ჰომოზიგოტი.

რაც შეეხება CACNA1A-ს, G ალელი აღმოჩნდა მაღალი რისკის მატარებელი. ის დაახლოებით 20%-ში შეგვხვდა როგორც ჯანმრთელ, ასევე დაავადებულ ადამიანებში და მხოლოდ ჰომოზიგოტური დამემკვიდრება აღმოჩნდა სარისკო. რისკი იზრდებოდა 3-ჯერ ( $p=0.05$ ; OR= 3.15; 95% CI: 0.9275 to 10.6658). შედეგები წარმოდგენილია მე-6 ცხრილში.

**Figure 7.** POMP, SEMA6A and CACNA1A ექსფოლიაციური სინდრომის მქონე და ჯანმრთელ პაციენტებში



**ცხრილი 10.** POMP, SEMA6A და CACNA1A გენების ალელებისა და გენოტიპების ასოციაცია ექსფოლიაციურ სინდრომთან.

SNP		Controls (n=199)	%	XFS (n=132)	%	P value	OR (95% CI)
<b>SEMA6A- rs10072088</b>							
<b>Allele</b>	A	70.4		81.4		0.001	1.8 (1.2676 to 2.6973)
	G	29.7		18.6		0.001	0.5 (0.3299 to 0.8166)
<b>Genotype</b>	GA	42.3		32.5		0.002	1.9 (1.2246 to 3.0316)
	AA	49.2		65.2		0.004	4.0 (1.1531 to 13.9903)
	GG	8.5		2.3		0.004	0.2 (0.0715 to 0.8672)
	Total	98/84/17 (AA/GA/GG)		86/3/43 (AA/GA/GG)			
<b>POMP- rs7329408</b>							
<b>Allele</b>	A	9.8		14.8		0.04	1.6 (0.9931 to 2.5634)
	G	90.2		85.2		0.05	0.6 (0.3901 to 1.0069)
<b>Genotype</b>	AG	18.6		28		0.7	1.5 (0.0937 to 24.3786)
	AA	0.5		0.8		0.05	1.7 (1.0217 to 2.8713)
	GG	80.9		71.2		0.05	0.6 (0.3483 to 0.9788)
	Total	161/37/1 (GG/AG/AA)		94/37/1 (GG/AG/AA)			
<b>CACNA1A- rs4926244</b>							
<b>Allele</b>	G	21.21		18.34		0.4	1.2 (0.8122 to 1.7690)
	A	78.8		81.7		0.4	0.8 (0.5653 to 1.2313)
<b>Genotype</b>	AG	42.3		32.5		0.7	1.08 (0.6801 to 1.7043)
	GG	8.5		2.3		0.05	3.15 (0.9275 to 10.6658)
	AA	49.2		65.2		0.05	0.3 (0.0938 to 1.0782)
	Total	40/84/8 (AG/AA/GG)		65/130/4 (AG/AA/GG)			

დანარჩენი სამი გენის TMEM136 rs11827818, AGPAT1 rs3130283, RBMS3 rs12490863 კვლევისას, რაიმე კავშირი ექსფოლიაციურ სინდრომთან ნანახი არ იქნა. ლიტერატურაში მოცემული მაღალი რისკის ალელები შეგვხვდა როგორც ჯანმრთელ, ასევე დაავადებულ პაციენტებში დაახლოებით 10-

15%-ში და მათთან დაავადების განვითარების მომატებული რისკი არ აღმოჩნდა.

**ცხრილი 11.** RBMS3, TMEM136 and AGPAT1 გენების ალელებისა და გენოტიპების ასოციაცია ექსფოლიაციურ სინდრომთან.

SNP		Controls (n=199)	%	XFS (n=132)	%	P value	OR (95% CI)
RBMS3- rs12490863							
Allele	A	9		10.7		<b>0.5</b>	1.2 (0.6797 to 1.9400)
	G	91		89.3		<b>0.5</b>	0.8 (0.5155 to 1.4712)
Genotype	GA	17.1		19.8		<b>0.5</b>	1.2 (0.6956 to 2.1274)
	AA	0.5		0.8		<b>0.8</b>	1.5 (0.6797 to 1.9400)
	GG	82.4		79.4		<b>0.8</b>	0.7 (0.4701 to 1.4376)
	Total	34/164/61 (GA/GG/AA)		104/26/1 (GA/GG/AA)			
TMEM136- rs11827818							
Allele	G	15.58		15.38		<b>0.9</b>	1.01 (0.6587 to 1.5637)
	A	84.4		84.6		<b>0.9</b>	0.9 (0.6395 to 1.5182)
Genotype	GA	27.1		27.7		<b>0.7</b>	1.004 (0.6175 to 1.6327)
	GG	2		1.5		<b>0.7</b>	1.3 (0.2370 to 7.2730)
	AA	70.9		70.8		<b>0.8</b>	0.7 (0.6125 to 1.6193)
	Total	54/141/4 (GA/GG/AA)		36/92/2 (GA/GG/AA)			
AGPAT1- rs3130283							
Allele	A	6.3		8.3		<b>0.3</b>	1.3 (0.7478 to 2.4600)
	C	93.7		91.7		<b>0.3</b>	0.7 (0.4065 to 1.3372)
Genotype	CA	12.6		16.7		<b>0.3</b>	1.3 (0.7352 to 2.5456)
	CC	87.4		83.3		<b>0.3</b>	0.7 (0.3928 to 1.360)
	AA	0		0			
	Total	54/141/4 (CA/CC/AA)		36/92/2 (CA/CC/AA)			

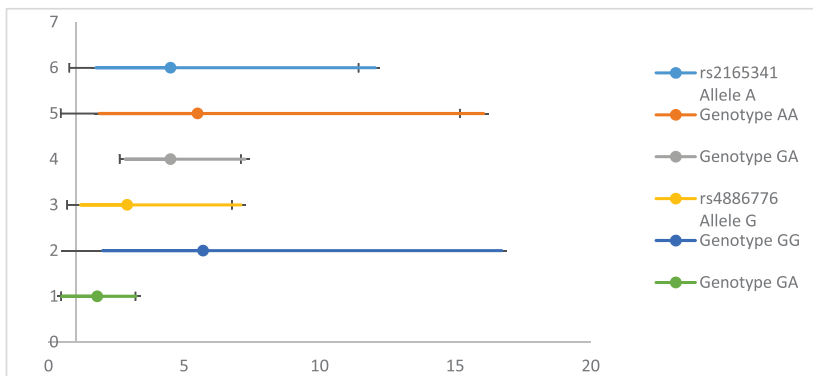
შემდეგ ეტაპზე გამოკვლეულ იქნა ზემოთხსენებული გენების კავშირი ექსფოლიაციურ გლაუკომასთან. ასოციაცია ნანახი იქნა შემდეგი გენების პოლიმორფიზმებთან: LOXL1, SEMA6A და POMP.

LOXL1 rs2165241-ის A ალელის სიხშირე მნიშვნელოვნად მაღალი იყო ჯანმრთელ ინდივიდებში ექსფოლიაციური გლაუკომის მქონე პაციენტებთან შედარებით ( $p=0.0002$ ) და ის დაავადების განვითარების რისკს 4-ჯერ ზრდიდა ( $OR=4.5$ ; 95% CI 1.7464 to 12.0506). ის შეგვხვდა დაავადებულთა 83%-ში და მათი 70% აღმოჩნდა ჰომოზიგოტი 5.5-ჯერ გაზრდილი რისკით ( $p=0.0002$ ;  $OR= 5.5$ ; 95% CI: 1.8747 to 16.0444). ჰეტეროზიგოტური დამემკვიდრება ექსფოლიაციური გლაუკომის რისკს ზრდიდა 4.5-ჯერ ( $p=0.0001$ ;  $OR= 4.5$ ; 95% CI: 2.8199 to 7.2454).

rs4886776-ის G ალელი აღმოჩნდა მაღალი რისკის მატარებელი. ის შეგვხვდა დაავადებულთა 84%-ში. ის 3-ჯერ ზრდიდა ექსფოლიაციური გლაუკომის განვითარების რისკს ( $p=0.0001$ ,  $OR=2.9$ ; 95% CI 1.1815 to 7.0891). ისევე, როგორც ექსფოლიაციური სინდრომის შემთხვევაში, ექსფოლიაციური გლაუკომის მაღალი რისკი არ იყო დაკავშირებული ჰეტეროზიგოტულ დამემკვიდრებასთან, ხოლო ჰომოზიგოტური დამემკვიდრება რისკს ზრდიდა თითქმის 6-ჯერ ( $p=0.003$ ;  $OR=5.7$ ; 95% CI 1.9934 to 16.7152).

rs8042039-ის G ალელი ნანახი იქნა ყველა დაავადებულ პაციენტში და ყველა მათგანი იყო ჰომოზიგოტი. შედეგები მოცემულია მე-7 ცხრილში.

**დიაგრამა 8.** LOXL1 ექსფოლიაციური სინდრომის მქონე და ჯანმრთელ პაციენტებში



**ცხრილი 12.** LOXL1 გენების ალელებისა და გენოტიპების ასოციაცია ექსფოლიაციურ გლაუკომასთან.

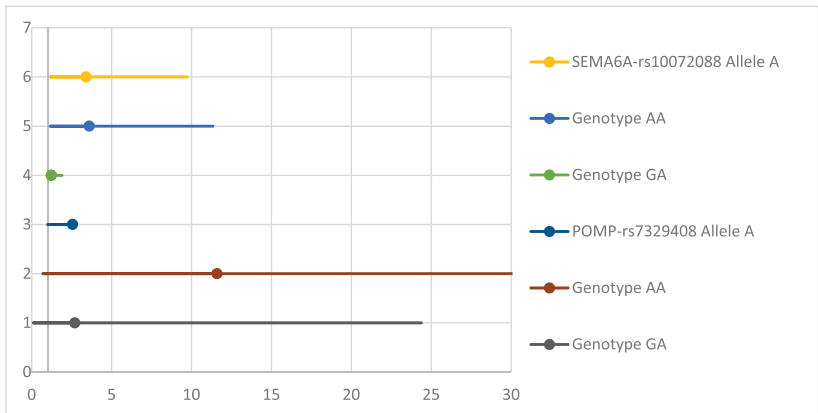
SNP		Controls (n=199)	%	XFG % (n=18)	<i>P</i> value	OR (95% CI)
LOXL1 rs2165341						
Allele	A	58.5		83.3	0.0002	4.5 (1.7464 to 12.0506)
	G	41.5		16.7	0.0002	0.2 (0.0830 to 0.5726)
Genotype	AA	32.2		72.2	0.0002	5.5 (1.8747 to 16.044)
	GA	52.7		22.2	0.0002	4.5 (2.8199 to 7.2454)
	GG	15.1		5.6	0.0002	0.2 (0.0623 to 0.5334)

SEMA6A-ს A ალელი უფრო ხშირად გვხვდებოდა ექსფოლიაციური გლაუკომით დაავადებულ პაციენტებში ჯანმრთელებთან შედარებით ( $p=0.04$ ). ის 3-ჯერ ზრდიდა

დაავადების განვითარების რისკს ( $p=0.04$ ; OR= 3.4; 95% CI: 1.2676 to 2.6973). ის შეგვხვდა ჩვენი პაციენტების 86%-ში, მათი 65% იყო ჰომოზიგოტი. ჰომოზიგოტური დამემკვიდრება ექსფოლიაციურ გლაუკომის რისკს ზრდიდა თითქმის 4-ჯერ ( $p=0.002$ ; OR= 3.6; 95% CI: 1.1474 to 11.3402), ხოლო ჰომოზიგოტური - 2-ჯერ ( $p=0.002$ ; OR= 1.9; 95% CI: 1.2246 to 3.0316).

POMPის მაღალი რისკის მატარებელი A ალელი ექსფოლიაციური გლაუკომის მქონე პაციენტების 22%-ში. მისი არსებობა და ავადების განვითარების რისკს მატებდა 3-ჯერ ( $p=0.02$ ; OR= 2.7; 95% CI: 0.9931 to 2.5634). ჰეტეროზიგოტული დამემკვიდრება რისკს ზრდიდა ასევე 3-ჯერ ( $p=0.05$ ; OR= 2.7; 95% CI: 0.0937 to 24.3786), ხოლო ჰომოზიგოტური 11-ჯერ ( $p=0.05$ ; OR= 11.6; 95% CI: 0.6972 to 194.5768).

**დიაგრამა 9.** SEMA6A და POMP ექსფოლიაციური გლაუკომის მქონე და ჯანმრთელ პაციენტებში



**ცხრილი 13.** გენების ალელებისა და გენოტიპების ასოციაცია ექსფოლიაციურ გლაუკომასთან.

<b>SEMA6A- rs10072088</b>					
Allele	A	70.4	86	0.04	3.4 (1.1663 to 9.7455)
	G	29.7	14	0.04	0.2(0.1026 to 0.8574)
Genotype	AA	49.2	65.2	0.002	3.6 (1.1474 to 11.3402)
	GA	42.3	32.5	0.002	1.9 (1.2246 to 3.0316)
	GG	8.5	2.3	0.004	0.2 (0.0715 to 0.8672)
	GG	8.5	2.3	0.004	0.2 (0.0715 to 0.8672)
	Total	98/84/17 (AA/GA/GG)	14/3/1 (AA/GA/GG)		
<b>POMP- rs7329408</b>					
Allele	A	9.8	22	0.02	2.7 (0.9931 to 2.5634)
	G	90.2	78	0.02	0.4 (0.3901 to 1.0069)
Genotype	AA	0.5	5.6	0.03	11.6 (0.6972 to 194.5768)
	GA	18.6	33.4	0.05	2.7 (0.0937 to 24.3786)
	GG	80.9	61	0.05	0.4 (0.3483 to 0.9788)
	Total	161/37/1 (GG/GA/AA)	11-06-01		

სხვა გენების კავშირი ექსფოლიაციურ გლაუკომასთან ნანახი არ იქნა. ჩვენ ასევე შევადარეთ გენეტიკური მონაცემები ექსფოლიაციური სინდრომისა და ექსფოლიაციური გლაუკომის მქონე პაციენტებს შორის, თუმცა არც ერთი გენი არ აღმოჩნდა გლაუკომის განვითარების მაღალი რისკის მატარებელი. უნდა აღინიშნოს, რომ გლაუკომის მქონე პაციენტების ქვეჯგუფი საკმაოდ მცირე იყო, შესაბამისად, ჩვენი შედეგები შესაძლოა არ ასახავდეს სრულ სურათს.

## განხილვა

### *ექსფოლიაციური სინდრომის გავლენა კატარაქტის ქირურგიაზე*

ჩვენი კვლევა საქართველოში პირველი მცდელობაა იმისა, რომ შეფასდეს ექსფოლიაციური სინდრომის გავლენა კატარაქტის ქირურგიის გამოსავლებზე. ჩვენ ნათლად დავინახეთ, რომ ჩვენი პაციენტების თითქმის მეოთხედს ჰქონდა ვიწრო გუგა, დაახლოებით მეექვსედს აღნიშნებადა ცინის იოგების სისუსტე და დიალიზი, მათ მეათედს - ძალიან ვიწრო ან ძალიან ღრმა წინა საკანი, რაც ქირურგისთვის მნიშვნელოვანი ხელისშემშლელი ფაქტორებია. რათქმაუნდა, ეს ფაქტორები ძალიან ხშირად გვხვდება ერთდროულად, რაც კიდევ უფრო ართულებს ქირურგის საქმეს.

ლიტერატურაში გვხვდება კვლევები, რომლებიც ასევე აღწერენ ამ საკითხებს ექსფოლიაციური სინდრომის მქონე პაციენტებში. ექსფოლიაციური სინდრომი წარმოადგენს მნიშვნელოვან რისკ ფაქტორს ისეთი მდგომარეობებისთვის, როგორცაა ცინის იოგების დიალიზი (OR 6.89), ბროლის ბირთვის ლუქსაცია (OR 9.49), ინტრაოპერაციული მიოზი (OR 2.15). ერთ-ერთი კვლევის მიხედვით, ნორმასთან შედარებით, ექსფოლიაციური სინდრომის მქონე პაციენტებში ბევრად ხშირი იყო მეოთხე ხარისხის კატარაქტა ( $P = 0.001$ ) და 6მმ-ზე ნაკლები დიამეტრის გუგა ფაკოემულსიფიკაციის დროს ( $P < 0.001$ ). ინტრაოპერაციული გართულებების სიხშირე, კი ამ კვლევის მიხედვით, არ განსხვავდებოდა საკონტროლო ჯგუფისგან (2.9% და 1.9%,  $P = 0.29$ ).

ასევე არსებობს კვლევები, რომლებიც უკანა კაფსულის დარღვევის სიხშირეს აფასებენ ექსფოლიაციური სინდრომის მქონე და არმქონე პაციენტებში. სხვადასხვა კვლევების



მიხედვით, რისკი იზრდება 6-ჯერაც კი დაავადებულ პაციენტებში. ჩვენ რაიმე კავშირი უკანა კაფსულის დარღვევის სიხშირესა და ექსფოლიაციურ სინდრომს შორის ვერ აღმოვაჩინეთ. ჩვენს შემთხვევაში ამ გართულების სიხშირე არ განსხვავდებოდა ორ ჯგუფს შორის. იგივე ავტორები აღნიშნავენ უკანა კაფსულის დაღრვევის მნიშვნელოვნად შემცირებულ სიხშირეს, იმ შემთხვევებში, როდესაც ხელოვნური ბროლის იმპლანტაცია ხდებოდა შემღვრეული ბროლის ბოლო კვადრანტის მოცილებაში.

მინისებრის დაღვრა, რაც ერთ-ერთი ყველაზე მძიმე გართულებაა კატარაქტის ქირურგიაში, ლიტერატურაში დაახლოებით შემთხვევების 4%-ში გვხვდება. ავტორების უმეტესობა ამ გართულებას ექსფოლიაციური სინდრომის მქონე პაციენტებში აწყდება, რაც ასევე დაფიქსირდა ჩვენს კვლევაში.

გამომდინარე იქიდან, რომ ჩვენი პაციენტების მესამედს აღნიშნება ექსფოლიაციური სინდრომი, მდგომარეობა, რომელიც მნიშვნელოვნად ართულებს ქირურგიას და საჭიროებს ქირურგის მაღალკვალიფიციურობას, შეიძლება ითქვას, რომ ჩვენს ქვეყანაში, ეს მდგომარეობა მნიშვნელოვან წნეხს წარმოადგენს კატარაქტის ქირურგიაში.

ექსფოლიაციური ნივთიერების აღმოჩენამ სხვადასხვა ორგანოში, როგორცაა ფილტვები, ღვიძლი, კანი, მენინგები და რაც მთავარია, სისხლძარღვები, წარმოშვა ჰიპოთეზა იმის შესახებ, რომ ექსფოლიაციური სინდრომი შესაძლოა დაკავშირებული იყოს სხვადასხვა სისტემური დაავადებების გაზრდილ რისკთან. ზოგმა კლინიკურმა კვლევამ ასევე ივარაუდა მსგავსი კავშირის არსებობა, თუმცა სხვა კვლევებში ეს არ დადასტურდა. მაგალითად, Citiric-ისა და კოლეგების კვლევამ აჩვენა, რომ ექსფოლიაციური სინდრომის მქონე პაციენტებში ბევრად ხშირია გულის იშემიური დაავადების

გავრცელება. მსგავსი შედეგი აჩვენა French-ის კვლევამაც, სადაც ასევე ნაჩვენებია იქნა კავშირი ცარდიომიოპათიისა და აორტის ანევრიზმების სიხშირესთან. მაორეს მხრივ მსგავსი კავშირები არ გამოვლენილა Emiroglu-სა და Tarkannen-ის კვლევებში. პათოგენეზური მექანიზმები უცნობია, თუმცა რამდენიმე გზა არის ნავარაუდევო. ექსფოლიაციური ნივთიერება გროვდება ენდოთელიუმის გარშემო, არღვევს ნორმალურ ბაზალურ მემბრანას და მის ფუნქციას. მეორეს მხრივ, საკმაოდ ძლიერი ვაზოკონსტრიქტორის, ენდოთელინ-1-ის მომატებული კონცენტრაცია სისხლში იწვევს სისხლძარღვების კედლების ელასტიურობის დაქვეითებას და რეზისტენტობის ზრდას<sup>7</sup>. ჰომოცისტეინის მომატებული დონე, რაც ასევე ასოცირდება ექსფოლიაციურ სინდრომთან<sup>8</sup>, ასევე შესაძლოა იწვევდეს სისხლძარღვების კედლების ელასტიურობის დაქვეითებას. გარდა ამისა, ამ მექანიზმებში მატრიქს მეტალოპროტეინაზების და მათი ინჰიბიტორების დარღვეული ჰომეოსტაზიც შესაძლოა თამაშობდეს როლს. ყველა ეს ფაქტორი ერთად, შესაძლოა ზრდიდეს სისხლძარღვოვანი დაავადებების განვითარების რისკს ექსფოლიაციური სინდრომის მქონე პაციენტებში.

ბევრმა კვლევამ აჩვენა ექსფოლიაციური სინდრომის კავშირიცერებრალურიშემიასთან. Yuksel-მადათანაავტორებმა მაგნიტურ-რეზონანსული კვლევის საფუძველზე აღმოაჩინეს, რომ ტვინის თეთრ ნივთიერებაში<sup>2</sup>-ჯერ უფრო ხშირად გვხვდება იშემიური კერები ექსფოლიაციური სინდრომისა და გლავუკომის მქონე პაციენტებში ვიდრე ჯანმრთელ ინდივიდებში. Akarsu-ს კვლევამ აჩვენა მნიშვნელოვნად დაქვეითებული დოპლეროგრაფიული ტრანსკრანიალური პარამეტრები, ხოლო Rittland-მა აღმოაჩინა, რომ ექსფოლიაციური სინდრომის მქონე პაციენტებში მნიშვნელოვნადაა გაზრდილი მწვავეცერებროვასკულარული

მოვლენების რისკი ჯანმრთელ ადამიანებთან შედარებით. ეს მონაცემები ემთხვევა ჩვენი კვლევის შედეგებს.

სისხლძარღვოვანი კომორბიდობების განვითარების ზუსტი მექანიზმები ექსფოლიაციური სინდრომის მქონე პაციენტებში შეუსწავლელია, თუმცა რამდენიმე გზას ვარაუდობენ. ენდოთელიალური უჯრედების გარშემო ექსფოლიაციური ნივთიერებების აკუმულირების შედეგად ირღვევა მათი ნორმალური ბაზალური მემბრანის სტრუქტურა და შესაბამისად ფუნქციაც. მეორეს მხრივ, ამ ნივთიერებების აკუმულირება ძალიან ძლიერ ვაზოკონსტრიქტორ ენდოთელინ-1-თან ერთად, იწვევს სისხლძარღვების კედლების ელასტიურობის დაქვეითებას და რეზისტენტობის ზრდას. გარდა ამისა, ამ პაციენტების სისხლში ოქსიდაციური სტრესის მარკერებიც მაღალია. ასევე დარღვეულია მატრიქს მეტალოპროტეინაზებისა და მათი ინჰიბიტორების ფუნქციაც. ყველა ჩამოთვლილი ფაქტორი შესაძლოა თამაშობდეს როლს ექსფოლიაციური სინდრომის სისხლძარღვოვანი კომორბიდობების პათოგენეზში და რაც ყველაზე მნიშვნელოვანია, მწვავე სისხლძარღვოვანი მოვლენების განვითარებაში.

ზოგიერთი კლინიკური კვლევისგან განსხვავებით, ჩვენ ვერ ვნახეთ კავშირი ექსფოლიაციურ სინდრომსა და არტერიულ ჰიპერტენზიას შორის, თუმცა ჩვენ ნამდვილად აღმოვაჩინეთ მნიშვნელოვანი ასოციაცია ექსფოლიაციურ სინდრომსა და ისეთ დაავადებებს შორის, როგორცაა გულის იშემიური დაავადება, მიოკარდიუმის ინფარქტი და ცერებროვასკულარული მოვლენები. ჩვენ არ გვქონდა ამ პაციენტების ღრმა კარდიოლოგიური კვლევების ჩატარების საშუალება. ჩვენმა ეპიდემიოლოგიურმა კვლევამ აჩვენა, რომ ეს პაციენტები საჭიროებენ ზოგადი პროფილის ექიმის მიერ უფრო მეტ მეთვალყურეობას.

## **გენეტიკა და შესაძლო ბიოლოგიური მექანიზმები**

ექსფოლიაციური სინდრომის მთავარი მახასიათებელია თვალის სხვადასხვა სტრუქტურებში პათოლოგიური ფიბრილო-გრანულარული ნივთიერებების დაგროვება. ეს ფიბრილები შედგება პროტეოგლიკანურ/გლიკოპროტეინული კომპლექსებისგან, რომლებიც ფერმენტული დაშლის მიმართ ძალიან რეზისტენტულია. ისინი შეიცავენ ისეთ ფერმენტებს, როგორცაა კლასტერინი, მატრიქს მეტალოპროტინაზები და LOXL1. დაავადების ადრეულ სტადიებზე ხდება LOXL1-ის ჰიპერპროდუქცია, ხოლო მოგვიანებით, სავარაუდოდ, კომპენსატორული ჰიპოპროდუქცია.

ითვლება, რომ თითონ LOXL1 ცილა არის არასწორი აგებულებისა და ფუნქციის მქონე ექსფოლიაციური სინდრომის დროს და ასევე ხდება მისი დიდი რაოდენობით დაგროვება პროტეოლიზისთვის. სწორედ მისი აგებულების გამო იგი ხდება რეზისტენტული პროტეოლიზის მიმართ.

ზოგადად, არასწორი სტრუქტურის მქონე ცილებს ანადგურებენ პროტეასომები და უჯრედების აუტოფაგის სისტემაში ჩართული ფერმენტები, თუმცა მანამდე, უჯრედი ცდილობს დეფექტის გამოსწორებას ჩაპერონების საშუალებით. თუკი ეს მექანიზმი უშედეგოა, ცილა გადაადგილდება ციტოზოლში, პროტეასომის საშუალებით დასაშლელად. თუკი ეს მექანიზმიც უშედეგოა, ხდება მისი გადაადგილება უჯრედგარე სივრცეში, სადაც ის კაფსულირდება, იმისათვის, რომ მოხდეს მისი ლიზოსომების საშუალებით დაშლა.

სავარაუდოა, რომ LOXL1-ის დეფექტური სინთეზი და მისი დაშლის შეუძლებლობა უდევს საფუძვლად ექსფოლიაციურ სინდრომს. კვლევებმა აჩვენა, რომ ამ

დროს დეფექტურია აუტოფაგოსომებისა და ლიზოსომების ტრანსპორტირების პროცესი. ის ფაქტი, რომ LOXL1 ტრანსპორტირდება ლიზოსომებისკენ, მიუთითებს იმაზე, რომ, ამ პროცესის წინამორბედი მექანიზმებით ვერ ხდება მისი განადგურება. ასევე დეფექტურია ჩაპერონების ფუნქციაც, რაზეც მიუთითებს მათი მედიატორის, კლასტერინის, დიდი რაოდენობით დაგროვებაც. შესაძლებელია, რომ პროტეასომებიც ვერ ახერხებენ LOXL1-ის დაშლას და ამ პროცესებში, სწორედ POMP გენის მუტაციას შესაძლოა ჰქონდეს როლი.

POMP გენი აკოდირებს პროტეასომის მომწიფების ცილას, რომელიც პროტეასომის ბიოგენეზშია საჭირო. ამ ცილის გენეტიკური დეფექტი, სავარაუდოდ მისი ფუნქციის დაქვეითებას იწვევს, შედეგად ვერ ხდება დეფექტური LOXL1-ის და ასევე დაგროვილი ექსფოლიაციური ნივთიერებებისგან ქსოვილების გასუფთავება. უახლესმა კვლევამ, იმუნოჰისტოქიმიური ანალიზის საშუალებით, აჩვენა, რომ POMP-ს მიერ კოდირებული ცილის დონე მნიშვნელოვნადაა დაქვეითებული ექსფოლიაციური სინდრომის მქონე თვალებში ფერად გარსსა და ცილიარულ სხეულში.

შემდეგი საფეხური დაზიანებული ცილების დაშლის პროცესში არის აუტოფაგია, რომლის დროსაც აუტოფაგოსომის სახით კაფსულირებული ცილა ერწყმის ლიზოსომას. შერწყმის პროცესში მონაწილეობენ პოტენციალ-დამოკიდებული კალციუმის არხები. ამ არხების ერთ-ერთ დომენს აკოდირებს CACNA1A გენი. რამდენიმე კვლევამ, ისევე, როგორც ჩვენმა, აჩვენა, რომ ეს გენი ასოცირდება ექსფოლიაციური სინდრომის განვითარების მომატებულ რისკთან. თეორიულად, სწორედ ლიზოსომასთან შერწყმის პროცესების არასწორი მიმდინარეობა შეიძლება იყოს

ექსფოლიაციური ნივთიერების დაგროვების ერთ-ერთი გზა.

რამდენიმე კვლევამ ასევე აჩვენა, რომ ექსფოლიაციურ მასებში მაღალია კალციუმის კონცენტრაცია. კალციუმს ასევე დიდი როლი აქვს ფიბრილინის ბიოგენეზში. მეორეს მხრივ, კალციუმის ნაკლებობის დროს, ფიბრილინი ბევრად მარტივად განიცდის პროტეოლიზს. აქედან გამომდინარე, შეიძლება ვივარაუდოთ, რომ კალციუმის დარღვეულ ჰომეოსტაზსაც შეაქვს თავისი წვლილი ექსფოლიაციური ნივთიერებების დაგროვებაში.

დღესდღეობით, გლაუკომის განვითარების ერთადერთი ცნობილი რისკ-ფაქტორია მომატებული თვალშია წნევა. გამომდინარე იქიდან, რომ დაბალი წნევის ფონზე ასევე ვითარდება გლაუკომა და ასევე, დაქვეითებული წნევის მიუხედავად, მაინც პროგრესირებს მხედველობის ნერვის ატროფია, სავარაუდოა, რომ ნეიროდეგენერაციის სხვა მექანიზმებიც მოსაძებნია.

ჯანმრთელ ნეირონებში კალციუმი ძალიან ბევრ პროცესს არეგულირებს, ისეთებს, როგორცაა ელექტრული სიგნალის გენერირება და გადაცემა, ეგზოციტოზი თუ უჯრედშია და მეტაბოლიზმი. კალციუმი ასევე რთავს პროცესების იმ კასკადს, რომლებიც აუცილებელია დენდრიტის განვითარებისთვის, ნეირონების გადარჩენისთვის და სინაფსური პლასტიურობისთვის.

ბოლო დროს ნეიროდეგენერაციული დაავადებების კალციუმის თეორია ძალიან პოპულარული გახდა. კალციუმის დარღვეულ უჯრედშია და უჯრედგარე ჰომეოსტაზს უკავშირებენ ისეთ ნეიროდეგენერაციულ დაავადებებსაც, როგორცაა ალცჰეიმერის, პარკინსონისა და ჰანტინგტონის დაავადებები. რამდენიმე იშვიათი ნეიროდეგენერაციული დაავადება ასევე უკავშირდება კონკრეტულად CACNA1A-ს მუტაციას. ესენია მე-6 ტიპის სპინოცერებელარული ატაქსია,

მე-2 ტიპის ეპიზოდური ატაქსია და ოჯახური ჰემიპლეგიური შაკიკი. ნეიროდეგენერაციის ერთ-ერთი მთავარი მექანიზმი სწორედ კალციუმს უკავშირდება, რომლის დიდი რაოდენობით შესვლა ციტოზოლში იწვევს ციტოსკელეტის დეგრადაციას კასპაზების აქტივაციის გზით. კვლევებმა აჩვენა, რომ CACNA1A ბადურას ქსოვილშიც ექსპრესირდება, შესაბამისად მას ასევე შესაძლოა ჰქონდეს გარკვეული როლი ნეიროდეგენერაციის პროცესში ექსფოლიაციური გლაუკომის დროს.

ჩვენმა კვლევამ აჩვენა, რომ LOXL1-ის rs2165341, rs4886776 და rs8042039 ვარიანტების მატარებლებს მნიშვნელოვნად აქვთ მომატებული ექსფოლიაციური სინდრომისა და გლაუკომის განვითარების რისკი. ასევე, ეს მდგომარეობები ასოცირდება CACNA1A rs4926244, POMP rs7329408 და SEMA6A rs10072088 გენების პოლიმორფიზმებთან. მათ განვითარების შესაძლო მექანიზმები განხილულია ზევით.

ჩვენი კვლევის შეზღუდვას წარმოადგენდა ექსფოლიაციური გლაუკომის მქონე პაციენტების ძალიან პატარა ქვეჯგუფი. ასევე არ ხდებოდა სინდრომის მქონე პაციენტების დაკვირვება დინამიკაში. შესაბამისად, უცნობია განუვითარდებოდათ თუ არა ამ პაციენტებს გლაუკომა დროთაგანმავლობაში. შესაბამისად ამ ქვეჯგუფის შედარებით გლაუკომის არმქონე პაციენტებთან, შესაძლოა არ მიგვეღო რეალური სურათი.



## დასკვნა

1. ექსფოლიაციური სინდრომის გავრცელება მაღალია და შეადგენს კატარაქტის გამო საოპერაციო პაციენტების მესამედს.
2. ექსფოლიაციური გლაუკომა გვხვდება კატარაქტის გამო საოპერაციო პაციენტების 4.6%-ში.
3. ექსფოლიაციური სინდრომით დაავადებულ პაციენტებში, ფაკოემულასიფიკაციის დროს, განსაკუთრებით მაღალია ისეთი ტექნიკური სირთულეები როგორცაა ინტრაოპერაციული მიოზი, ცინის იოგების სისუსტე და დიალიზი და ასევე, ისეთი გართულებები, როგორცაა ბროლის ჩანთის კარგვა, მინისებრის დაღვრა, აფაკია და განმეორებითი ჩარევების საჭიროება, რაც ქირურგისგან მაღალკვალიფიციურობას მოითხოვს.
4. ჩვენმა კვლევამ დაადასტურა თანამედროვე სამედიცინო ლიტერატურის მოსაზრება ექსფოლიაციურ სინდრომსა და სისტემურ სისხლძარღვოვან დაავადებებს შორის ასოციაციაზე: ამ დაავადებათა კომორბიდულობა სარწმუნოდ მაღალია კატარაქტით დაავადებულთა იმ ჯგუფში, რომელშიც დასტურდება ექსფოლიაციური სინდრომი.
5. ექსფოლიაციური სინდრომის მომატებული რისკი ასოცირდება ისეთი გენების პოლიმორფიზმებთან, როგორცაა of LOXL1, CACNA1A, POMP, SEMA6A, ხოლო TMEM136, RBMS3 და AGPAT1 გენების პოლიმორფიზმებთან კავშირი არ დასტურდება.
6. ექსფოლიაციური გლაუკომის მომატებული რისკი ასოცირდება ისეთი გენების პოლიმორფიზმებთან,



როგორცაა of LOXL1, POMP, SEMA6A, ხოლო CACNA1A, TMEM136, RBMS3 და AGPAT1 გენების პოლიმორფიზმებთან კავშირი არ დასტურდება.

## პრაქტიკული რეკომენდაციები

1. გამომდინარე ექსფოლიაციური სინდრომის ფართო გავრცელებიდან ქართველ პაციენტებში, ძალიან მნიშვნელოვანია დროული დაგეგმვა, რათა თავიდან აცილებულ იქნას მძიმე გართულებები და მიღწეულ იქნას მაქსიმალური მხედველობით გამოსავლები.
2. გამომდინარე იქიდან, რომ გადავადებულ ქირურგიულ ჩარევებს შესაძლოა ახლდეს თან მძიმე გართულებები, აუცილებელია სადაზღვევო სისტემამ ექსფოლიაციური სინდრომი განიხილოს როგორც რელევანტური ფაქტორი ჩარევის დასაჩქარებლად.
3. კატარაქტის ქირურგებს, რომელთაც საქმე აქვთ ექსფოლიაციური სინდრომის მქონე პაციენტებთან უნდა მოეთხოვებოდეთ მაღალი ქირურგიული კვალიფიკაცია.
4. ექსფოლიაციური სინდრომის მაღალი გავრცელება ჩვენს ქვეყანაში მოითხოვს მეტ ყურადღებას სარეზიდენტო და CME პროგრამებში.
5. გამომდინარე ექსფოლიაციური სინდრომისა და გლაუკომის კომპლექსური გენეტიკური მექანიზმებიდან, რომლებიც დღესდღეობით შესწავლილი არ არის, აუცილებელია ასეთი პაციენტების ხშირი მონიტორინგი და გლაუკომაზე სკრინინგი ხშირი თვალშიდა წნევის კონტროლის და

- მხედველობის ნერვის დვრილის შეფასების გზით.
- ჩვენი კვლევა მიუთითებს უფრო ღმა კვლევების აუცილებლობას ექსფოლიაციური სინდრომისა და სისხლძარღვოვანი პათოლოგიების კავშირის შესახებ და ასევე ოფთალმოლოგების როლის შესახებ ამ დაავადებების პრევენციისა და მკურნალობის გზებში.

### **დისერტაციის თემაზე გამოქვეყნებულ ნაშრომთა სია**

1. N.Kobakhidze, G. Chichua, S. Tabagari, C. Khor, T. Aung - Genetic Markers of Exfoliation Syndrome in Georgian Population GOS and SOE second Joint Meeting 10-12 June, 2016 Tbilisi, Georgia - Oral Presentation
2. N.Kobakhidze, G. Chichua, C. Khor, T. Aung - Genetic Markers of Exfoliation Syndrome in Georgian Population - 36th Congress of ESCRS, 10-14 September, 2016, Copenhagen, Denmark - Poster
3. N.Kobakhidze, S. Tabagari, G Chichua - Genetic markers of exfoliation syndrome in Georgian population - 13th International Postgraduate Conference, Hradec Kralove, Czech Republic, Nov 24-25, 2016
4. Aung T, Kobakhidze N, Chichua G, Tabagari S, et al. - Genetic association study of exfoliation syndrome identifies a protective rare variant at LOXL1 and five new susceptibility loci. Nat Genet. 2017;49(7):993-1004. doi:10.1038/ng.3875
5. N.Kobakhidze, G. Chichua, S. Tabagari, C. Khor, T. Aung - Genetic Markers of Exfoliation Syndrome in Georgian

Population GOS and SOE third Joint Meeting 30th June –  
1st July, 2018, Tbilisi, Georgia - Oral Presentation

6. N.Kobakhidze, G. Chichua, C. Khor, T. Aung - Genetic Markers of Exfoliation Syndrome in Georgian Population - 36th Congress of ESCRS. 22-26 September, 2018 Vienna Austria - Presented Poster
7. N.Kobakhidze, S. Tabagari, G Chichua - LOXL1 Gene Variants in Association with Exfoliation Syndrome in Georgian Population Georgian Medical News , N1 (286) Jan 2019
8. N.Kobakhidze, S. Tabagari, G Chichua - New Genetic Markers Associated with Susceptibility to Exfoliation Syndrome in Georgian Population – Georgian Medical News , N9 (294) Sep 2019



David Tvildiani Medical University

Copyright

**Nino Kobakhidze**

**Exfoliation Syndrome in  
Georgian Patients Undergoing  
Cataract Surgery**

Thesis of Dissertation for the PhD Academic Degree  
in Medicine

Tbilisi 2020

The PhD research was performed at David Tvildiani Medical University, Chichua Medical Center Mzera, LLC and Singapore Eye Research Institute.

**Research supervisors:**

**Sergo Tabagari** MD, PhD, Professor, David Tvildiani Medical University  
**George Chichua** MD, PhD, Associate Professor, New Vision University  
**Tin Aung** MD, PhD, Professor, Singapore Eye Research Institute

**Official Experts/Oponents**

**Merab Dvali** MD, PhD, Professor, Tbilisi State Medical University  
**Adam Kotorashvili** PhD, Invited Professor, Ilia State University  
**Tinatın Zurashvili** MD, PhD, Associate Professor David Tvildiani Medical University

The dissertation defence will be held on October 29 2020 at AM/PM at David Tvildiani Medical University Conference Hall (13 Ljubljana/6 M. Chiaureli str. 0159, Tbilisi, Georgia).

The dissertation can be obtained at Daphne Hare Medical Library, David Tvildiani Medical University.

The thesis was distributed on October 15 2020.

Scientific Secretary of the University

**Mariam Vachnadze**

## Relevance of the Problem

Exfoliation Syndrome (XFS) is an age-related disorder affecting millions of people worldwide. The exact prevalence of this condition in Georgia is not known but ophthalmologists and especially anterior segment surgeons agree that it is extremely common among cataract patients. XFS is a major cause of most of the technical issues leading to most severe complications encountered during phacoemulsification.

Exfoliation syndrome is characterised by the production and progressive deposition of abnormal fibrillary extracellular material in ocular tissues. The exact aetiology and pathogenesis of XFS is not known. The same is true for exfoliation glaucoma (XFG), which develops only in third of XFS patients. XFG is characterized by more aggressive clinical course, more resistance to conservative treatment and early need of surgical intervention as compared to other glaucoma types and is associated with significantly increased risk of blindness.

Nowadays, XFS is already considered as systemic disorder, however it's clinical relevance is still almost exclusively studied with regard to the eye. The literature about the association of XFS with cerebrovascular and cardiovascular diseases is controversial. According to the study of Gökce et al. XFS is characterised by a tendency of increased thickness of carotid intima and increased renal artery resistance. Based on the meta-analysis results of the existing literature, it was concluded that XFS is also associated with elevated risk of vascular diseases, such as aortic aneurisms, coronary heart diseases and cerebrovascular diseases.

As mentioned earlier, the mechanisms of disease development are not known to date, though many studies point to genetic factors. Of special interest is the fact that not all XFS patients develop

glaucoma, meaning that the underlying factors may be different. Given that Georgians have their own unique genetic ancestry, it is important to evaluate the relevance of the scientific data to our population.

### **The Aim of the Study**

The aim of this work was to study the burden of XFS in cataract surgery, to identify the epidemiology and genetic markers of XFS and XFG among Georgian patients, as well as to define the association of the syndrome with systemic vascular conditions.

### **The Objectives of the Study**

1. To study the prevalence of XFS in Georgian patients undergoing cataract surgery.
2. To study the prevalence of XFG in Georgian patients undergoing cataract surgery.
3. To identify systemic vascular conditions associated with XFS.
4. To study the association of polymorphisms of LOXL1, CACNA1A, POMP, SEMA6A, TMEM136, RBMS3 and AGPAT1 with XFS in patients undergoing cataract surgery.
5. To study the association of polymorphisms of LOXL1, CACNA1A, POMP, SEMA6A, TMEM136, RBMS3 and AGPAT1 with XFG in patients undergoing cataract surgery.



## **Scientific Novelty of the Study**

This is the first attempt to characterize XFS in Georgian patients undergoing cataract surgery. We evaluate its burden on phacoemulsification and its outcomes. We also evaluate these patients for their risks of vascular comorbidities in order to compare with very inconsistent literature on this topic. Most importantly, for the first time in Georgia, we characterize the genetics of XFS for better understanding mechanisms of its development.

## **Practical Value of the Study**

Given the high prevalence of XFS in Georgia, cataract surgeons often have to deal with serious issues during phacoemulsification. Often times XFS is overlooked by general ophthalmologists and many patients seek for surgery later in the course of disease. The latter factor is also the cause of under-treatment of many glaucoma patients, later referral to specialized eye care centres often results in worse outcomes. The presence of XFS is not considered as reliable reason for faster approval of surgery by Georgian health care and insurance systems, again leading to belated interventions. This study is an important first step forward in improving our results in cataract surgery and glaucoma care.

## **Approbation of the work**

The dissertation thesis was approbated at Chichua Medical Center Mzera on July 29 2020. The results were presented at:

1. 13th International Postgraduate Conference, Hradec Kralove, Czech Republic, Nov 24-25, 2016
2. 36th Congress of ESCRS. 22-26 September, 2018 Vienna

Austria - Presented Poster

3. GOS and SOE second Joint Meeting 10-12 June, 2016  
Tbilisi, Georgia - Oral Presentation
4. GOS and SOE third Joint Meeting 30th June – 1st July,  
2018, Tbilisi, Georgia - Oral Presentation

Three published abstracts and 3 papers fully describe the results of the work. This is in accordance with the University requirements for PhD academic degree.

We acknowledge The Shota Rustaveli National Science Foundation for support under grant project PhD 2016\_39.

## **Dissertation Structure**

The work is written in English and consists of 8 parts: Introduction, Literature Review, Materials and Methods, Results, Discussion, Conclusions, Practical Recommendations and References. It contains 93 pages, is illustrated with 10 Figures and 15 Tables. The list of literature consists of 136 sources.

## **Study Design**

We performed a case-control study. The duration of the study was 4 years. We included patients undergoing cataract surgery by the author. One group of patients comprised XFS cases with a subgroup of XFG cases. The control group included individuals with no signs of XFS.

## **Ethical Approval**

The ethical approval of this study was obtained from David Tvildiani Medical University Ethics Committee. All study proce-

dures were adherent to principles stated in Declaration of Helsinki on Biomedical Research Involving Human Subjects.

## **Materials and Methods**

### **Study Population and Design**

Eight hundred sixty-three self-reported Georgian subjects referred for cataract surgery were recruited between 2015 and 2019 at an ophthalmology tertiary care center “Chichua Medical Center Mzera” LLC. After signing informed consent patients underwent detailed ophthalmic examination, including autorefractometry, keratometry, visual acuity check, tonometry, slit lamp examination, A-scan or biometry for IOL calculations, Humphrey 24-2 perimetry, optic nerve head (ONH) and retinal evaluation. Subjects with XFS exhibited deposits of exfoliation material on pupillary margin or lens capsule upon slit lamp examination. Subjects with glaucoma had characteristic changes of ONH, including increased vertical cup-to-disc ratio, retinal nerve fiber layer thinning, neuroretinal rim notching or hemorrhages. Patients over age 60 with evident XFS were included into the case group which was further subdivided into XFS only and XFG subgroups. The control group comprised patients over age 60 with no evidence of exfoliations and glaucoma upon clinical examination. Patients having uveitis and either primary open angle or neovascular glaucoma were excluded from the study.

All patients underwent standard blood tests and health evaluation by the general practitioner (GP) before surgery including Complete Blood Counts (CBC), blood glucose levels, infectious diseases, including hepatitis B and C, HIV and RPR. Electrocardiography (ECG) was also performed if needed as determined by the GP.

Non-ocular comorbidities like diabetes, hypertension, ischemic heart disease, myocardial infarction (MI) and stroke were noted.

## **Cataract Surgery**

All patients were scheduled for standard phacoemulsification with IOL implantation. The surgeries were performed by two surgeons of our center (only in cases where genetic study was done). The standard procedure involved the formation of two side-ports and a 2.75 mm main incision, a continuous curvilinear capsulorhexis, phacoemulsification with Infiniti phacomachine (Alcon, USA) with Ozil handpiece, bimanual removal of cortical material, IOL implantation and wound closure with hydration. In cases of very small pupils, iris retractors were used to improve visualization. In cases of capsular instability capsular tension ring (CTR) was implanted to support the lens, capsular hooks were also used when extreme subluxation was observed. In cases of extensive zonular insufficiency, the eye was left aphakic and subsequent IOL implantation with scleral fixation was scheduled. In cases of vitreous herniation, thorough anterior vitrectomy was performed before wound closure.

## **Genetic Study**

All subjects underwent blood sampling preoperatively. We collected 5 ml of peripheral blood and refrigerated in EDTA-coated tubes before use. All samples were sent for genetic studies to the genetic laboratory of Singapore Eye Research Institute. DNA extraction was performed using a DNA extraction kit according to manufacturer's protocol.

Principal-component (PC) analysis was performed to assess

the degree of genetic stratification and population substructure for all samples. PC scores were calculated from a set of unlinked markers. Genetic outliers were excluded from the study. The PC plots were generated using the R statistical software package.

Genome-Wide Association Study (GWAS) was performed using Illumina OmniExpress Microarray. The process involved DNA typing chips containing a microscopic array of tiny beads covered with single-stranded DNA fragments, synthesized to correspond to different SNPs of human genome. The beads were incubated with previously denatured and fragmented DNA from test subjects. After binding of complementary DNA strands, the beads were incubated with labeled nucleotide mixtures and DNA polymerase to elongate synthetic DNA strands. The labeled nucleotides fluoresced with different colors on the beads making them glow differently. The chips were scanned with high-resolution laser making it possible to identify which alleles were present and whether the person was heterozygous or homozygous for the particular SNP. More than 680 000 SNPs were analyzed for association to XFS.

### **Statistical analysis**

Association between SNPs and XFS was tested using logistic regression analysis. SNPs surpassing  $P \leq 5 \times 10^{-8}$  in the GWAS discovery stage were considered associated with XFS. Statistical analysis of our case-control association study was performed using a  $\chi^2$  test (Pearson correction). Relative risk association was estimated by calculating odds ratios (OR) along with 95 % confidence intervals (CIs).  $p < 0.05$  was considered statistically significant. R statistical software version 2.9.0 was used for analysis.

## Results

### XFS Burden in Cataract Surgery

Eight hundred and sixty-three patients with mean age of 74(+3.7) years undergoing cataract surgery by the author during year 2019 were included into the epidemiological study. Three hundred and seventy-one (57%) were female and 492 (43%) were male. Two hundred and seventy patients were diagnosed with XFS, 117 (46.8%) of them were male and 153 (53.2%) were female. Forty individuals had XFG, 22 (55%) were male and 18 (45%) were female. Five hundred and fifty-three patients had no evidence of XFS. Two hundred and ninety-eight (54%) of them were female and 255 (46%) were male (Table 3).

**Table 3.** Demographic characteristics of patients undergoing cataract surgery at Chichua Medical Center Mzera performed by the author.

Groups		Male	Female
<b>Total</b>	863	492 (57 %)	371 (43 %)
<b>XFS</b>	310 (36%)	139 (44.8 %)	171 (55.2 %)
<b>XFS only</b>	270 (87%)	117 (43 %)	153 (57 %)
<b>XFG</b>	40 (13%)	22 (55 %)	18 (45 %)
<b>Controls</b>	553 (64%)	255 (46 %)	298 (54 %)

Table 4 and Figure 2 show the total number of patients in general, having technical issues during phacoemulsification. The most common difficulties were inadequate mydriasis, encountered in

17% of all patients, zonular laxity/dialysis in almost 15%% of cases and either hyper-deep or shallow anterior chamber, complicating cataract surgery in 8 to 9% of cases, respectively. Additional surgical manipulations, like CTR and capsular hook use, were necessary in around 15% of all patients. Anterior vitrectomy was performed in 10 patients.

**Table 4.** Total number of patients having technical difficulties during phacoemulsification.

Difficulty	Number of Patients	% Patients
Small Pupil	151	17
Zonular Laxity/Dialysis	129	14.9
Hyper-deep Anterior Chamber	62	7.2
Shallow Anterior Chamber	80	9.3
CTR	121	14.9
CTR with Capsular Hooks	6	0.7
Anterior Vitrectomy	10	1.2

**Figure 2.** Percentage of all patients having technical difficulties during phacoemulsification.

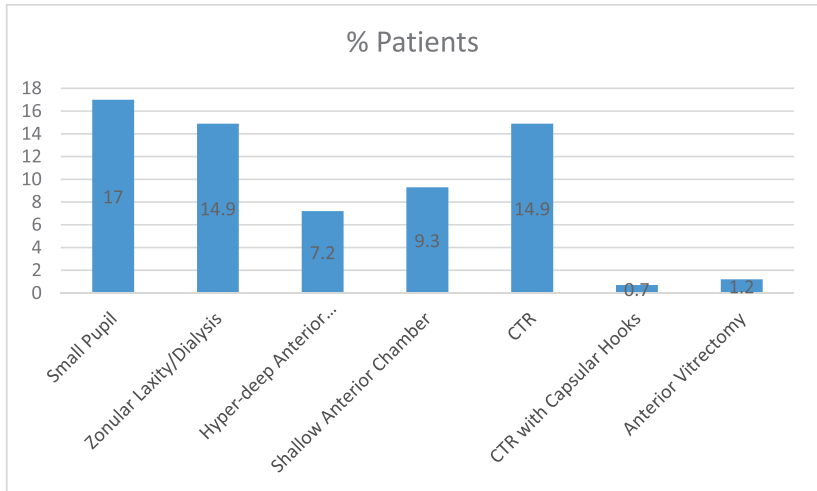


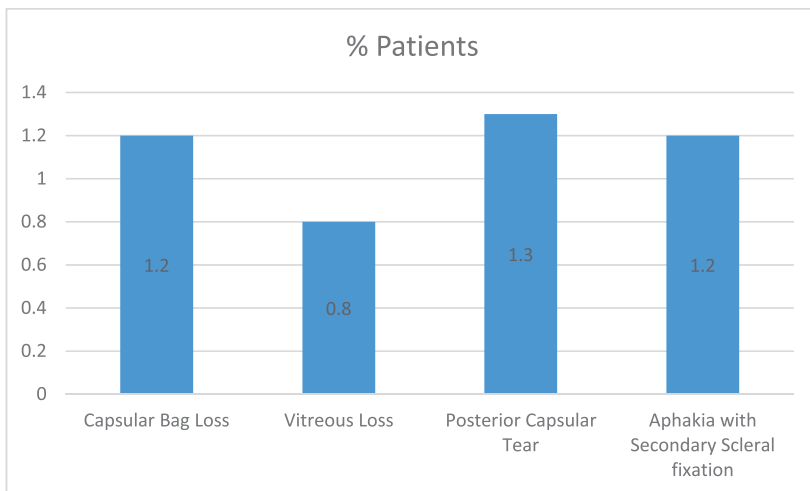
Table 5 and Figure 3 illustrate overall intraoperative complication rate in phacoemulsification. Fortunately, only 1.2% of all patients had unfavorable outcomes needing additional surgery. Capsular bag and vitreous loss, as well as posterior capsular rupture were encountered in around 1% of all patients. Follow-up and evaluation of clinical outcomes was beyond the scope of this work. We only evaluated the technical part of phacoemulsification.



**Table 5.** Total number of patients having intraoperative complications during phacoemulsification.

Complications	Number of Patients	% Patients
Capsular Bag Loss	10	1.2
Vitreous Loss	7	0.8
Posterior Capsular Tear	11	1.3
Aphakia with Secondary Scleral fixation	10	1.2

**Figure 3.** Percentage of all patients having intraoperative complications during phacoemulsification.



The following intraoperative technical difficulties were observed in patients with XFS in contrast to normal controls. Small pupil was seen in 138 (51%) XFS vs 13 (2.3%) normal patients ( $p < 0.05$ , OR 43.4, 95% CI 23.842 to 79.099). Zonular laxity/dial-

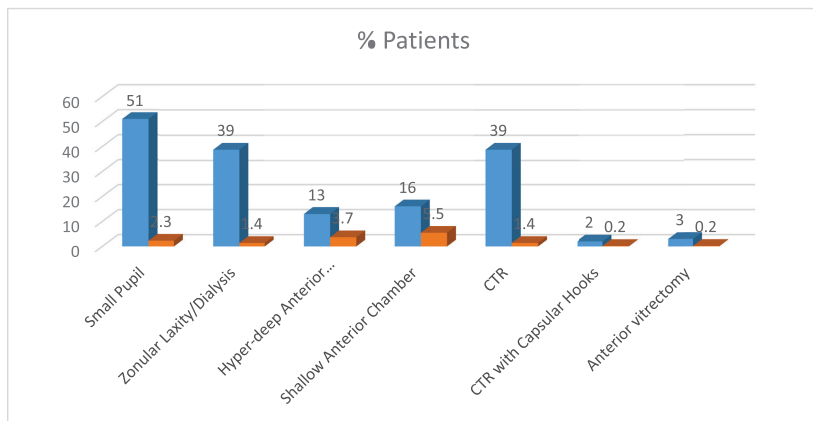
ysis of varying degrees was encountered in 121 patients (39%) in contrast to 8 (1.4%) normal individuals ( $p < 0.05$ , OR 56.1, 95% CI 26.836 to 117.4). This was mostly attributable to previous ocular trauma. Hyper-deep anterior chamber made surgery technically difficult in 41 (13%) XFS patients as opposed to 21 (3.7%) patients without exfoliation material seen in the anterior chamber structures ( $p < 0.05$ , OR 1.29, 95% CI 2.671 to 7.99553). In the latter patients, high myopia was the reason of excessive chamber depth. On the other hand, 49 XFS (16%) patients had shallow anterior chambers in contrast to 31 (5.5%) of normal individuals ( $p < 0.05$ , OR 3.8, 95% CI 2.363 to 6.127).

Depending on the extent of zonular dialysis, either capsular tension rings (CTRs) alone (121 patients, 39%) or CTRs together with capsular hooks (5 patients – 2%) were used to stabilize the XFS lenses during surgery. In normal individuals CTRs were implanted in 8 cases, additional capsular hooks were needed in 1 patient ( $p < 0.05$ , OR 56.1, 95% CI 26.836 to 117.422) and ( $p < 0.05$ , OR 10.6, 95% CI 1.233 to 91.214), respectively. Anterior vitrectomy was performed in 9 vs 1 case (OR 19.3795% CI 2.442 to 153.762). The data are presented in Table 6 and Figure 4.

**Table 6.** Technical difficulties observed during phacoemulsification in XFS vs normal patients.

Difficulty/Complication	Cases	Controls	P value	OR (95% CI)
	N=270 (%)	N=553 (%)		
Small Pupil	138 (51)	13 (2.3)	<0.05	43.4 (23.842 to 79.099)
Zonular Laxity/Dialysis	121 (39)	8 (1.4)	<0.05	56.1 (26.836 to 117.4)
Hyper-deep Anterior Chamber	41 (13)	21 (3.7)	<0.05	1.29 (2.671 to 7.99553)
Shallow Anterior Chamber	49 (16)	31 (5.5)	<0.05	3.8 (2.363 to 6.127)
CTR	121 (39)	8 (1.4)	<0.005	56.1 (26.836 to 117.422)
CTR with Capsular Hooks	5 (2)	1 (0.2)	<0.05	10.6 (1.233 to 91.214)
Anterior vitrectomy	9 (3)	1(0.2)	<0.05	19.37 (2.442 to 153.762)

**Figure 4.** Technical difficulties observed during phacoemulsification in XFS vs normal patients.



Capsular bag was lost in 9 (3%) XFS patients, vitreous loss was also observed in 6 (2%) XFS cases. This is in contrast to one case of traumatic cataract without XFS where both capsular and vitreous loss was observed ( $p < 0.05$ , OR 19.37, 2.442 to 153.762) and ( $p < 0.05$ ,

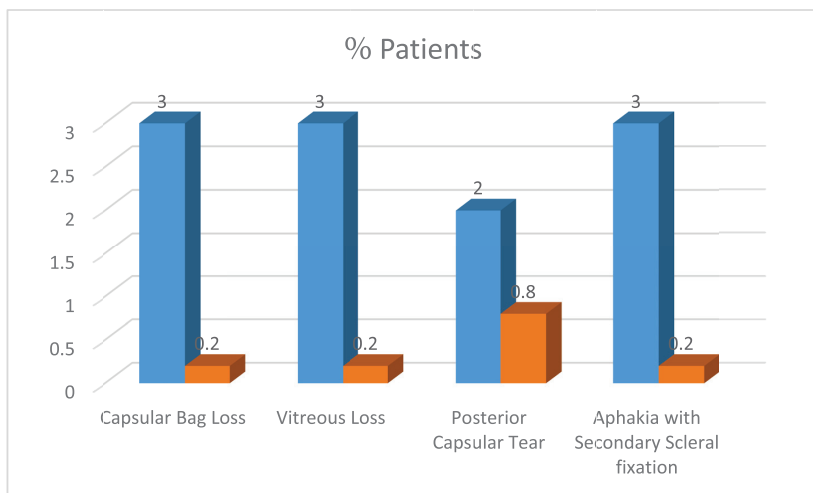
OR 13.8, 95% CI 1.53 to 106.63), respectively. The letter patient was left aphakic and underwent subsequent IOL implantation with scleral fixation. It should be said that all 9 XFS cases had brown subluxated cataracts which is the hardest technical situation in cataract surgery.

Nine XFS patients (3%) vs 1 (0.2%) normal individual ended up aphakic, necessitating secondary IOL implantation with scleral fixation ( $p < 0.05$ , OR 10.6, 95% CI 2.442 to 153.762). Posterior capsular tears were observed comparably in both cases and controls in 6 and 5 patients, respectively. There was no statistically significant difference in both groups. IOLs in all of them were placed into the sulcus, therefore none of those patients needed any additional surgeries. (Figure 5 and Table 7).

**Table 7.** Intraoperative complications observed during phacoemulsification in XFS vs normal patients.

Complication	Cases	Controls	P value	OR (95% CI)
	N=270 (%)	N=553 (%)		
Capsular Bag Loss	9 (3)	1 (0.2)	<0.005	19.37 (2.442 to 153.762)
Vitreous Loss	6 (3)	1(0.2)	<0.005	13.8 (1.53 to 106.63)
Posterior Capsular Tear	6 (2)	5 (0.8)	<b>&gt;0.05</b>	2.5 (0.767 to 8.386)
Aphakia with Secondary Scleral fixation	9 (3)	1 (0.2)	<0.05	19.37 (2.442 to 153.762)

**Figure 5.** Intraoperative complications observed during phacoemulsification in XFS vs normal patients



### **XFS and Systemic Vascular Diseases**

Two hundred and thirty-six patients with XFS were studied for systemic vascular associations of XFS (Table 8). One hundred and eight (46%) of them were male and 128 (54%) were female. Mean age was 76 (+6.1) years. Two hundred and five patients (87%) had XFS only and 31 (13%) patients were diagnosed with XFG. The control group comprised 250 patients without evidence of exfoliation material upon clinical examination. Seventy-six (30%) patients were male and 174 (70%) were female. Mean age was 70 (+5.1).

**Table 8.** Demographic characteristics of XFS patients and controls studied for systemic vascular associations

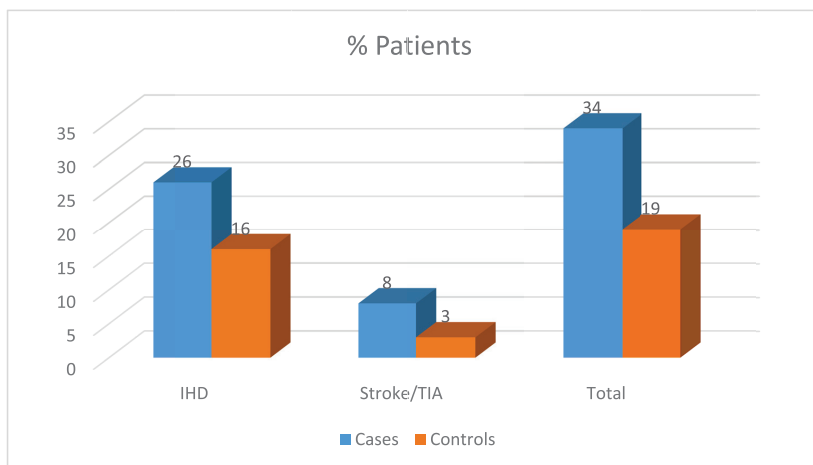
Groups	Total	Male	Female
<b>XFS</b>	236	108 (46 %)	128 (54 %)
<b>XFS only</b>	205 ( 87%)	91 (44 %)	114 (56 %)
<b>XFG</b>	31 (15 %)	17 (55 %)	14 (45 %)
<b>Controls</b>	150	76 (30 %)	174 (70 %)

We did not observe any significant association of XFS with arterial hypertension, though we did see clear correlation with its vascular complications. XFS patients were more prone to develop Ischemic Heart Disease (IHD). Sixty-two XFS patients were diagnosed with IHD vs 41 individuals in control group. The presence of XFS conferred about 80% increased risk of IHD ( $p=0.02$ , OR 1.8; 95% CI: 1.141 to 2.763). The risk of MI was also significantly elevated in patients with XFS with  $p=0.05$ , OR 1.8; 95% CI: 0.99 to 3.604. Significant association of XFS was also observed with Cerebrovascular Disease (CVD) including the history of both strokes and transient ischemic attacks ( $p=0.01$ , OR=3; 95% CI: 1.254 to 7.37). When looking at vascular events in general, we found doubled risk in our XFS patients ( $p=0.0002$  OR=3; 95% CI: 1.454 to 3.327) (Table 9 and Figure 6).

**Table 9.** Vascular comorbidities in cases and controls

	Cases N=236	Controls N=250	P value	OR (95% CI)
IHD	62 (26%)	41 (16%)	0.02	1.8 (1.141 to 2.763)
IHD with MI	27 (11%)	16 (6%)	0.05	1.9 (0.99 to 3.604)
Stroke/TIA	19 (8%)	7 (3%)	0.01	3 (1.254 to 7.37)
Total	81 (34%)	48 (19%)	0.0002	2.2 (1.454 to 3.327)

**Figure 6.** Vascular comorbidities in cases vs controls



## Genetics of Exfoliation Syndrome

One hundred and thirty-two patients with XFS were included in the genetic study (Table 10). Seventy-three patients (56%) were female and 59 patients (44%) were male. Mean age was 73.7 (+ 6.4) years. One hundred and fourteen patients (86%) were diagnosed with XFS only, 18 patients (14%) had XFG. The control group com-

prised 199 patients without any clinical evidence of XFS or XFG. One hundred and thirty control patients (65%) were female and 69 patients (35%) were male. Mean age was 70.8 (+ 7.3) years.

**Table 10.** Demographic characteristics of XFS patients and controls involved in the genetic study

	<b>Total</b>	<b>Male</b>	<b>Female</b>
<b>XFS</b>	132	59 (44 %)	73 (56 %)
<b>XFS only</b>	114 (86%)	49 (43 %)	65 (57 %)
<b>XFG</b>	18 (14 %)	10 (55 %)	8 (45 %)
<b>Controls</b>	199	69 (35 %)	130 (65 %)

We identified three LOXL1 variants in Georgians: rs2165241, rs4886776 (R141L) and rs8042039 (G153D). The former is an intronic, whereas the latter three are exonic variants. The latter two correlate with widely reported rs1048661 and rs3825942, respectively, showing 99% identity. The results are shown in Table 11.

The frequencies of widely reported high-risk allele A of rs2165241 were significantly different when comparing cases and controls and associated with XFS ( $p=0.0001$ ) and they did increase disease susceptibility to approximately 4-fold (OR=3.8; 95% CI 2.6339 to 5.5802). It was present in 83% of affected individuals, almost 70% of them were homozygous, carrying 6-fold increased risk of disease development ( $p=0.0001$ ; OR= 5.7; 95% CI: 1.9518 to 16.5321). Heterozygotes had 4.5-fold increased risk ( $p=0.0001$ ; OR= 4.5; 95% CI: 2.8199 to 7.2454) compared to normal individuals. Interestingly, high-risk allele of rs2165241 was observed in almost 60% of healthy individuals. About a third of them were homozygous.

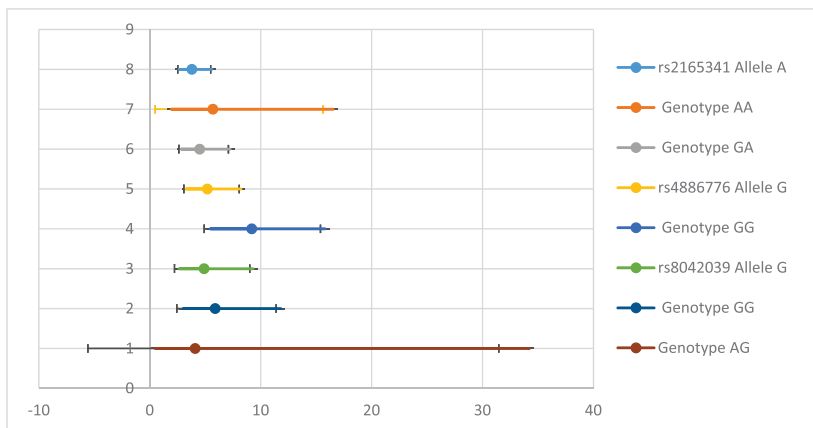
For rs4886776 SNP observed even higher risks associated



with G allele, which was present in 90% of affected individuals. It conferred 5-times increased risk of XFS compared to normal controls ( $p=0.0001$ ,  $OR=5.2$ ; 95% CI 3.2732 to 8.2217). Interestingly, we did not find statistically significant differences with heterozygotes, whereas in homozygotes, the risk was increased up to 10-fold ( $p=0.0001$ ;  $OR=9.2$ ; 95% CI 5.4476 to 15.7981). The G allele was present in two thirds of healthy individuals and half of them were homozygotes.

The same is true for the G allele of rs8042039. It conferred up to 5 times increased risk of XFS as compared to healthy subjects ( $p=0.0001$ ;  $OR=4.9$ ; 95% CI 2.6378 to 9.3135). GA carriers did not show any increased susceptibility, whereas GG carriers did, with  $p=0.0001$ ;  $OR=5.9$ ; 95% CI 3.0168 to 11.8102. The G allele was present in 80% of normal controls, two thirds of them carried GG genotype (Figure 7 and Table 11)

**Figure 7.** LOXL1 in XFS vs healthy subjects.



**Table 11.** Allele and Genotype Frequencies of three LOXL1 variants in XFS and healthy subjects

SNP		Controls (n=199)	%	XFS (n=132)	%	P value	OR (95% CI)
<b>rs2165341</b>							
<b>Allele</b>	A	58.5		82.6		0.0001	3.8 (2.6339 to 5.5802)
	G	41.5		17.4		0.0001	0.2 (0.1387-0.3576)
<b>Genotype</b>	AA	32.2		68.2		0.0001	5.7 (1.9518 to 16.5321)
	GA	52.7		28.8		0.0001	4.5 (2.8199 to 7.2454)
	GG	15.1		3		0.0001	0.2 (0.0313 to 0.2781)
	Total	64/105/30 (AA/GA/GG)		90/38/4 (AA/GA/GG)			
<b>rs4886776</b>							
<b>Allele</b>	G	64.8		90.5		0.0001	5.2 (3.2732 to 8.2217)
	A	35.2		9.5		0.0001	0.2 (0.1216 to 0.3055)
<b>Genotype</b>	GG	32.7		81.8		0.0001	9.2 (5.4476 to 15.7981)
	GA	64.3		17.4		0.19	4.1 (0.4846 to 34.2232)
	AA	3		0.8		0.0001	0.1 (0.0165-1.1782)
	Total	65/128/6 (GG/GA/AA)		108/28/1 (GG/GA/AA)			
<b>rs8042039</b>							
<b>Allele</b>	G	80.9		95.4		0.0001	4.9 (2.6378 to 9.3135)
	A	19.1		4.5		0.0001	0.2 (0.0286 to 2.0209)
<b>Genotype</b>	GG	64.8		91.7		0.0001	5.9 (3.0168 to 11.8102)
	AG	32.2		7.5		0.16	4.1 (0.4846 to 34.2232)
	AA	3		0.8		0.0001	0.2 (0.0233 to 1.6544)
	Total	129/64/6 (GG/GA/AA)		121/10/1 (GG/GA/AA)			

We also identified six genes previously reported in association to XFS: CACNA1A rs4926244, POMP rs7329408, TMEM136 rs11827818, AGPAT1 rs3130283, RBMS3 rs12490863 and SEMA6A rs10072088. The results are shown in Table 3.

Among six genes studied, SEMA6A, POMP and CACNA1A were found to be associated with XFS in our population. Previously reported allele G of SEMA6A did not confer any risk in our patients, by contrary, allele A was associated with the syndrome. Allele frequencies of SEMA6A were significantly different when comparing cases and controls and associated with XFS ( $p=0.001$ ). It did increase disease susceptibility by 80%. It was present in 81% of affected individuals, 65% of them were homozygous. Heterozygotes had almost 2-fold increased risk ( $p=0.001$ ; OR= 1.8; 95% CI: 1.2676 to 2.6973), whereas, homozygotes had the risk of disease development up to 4 times higher ( $p=0.001$ ; OR= 4.0; 95% CI: 1.1531 to 13.9903) than normal individuals. Interestingly, allele A was found in up to 70% of normal individuals and half of them were homozygous.

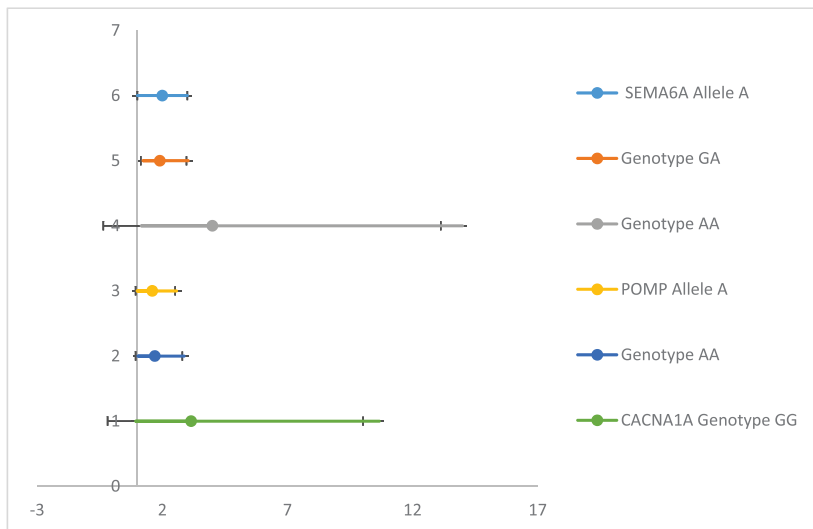
High-risk allele A of POMP was found only in 16% of XFS cases. The likelihood of disease development rose up to 60% in affected individuals ( $p=0.005$ ; OR= 1.6; 95% CI: 0.9931 to 2.5634). Heterozygotes did not show any increased risk of disease development ( $p=0.7$ ; OR= 1.5; 95% CI: 0.0937 to 24.3786) and homozygotes had up to 70% ( $p=0.06$ ; OR= 1.7; 95% CI: 1.0217 to 2.8713) higher risk when compared to individuals who were not carrying a high-risk allele. Normal individuals carried allele A in 10% of cases and only 0.5% of them were homozygous.

We identified allele G of CACNA1A as high-risk. It was present in about 20% of both affected and normal individuals and only the homozygotes carried an increased risk of disease development up to 3 times ( $p=0.05$ ; OR= 3.15; 95% CI: 0.9275 to 10.6658) (Table 12 and Figure 8).

**Table 12.** Allele and Genotype Frequencies of POMP, SEMA6A and CACNA1A variants in XFS and healthy subjects

SNP		Controls (n=199)	%	XFS (n=132)	%	P-value	OR (95% CI)
<b>SEMA6A- rs10072088</b>							
<b>Allele</b>	A	70.4		81.4		0.001	1.8 (1.2676 to 2.6973)
	G	29.7		18.6		0.001	0.5 (0.3299 to 0.8166)
<b>Genotype</b>	GA	42.3		32.5		0.002	1.9 (1.2246 to 3.0316)
	AA	49.2		65.2		0.004	4.0 (1.1531 to 13.9903)
	GG	8.5		2.3		0.004	0.2 (0.0715 to 0.8672)
	Total	98/84/17 (AA/GA/GG)		86/3/43 (AA/GA/GG)			
<b>POMP- rs7329408</b>							
<b>Allele</b>	A	9.8		14.8		0.04	1.6 (0.9931 to 2.5634)
	G	90.2		85.2		0.05	0.6 (0.3901 to 1.0069)
<b>Genotype</b>	AG	18.6		28		0.7	1.5 (0.0937 to 24.3786)
	AA	0.5		0.8		0.05	1.7 (1.0217 to 2.8713)
	GG	80.9		71.2		0.05	0.6 (0.3483 to 0.9788)
	Total	161/37/1 (GG/AG/AA)		94/37/1 (GG/AG/AA)			
<b>CACNA1A- rs4926244</b>							
<b>Allele</b>	G	21.21		18.34		0.4	1.2 (0.8122 to 1.7690)
	A	78.8		81.7		0.4	0.8 (0.5653 to 1.2313)
<b>Genotype</b>	AG	42.3		32.5		0.7	1.08 (0.6801 to 1.7043)
	GG	8.5		2.3		0.05	3.15 (0.9275 to 10.6658)
	AA	49.2		65.2		0.05	0.3 (0.0938 to 1.0782)
	Total	40/84/8 (AG/AA/GG)		65/130/4 (AG/AA/GG)			

**Figure 8.** POMP, SEMA6A and CACNA1A in XFS vs healthy subjects



For the other three genes tested (TMEM136 rs11827818, AGPAT1 rs3130283, RBMS3 rs12490863) we did not observe any statistically significant differences in allele frequencies. Previously reported high-risk alleles were present both in controls and affected individuals in 10-15% of cases respectively and they did not confer any risk of disease development. The results are shown in Table 13.

**Table 13.** Allele and Genotype Frequencies of RBMS3, TMEM136 and AGPAT1 variants in XFS and healthy subjects

SNP		Controls (n=199) %	XFS (n=132) %	<i>P</i> value	OR (95% CI)
RBMS3- rs12490863					
Allele	A	9	10.7	<b>0.5</b>	1.2 (0.6797 to 1.9400)
	G	91	89.3	<b>0.5</b>	0.8 (0.5155 to 1.4712)
Genotype	GA	17.1	19.8	<b>0.5</b>	1.2 (0.6956 to 2.1274)
	AA	0.5	0.8	<b>0.8</b>	1.5 (0.6797 to 1.9400)
	GG	82.4	79.4	<b>0.8</b>	0.7 (0.4701 to 1.4376)
	Total	34/164/61 (GA/GG/AA)	104/26/1 (GA/GG/AA)		
TMEM136- rs11827818					
Allele	G	15.58	15.38	<b>0.9</b>	1.01 (0.6587 to 1.5637)
	A	84.4	84.6	<b>0.9</b>	0.9 (0.6395 to 1.5182)
Genotype	GA	27.1	27.7	<b>0.7</b>	1.004 (0.6175 to 1.6327)
	GG	2	1.5	<b>0.7</b>	1.3 (0.2370 to 7.2730)
	AA	70.9	70.8	<b>0.8</b>	0.7 (0.6125 to 1.6193)
	Total	54/141/4 (GA/GG/AA)	36/92/2 (GA/GG/AA)		
AGPAT1- rs3130283					
Allele	A	6.3	8.3	<b>0.3</b>	1.3 (0.7478 to 2.4600)
	C	93.7	91.7	<b>0.3</b>	0.7 (0.4065 to 1.3372)
Genotype	CA	12.6	16.7	<b>0.3</b>	1.3 (0.7352 to 2.5456)
	CC	87.4	83.3	<b>0.3</b>	0.7 (0.3928 to 1.360)
	AA	0	0		
	Total	54/141/4 (CA/CC/AA)	36/92/2 (CA/CC/AA)		

We then tested our results in a subgroup of exfoliation glaucoma cases. The frequencies of high-risk allele A of LOXL1 rs2165241 were significantly different when comparing cases and controls and associated with XFG ( $p=0.0002$ ) and it did increase disease susceptibility to more than 4-fold ( $OR=4.5$ ; 95% CI 1.7464 to 12.0506). It was present in 83% of affected individuals, almost 70% of them were homozygous and had 5.5-fold increased risk of XFS ( $p=0.0002$ ;  $OR= 5.5$ ; 95% CI: 1.8747 to 16.0444). Heterozygosity conferred 4.5-fold increased risk ( $p=0.0001$ ;  $OR= 4.5$ ; 95% CI: 2.8199 to 7.2454) compared to normal individuals.

For rs4886776 SNP G allele was the high-risk one. It was present in 84% of affected individuals. It conferred 3-times increased risk of XFG compared to normal controls ( $p=0.0001$ ,  $OR=2.9$ ; 95% CI 1.1815 to 7.0891). As with XFS we did not find statistically significant differences with heterozygotes, whereas in homozygotes, the risk of XFG was increased up to 6 times ( $p=0.003$ ;  $OR=5.7$ ; 95% CI 1.9934 to 16.7152).

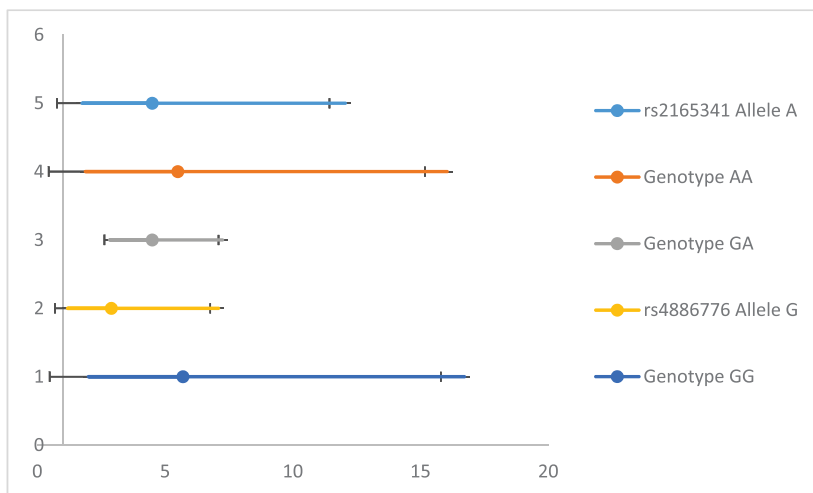
As for rs8042039, G allele was present in all of the affected individuals and all of them were homozygous. Figure 9 and Table 14 show the data.

**Table 14.** Allele and Genotype Frequencies of LOXL1 SNPs in XFG vs healthy subjects

SNP		Controls (n=199)	%	XFG % (n=18)	Pvalue	OR (95% CI)
<b>LOXL1 rs2165341</b>						
<b>Allele</b>	A	58.5		83.3	0.0002	4.5 (1.7464 to 12.0506)
	G	41.5		16.7	0.0002	0.2 (0.0830 to 0.5726)
<b>Genotype</b>	AA	32.2		72.2	0.0002	5.5 (1.8747 to 16.044)
	GA	52.7		22.2	0.0002	4.5 (2.8199 to 7.2454)
	GG	15.1		5.6	0.0002	0.2 (0.0623 to 0.5334)
	Total	64/105/30 (AA/GA/GG)		13/4/1 (AA/GA/GG)		
<b>LOXL1 rs4886776</b>						
<b>Allele</b>	G	64.8		84.2	0.001	2.9 (1.1815 to 7.0891)
	A	35.2		15.8	0.001	0.3 (0.1216 to 0.3055)
<b>Genotype</b>	GG	32.7		73.7	0.003	5.7 (1.9934 to 16.7152)
	GA	64.3		21	0.5	1.8 (0.4846 to 3.2232)
	AA	3		5.3	0.0001	0.1 (0.0185-1.1778)
	Total	65/128/6 (GG/GA/AA)		14/28/1 (GG/GA/AA)		



**Figure 9.** LOXL1 SNPs in XFG vs healthy subjects



Among other six genes studied, only SEMA6A and POMP were associated with XFG in our population. Allele frequencies of SEMA6A were significantly different when comparing cases and controls and associated with XFG ( $p=0.04$ ). High-risk allele A increased disease susceptibility more than 3 times ( $p=0.04$ ; OR= 3.4; 95% CI: 1.2676 to 2.6973). It was present in 86% of our patients, 65% of them were homozygous. Heterozygotes had twice increased risk ( $p=0.002$ ; OR= 1.9; 95% CI: 1.2246 to 3.0316), whereas, homozygotes had the risk of disease development up to 4 times higher ( $p=0.002$ ; OR= 3.6; 95% CI: 1.1474 to 11.3402) compared to controls.

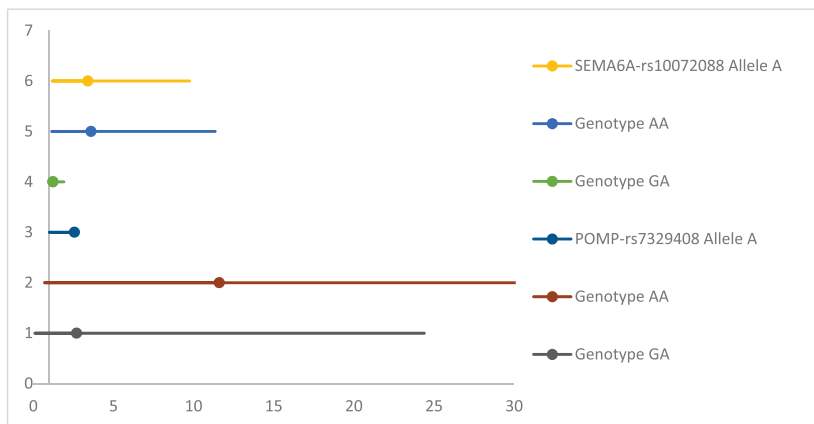
High-risk allele A of POMP was found in 22% of XFG cases. The likelihood of disease development rose up to 3 times in affected individuals ( $p=0.02$ ; OR= 2.7; 95% CI: 0.9931 to 2.5634). Heterozygotes showed 3-fold increased XFG risk ( $p=0.05$ ; OR= 2.7; 95% CI: 0.0937 to 24.3786) and homozygotes had up to 11 times ( $p=0.05$ ;

OR= 11.6; 95% CI: 0.6972 to 194.5768) higher risk when compared to individuals who were not carrying a high-risk allele (Table 15 and Figure 10).

**Table 15.** Allele and Genotype Frequencies of SEMA6A and POMP genes in XFG and healthy subjects

<b>SEMA6A- rs10072088</b>					
Allele	A	70.4	86	0.04	3.4 (1.1663 to 9.7455)
	G	29.7	14	0.04	0.2(0.1026 to 0.8574)
Genotype	AA	49.2	65.2	0.002	3.6 (1.1474 to 11.3402)
	GA	42.3	32.5	0.002	1.9 (1.2246 to 3.0316)
	GG	8.5	2.3	0.004	0.2 (0.0715 to 0.8672)
	GG	8.5	2.3	0.004	0.2 (0.0715 to 0.8672)
	Total	98/84/17 (AA/GA/GG)	14/3/1 (AA/GA/GG)		
<b>POMP- rs7329408</b>					
Allele	A	9.8	22	0.02	2.7 (0.9931 to 2.5634)
	G	90.2	78	0.02	0.4 (0.3901 to 1.0069)
Genotype	AA	0.5	5.6	0.03	11.6 (0.6972 to 194.5768)
	GA	18.6	33.4	0.05	2.7 (0.0937 to 24.3786)
	GG	80.9	61	0.05	0.4 (0.3483 to 0.9788)
	Total	161/37/1 (GG/GA/AA)	11-06-01		

**Figure 10.** SEMA6A and POMP genes in XFG vs healthy subjects



For other genes studied we did not observe any statistically significant differences between normal individuals and unaffected subjects. We also tested the data of XFG patients against XFS individuals but we did not find any gene to increase disease susceptibility. Though the XFG group was quite small and therefore could not reflect the whole picture.

## Discussion

Our study is the first attempt in Georgia characterizing the burden of XFS on cataract surgery. As we could clearly see, one fifth of all our cataract patients had small pupils and varying degrees of zonular laxity, one tenth of them had either deep or shallow anterior chambers, making surgery difficult. Of course, these conditions frequently coexist, further complicating the surgeon's task to safely and effectively perform the procedure.

There are studies characterizing these issues and complications among XFS patients. Scientists report a significant risk of zonular dialysis (OR 6.89), intraoperative miosis (OR 2.15), and lens luxation (OR, 9.49) in patients with XFS. Our study showed even higher risks of these issues. According to Aravind XFS study, these patients are more likely to have a nuclear opalescence grade of more than 4 ( $P = 0.001$ ), and to have a pupil size of less than 6 mm ( $P < 0.001$ ) when compared with controls. The same authors report no statistically significant risk of intraoperative complication rates - 2.9% and 1.9% in the XFS and control groups, respectively ( $P = 0.29$ ), which is also consistent with our results.

There are also studies comparing the rates of posterior capsular tears during phacoemulsification in these two groups. Different studies report up to 6 times increased risks in XFS groups. We did not find any significant association of posterior capsular tears with XFS. In our case the rates did not differ between two groups. The same authors improved outcomes in cases of early IOL implantations before removal of last quadrant of the nucleus, therefore protecting the posterior capsule.

Vitreous loss, one of the most severe complications of cataract surgery is reported in around 4% of surgical patients and this complication is related to XFS in most of them, also very similar to our

findings.

Considering that more than a third of our cataract patients have so many special considerations intra- as well as postoperative-ly, it can be said that XFS definitely is a huge burden for anterior segment surgeons in our country. This fact indicates that surgeon experience is of utmost importance when dealing with XFS cases.

The detection of XFM in several visceral organs, such as lungs, gall bladder, liver, kidney, skin, meninges, heart and blood vessels, has led to hypothesis that XFS can be associated with increased risk of different systemic comorbidities, most importantly vascular ones. Some clinical studies have suggested these associations too, but others have not found any correlations. For example, according to the investigation of Citiric et al., the prevalence of coronary artery disease is significantly higher in patients with XFS than in normal individuals. French et al. showed that the risk of IHD was 70% higher and the risk of MI was almost doubled in XFS patients compared to controls. These results are very consistent with our findings. On the other hand, Tarkkanen et al. also evaluated IHD in glaucoma patients with or without XFS, finding no significant association. No link between XFS and XFG to IHD has been found by the study from Emiroglu et al. It should be noted though, that the age group evaluated by this study was significantly younger than ours, hence the results.

Many studies have also reported the association of XFS with cerebral ischemia. Yuksel et al. showed doubled prevalence of white matter ischemic areas in patients with XFS as well as XFG. Akarsu reported significant reduction of transcranial Doppler parameters in XFS patients, while Rittland showed that XFG patients had significantly higher risk of acute cerebrovascular events as compared to normal controls. These findings are very consistent with ours, reporting tripled risk of stroke/TIA in XFS patients.

The exact underlying pathogenic mechanisms of vascular comorbidities in XFS patients are not known, though several pathways have been suggested. XFM accumulation around endothelial cells may disrupt their normal basement membranes and lead to impairment of their function. On the other hand, these deposits, together with increased concentration of a very powerful vasoconstrictor, endothelin-1, may lead to decreased elasticity of vascular walls and therefore, increased resistance. Increased homocysteine levels, associated with XFS may also play the role in degradation of elastic structures of the vascular walls. Moreover, oxidative stress markers have also shown to be increased in the aqueous humor, as well as in the serum of XFS patients. The imbalance of MMPs and their tissue inhibitors have been revealed by several investigators. All these mechanisms may be associated with vascular comorbidities of XFS and most importantly, may lead to acute vascular events.

In contrast to other clinical studies, we did not observe an association between XFS and arterial hypertension but we did see the correlation with IHD and acute cardiovascular and cerebrovascular events. We did not have the opportunity to thoroughly investigate our cataract patients for other quantitative biochemical risk factors of these events. Therefore, our investigation was only epidemiological, suggesting, that XFS patients need closer attention and monitoring by general practitioners.

The hallmark of XFS is the accumulation of pathological fibrillo-granular material in different structures of the anterior segment of the eye. XFM is produced by many types of cells, such as ciliary epithelial cells, epithelial cells of the lens, trabecular and corneal endothelial cells and all cell types of the iris. Interestingly, it is also produced by extraocular cells, such as fibrocytes, vascular cells, and muscle cells and is deposited in various organs like liver, brain, heart, lungs and skin, hence the association of XFS with sys-

temic disorders, like transient ischemic attacks, stroke, myocardial infarction, atrial fibrillation, inguinal hernias and pelvic organ prolapse.

The fibrils are composed of highly glycosylated proteoglycan/glycoprotein complex which is very resistant to enzymatic cleavage. Its amorphous protein core includes basement membrane components, like laminin and fibronectin, elastic fibers, such as fibrillin-1 and elastin. It also contains enzymatically active components, such as metalloproteinases, the extracellular chaperone clusterin, and the cross-linking enzyme LOXL1. The latter is the key enzyme of elastogenesis and elastic fiber homeostasis. It is an extracellular copper-dependent amine oxidase that catalyses the first step in the formation of crosslinks in collagens and elastins. A highly conserved amino acid sequence at the C-terminus end possesses amine oxidase activity, whereas the N-terminus is poorly conserved and may have additional roles in developmental regulation, senescence, tumor suppression, cell growth control, and chemotaxis to each member of the family. In early stages of the disease, increased synthesis of elastic fiber components coincides with upregulation of LOXL1, which participates in the abnormal cross-linking and misfolding of the newly synthesized extracellular matrix. This ultimately leads to the aggregation and accumulation of extracellular matrix deposits. Interestingly, in advanced stages of the disease, LOXL1 expression is downregulated, possibly by compensatory mechanisms, as the protein accumulates in the extracellular space.

It has been suggested that in XFS LOXL1 itself is misfolded and dysfunctional. Its N-terminus domain exists in a highly disordered state and a substantial amount of it is found to be processed for degradation by autophagy. As shown in multiple studies, LOXL1 gene has several variants which are associated with XFS. The proteins coded by these defective genes have multiple disorder probability

domains which supposedly result in misfolding of the enzyme with alteration of its function and resistance to cleavage.

In general, misfolded, denatured and damaged proteins are degraded by proteasomes and autophagy systems of the cells. If the synthesized protein is defective, the first response is the upregulation of chaperones in attempt to fold the proteins properly. If this mechanism fails, the protein is dislocated to the cytosol, where it undergoes ubiquitination, marking it for degradation by the proteasome. When the proteasome is dysfunctional, the damaged proteins are shuttled out of the cell. This mechanism appears to be protective in short-term, while in long-term, the result is a build-up of dysfunctional materials. If the damaged proteins escape these two lines of defense, they become encapsulated into autophagosomes, eventually to be degraded by lysosomes.

It can be suggested that the combination of a defective synthesis of the LOXL1 protein resulting from LOXL1 gene variants and the inability to degrade LOXL1 containing protein aggregates produces XFM. Studies have demonstrated that XFS cells fail to properly transport lysosomes and autophagosomes to the perinuclear area, where autophagic clearance takes place. Also, it has been shown that the clearance process is very slow in XFS. The fact that LOXL1 is directed to lysosomes, suggests that previous defense lines are defective. This could mean that chaperones fail to refold it and some studies have found clusterin, the mediator of chaperones to be upregulated in XFS. Also, supposedly, proteasomes fail to degrade LOXL1 and here the role of POMP mutation, found in XFS patients, comes into play.

POMP gene encodes proteasome maturation protein, a short-lived maturation factor required for proteasome biogenesis. It recruits newly synthesized subunits of the enzyme and targets them to endoplasmic reticulum for final assembly and maturation.



POMP-mediated mechanisms allow for efficient organization of the assembly process of this complex protein. Genetic defect in POMP protein supposedly, causes alteration of its function and loss of efficiency in proteolytic processes leading to XFM accumulation. Aung et al. recently reported that immunoblot analysis showed significant reduction of POMP protein in the iris and ciliary body specimens, obtained from XFS eyes in comparison to control eyes.

As discussed previously, next step in removing damaged proteins from the cells is autophagy, involving the formation of an isolation membrane around the protein which further forms the double membraned autophagosome, which then fuses with endosomes and lysosomes. The fusion process is mediated by P/Q voltage-dependent calcium channels. These channels consist of several subunits, one of them being a conducting pore forming subunit  $\alpha 1$ , encoded by CACNA1A gene. The studies, including ours, have shown that mutation of this gene is related to XFS susceptibility. The reason for that theoretically could be a decrease in fusion ability and thus in autophagic capacity, leading to XFM accumulation.

Experimental and clinical studies have demonstrated that aberrations in normal proteolytic processes in the cells contribute to the pathogenesis of several neurodegenerative disorders, which are associated with pathologic aggregation of proteinaceous materials and are collectively called aggregopathies. These include Alzheimer's disease, Parkinson's disease and Huntington's disease. These age-related aggregopathies show various degrees of genetic linkage to nonsynonymous single nucleotide polymorphisms, which result in a single amino acid substitution in a coded protein. This does not seem to largely affect protein function but may increase misfolding rates for the polypeptide chains during synthesis.

Previous electron microscopy studies on human XFS eyes showed the presence of high calcium concentration in direct asso-

ciation with aggregating XFS fibrils. It has been demonstrated that calcium plays a role in maturation of a precursor fibrillin and in stabilization of fibrillin molecules and microfibrils. It has also been shown that fibrillin is significantly more susceptible to proteolytic degradation in the absence of calcium. Thus, it can be hypothesized that altered function of a calcium channel could lead to alterations of calcium concentrations that may facilitate the formation and stabilization of XFS aggregates.

In a recent study, the immunofluorescence microscopy analysis showed positive CACNA1A immunoreactivity in the different structures of the human eye. These included ciliary body, iris, anterior lens epithelium, optic nerve glia and vascular endothelial cells. In the retina, strong diffuse CACNA1A staining was seen in the photoreceptor inner segments (IS), inner nuclear layer (INL) and outer nuclear layer (ONL) and nerve fiber layer (NFL). On the other hand, the eyes affected by XFS showed only focal and patchy immunostaining of the IS, ONL, INL and NFL. Interestingly, co-localization of CACNA1A and LOXL1 was observed only in the epithelium of the ciliary processes. The XFM in XFS eyes showed LOXL1 positive staining with negligible CACNA1A immunoreactivity. These findings suggest that these proteins could contribute to disease development in different ways in different sites.

Nowadays, elevated IOP is considered only as a risk factor, not an etiologic one for glaucoma development, as normal tension glaucoma represents about 50% of glaucoma diagnoses. It is well known that optic nerve atrophy still goes on despite lowering IOP. These observations suggest that other reasons of neurodegeneration should be looked for.

In healthy neurons, Ca<sup>2+</sup>-dependent processes influence different cellular functions, like generation and transmission of electrical signals, membrane trafficking, exocytosis and intracellular

respiration. Calcium also activates a cascade of events that result in gene expression and that are essential for dendritic development, neuronal survival, and synaptic plasticity.

Calcium theory of neurodegenerative diseases has recently gained popularity. Defective intra- and extracellular calcium homeostasis, besides defects in autophagy, was observed in neurodegenerative disorders, like Alzheimer's disease, Parkinson's disease and Huntington's disease. Several neurodegenerative diseases have also been linked to mutations of CACNA1A. These include spinocerebellar ataxia type 6, episodic ataxia type 2, and familial hemiplegic migraine with aura and transient hemiplegia. An important mechanism of axonal loss neurodegenerative disorders is increased influx of extracellular  $Ca^{2+}$ , which triggers degradation of cytoskeleton through activation of intracellular enzymes, namely caspases. As mentioned previously, immunohistochemical studies have demonstrated CACNA1A staining in retinal cells, including nerve fiber layer. Theoretically, defective calcium homeostasis, associated with defects in this gene could be one of the factors, associated with neurodegeneration in glaucoma too.

Very interesting findings have recently been published by Shiga et al. Using GWAS they identified new susceptibility loci for Primary Open Angle Glaucoma. Interestingly, seven loci, including LOXL1 were exclusively present in Japanese POAG patients as compared to other multiethnic groups. They excluded XFS from their cases, but found a significant association of LOXL1 rs1048661 with POAG susceptibility. The authors suggested that defects of elastin, a major component of extracellular matrix of the lamina cribrosa, could contribute to its structural deformity. It is well known that RGC axons are most vulnerable as they pass through the lamina cribrosa plates unmyelinated. Therefore, their structural integrity could be compromised, leading to the development of glaucoma.

Our study showed significant susceptibility to XFS and XFG in patients carrying rs2165341, rs4886776 and rs8042039 variants of LOXL1. We also found increased risk of disease development in individuals, carrying CACNA1A rs4926244, POMP rs7329408 and SEMA6A rs10072088 genes. The rest of examined genes did not show any statistical significance when compared with normal controls. The possible ways these defective genes could contribute to XFS are described above.

The limitations of our study included very small group of XFG patients. Another limitation was the lack of long-term follow-up of XFS patients. This means that we do not know if any of these patients would develop XFG with time, therefore comparing a subgroup of XFG patients with XFS only individuals might not give correct results.

## Conclusions

1. The prevalence of XFS is high and affects more than a third of Georgian patients undergoing cataract surgery.
2. XFG is encountered in 4.6% of Georgian patients undergoing cataract surgery.
3. Technical difficulties (small pupil, zonular laxity/dialysis) and complications (capsular bag loss, vitreous loss, aphakia with the need of IOL fixation) are encountered significantly more frequently during phacoemulsification in patients with XFS, necessitating advanced surgical skills. These issues are mainly seen in patients with higher grade cataracts.
4. Our study confirmed the results of other studies, showing the association of XFS with systemic vascular diseases: comorbidity is significantly more prevalent in cataract patients with XFS.
5. Increased risk of XFS is seen in carriers of LOXL1, CACNA1A, POMP, SEMA6A, SNPs, whereas TMEM136, RBMS3 and AGPAT1 SNPs are not associated with increased risk of this condition.
6. Increased risk of XFG is seen in carriers of LOXL1, POMP, SEMA6A SNPs, whereas CACNA1A, TMEM136, RBMS3 and AGPAT1 SNPs are not associated with increased risk of this condition.

## **Practical Recommendations**

1. Given the high prevalence of XFS in Georgian patients, it is very important general ophthalmologists and cataract surgeons to determine adequate timing of phacoemulsification and recommend earlier interventions for safer surgery and better outcomes.
2. Due to the fact that delayed cataract surgery in XFS patients may potentially lead to severe complications, the health care and insurance systems should consider XFS as a relevant factor in determining the timing of intervention.
3. Cataract surgeons dealing with XFS patients are required to have advanced surgical skill in order to safely and effectively perform the procedures.
4. The epidemiology of XFS in our country indicates the need deeper learning of this topic in our residency and CME programs.
5. Given the complex genetic mechanisms of XFS and XFG development, which are not exactly determined to date, frequent IOP monitoring and optic nerve head evaluations should be performed by general ophthalmologists in order to prevent irreversible blindness in these patients.
6. The association of XFS with systemic vascular diseases found in our study, shows the need of early referral to general practitioners for closer monitoring.
7. Our research demonstrates the need of further studies in the field of XFS and systemic vascular diseases and the role of ophthalmologists in disease prevention and treatment.

## List of Publications

9. N.Kobakhidze, G. Chichua, C. Khor, T. Aung - Genetic Markers of Exfoliation Syndrome in Georgian Population - 36th Congress of ESCRS, 10-14 September, 2016, Copenhagen, Denmark - Poster
10. N.Kobakhidze, S. Tabagari, G Chichua - Genetic markers of exfoliation syndrome in Georgian population - 13th International Postgraduate Conference, Hradec Kralove, Czech Republic, Nov 24-25, 2016
11. Aung T, Ozaki M, Lee MC et al. - Genetic association study of exfoliation syndrome identifies a protective rare variant at LOXL1 and five new susceptibility loci. *Nat Genet.* 2017;49(7):993-1004. doi:10.1038/ng.3875
12. N.Kobakhidze, G. Chichua, C. Khor, T. Aung - Genetic Markers of Exfoliation Syndrome in Georgian Population - 36th Congress of ESCRS. 22-26 September, 2018 Vienna Austria - Presented Poster
13. N.Kobakhidze, S. Tabagari, G Chichua - LOXL1 Gene Variants in Association with Exfoliation Syndrome in Georgian Population *Georgian Medical News* , N1 (286) Jan 2019
14. N.Kobakhidze, S. Tabagari, G Chichua - New Genetic Markers Associated with Susceptibility to Exfoliation Syndrome in Georgian Population – *Georgian Medical News* , N9 (294) Sep 2019

