

# Genetyka molekularna zespołu pseudoeksfoliacji

*Molecular genetics of exfoliation syndrome*

**Burcu Kasim, Mehmet Cem Mocan, Murat İrkeç**

Wydział Okulistyki, Szkoła Medyczna Uniwersytetu Hacettepe, Ankara, Turcja  
Department of Ophthalmology, Hacettepe University School of Medicine, Ankara, Turkey

## NAJWAŻNIEJSZE

Liczne badania naukowe wskazują na podłoże genetyczne zespołu PEX, ale dokładna patogenezę choroby pozostaje nieznana. Uważa się, że jest ona zaburzeniem wieloczynnikowym, układowym, u którego podłoża leżą zarówno czynniki genetyczne, jak i środowiskowe.

## HIGHLIGHTS

Numerous scientific studies indicate genetic basis for PEX syndrome, but its exact pathogenesis remains unknown. It is believed that PEX syndrome is a multifactorial systemic disease, in which both genetic and environmental factors play role.

## STRESZCZENIE

Zespół pseudoeksfoliacji to związane z wiekiem zaburzenie macierzy zewnątrzkomórkowej, charakteryzujące się postępującym odkładaniem się nieprawidłowego materiału fibrylarnego w różnych tkankach oka i poza nimi. Dokładna etiopatogeneza choroby pozostaje nieznana, jednak wydaje się, że istnieje kilka czynników genetycznych i środowiskowych w nią zaangażowanych. Niedawno wykazano, że polimorfizmy pojedynczego nukleotydu w obrębie oksydazy lizynowej 1 są silnie powiązane z zespołem pseudoeksfoliacji. Dysregulacja swoistości i aktywności oksydazy lizynowej 1, czyli enzymu odgrywającego rolę w sieciowaniu tropoelastyny i homeostazie elastyny, jest uważana za jeden z czynników rozwoju zespołu pseudoeksfoliacji. Celem niniejszej pracy jest przeanalizowanie najnowszych doniesień dotyczących genetyki wspomnianego procesu chorobowego.

**Słowa kluczowe:** zespół pseudoeksfoliacji, jaskra pseudoeksfolacyjna, genetyka zespołu pseudoeksfoliacji, oksydaza lizynowa 1

## ABSTRACT

Exfoliation syndrome is an age-related disorder of the extracellular matrix, characterized by progressive accumulation of abnormal fibrillar material in several ocular and extraocular tissues. Although the exact etiopathogenesis is still unknown, several genetic and environmental factors appear to be involved in disease pathogenesis. Recently, single nucleotide polymorphisms in lysyl oxidase-like 1 have been found to be strongly associated with exfoliation syndrome. Dysregulation of lysyl oxidase-like 1 specificity and activity, an enzyme with a role in tropoelastin cross-linking and elastin homeostasis is thought to be involved in the development of exfoliation syndrome. This review aims to examine the recent genetic findings in the disease process.

**Key words:** exfoliation syndrome, exfoliation glaucoma, genetics, lysyl oxidase-like 1

## WPROWADZENIE

Zespół pseudoeksfoliacji (PEX) to związane z wiekiem zaburzenie macierzy zewnątrzkomórkowej, po raz pierwszy opisane przez Lindberga w roku 1917, charakteryzujące się postępującym gromadzeniem się patologicznego materiału fibrylarnego w różnych tkankach narządu wzroku i poza nim [1]. Jest to najczęstsza identyfikowalna przyczyna wtórnej jaskry otwartego kąta [2]. W porównaniu z pierwotną jaskrą otwartego kąta (POAG) cechuje się ona gorszym rokowaniem, wyższym ciśnieniem wewnątrzgałkowym, ciężkim uszkodzeniem nerwu wzrokowego w chwili postawienia diagnozy i większą opornością na leczenie zachowawcze [2].

## MOLEKULARNA PATOGENEZA PEX

Mimo że dokładna etiopatogeneza PEX pozostaje nieznaną, wyniki badań histopatologicznych wskazują na nieprawidłową produkcję i nagromadzenie elastycznych mikrofibryli, które odkładają się w macierzy zewnątrzkomórkowej wielu tkanek narządu wzroku i poza nim. Nie jest jasne, czy nagromadzenie to wynika z nadmiernej produkcji, czy z zaburzonej przebudowy, czy też może z połączenia obu tych nieprawidłowości [3].

Badania immunohistochemiczne sugerują, że materiał eksfoliacyjny składa się z glikoprotein i proteoglikanów oraz że zawiera układ elastycznych włókien i komponenty błony podstawnej, takie jak: elastyna, tropoelastyna, fibrylina, amyloid P, witronektyna, białka wiążące utajoną formę transformującego czynnika wzrostu  $\beta$  (LTBP-1, -2) i glikoproteinę towarzyszącą mikrofibrylom (MAGP-1) [3]. Obecnie najbardziej popularne koncepcje patogenetyczne sugerują, że PEX jest indukowaną stresem elastozą, atakującą elementy układu elastycznych włókien macierzy zewnątrzkomórkowej, której towarzyszą markery stresu komórkowego, takie jak stres oksydacyjny i niedotlenienie. Procesom tym towarzyszą obniżone stężenie enzymów przeciwutleniających i podwyższone stężenie markerów stresu oksydacyjnego w cieczy wodnistej oka [3]. Sugeruje się, że stres oksydacyjny i podwyższone stężenia czynników wzrostu, takich jak TGF- $\beta$ 1, wywołują proces włóknienia. Brak równowagi pomiędzy metaloproteinazami macierzy zewnątrzkomórkowej (MMP) a ich inhibitorami tkankowymi (TIMP) skutkuje niewystarczającym rozkładem tego materiału, co z kolei prowadzi do gromadzenia się elastycznych mikrofibryli (EM) w macierzy zewnątrzkomórkowej [3]. Doniesienia wykazują także podwyższone stężenie homocysteiny w cieczy wodnistej pacjentów z PEX, co oznacza, że substancja ta może odgrywać istotną rolę w procesie dysregulacji MMP i TIMP [4]. Kolejnym czynnikiem mogącym przyczynić się do nagromadzenia EM jest obniżone stężenie klasteryny, zewnątrzkomórkowego białka opiekuńczego, które prawdopodobnie ma udział w patogenezie, zapobiegając agregacji nieprawidłowo zwiniętych białek w cieczy wodnistej oka pacjentów z PEX [5].

## INTRODUCTION

Exfoliation syndrome (XFS) is an age-related disorder of the extracellular matrix first described by Lindberg in 1917 and is characterized by progressive accumulation of abnormal fibrillar material in several ocular and extraocular tissues [1]. It is the most common identifiable cause of secondary open angle glaucoma [2]. When compared to primary open angle glaucoma (POAG), it has a more severe prognosis, higher intraocular pressure characteristics, severe optic nerve damage at diagnosis and is more resistant to medical therapy [2].

## MOLECULAR PATHOGENESIS OF XFS

Although the underlying etiopathogenesis of XFS is still unknown, histopathologic evidence points to an abnormal production and accumulation of elastic microfibrils that form fibrillar aggregates in extracellular matrix in many intraocular and extraocular tissues. It is not clear whether this accumulation is a result of excessive production or altered turnover, or both [3].

Immunohistochemical studies have suggested that exfoliation material is composed of a glycoprotein/proteoglycan structure and contains elastic fiber system and basement membrane system components, such as elastin, tropoelastin, fibrillin, amyloid P, vitronectin, latent transforming growth factor- $\beta$  binding proteins (LTBP-1, -2), microfibril associated glycoprotein (MAGP-1) [3]. Currently, the most popular pathogenetic concept suggests that XFS is a stress-induced elastosis involving the elastic fiber system components of EM and the markers of cellular stress such as oxidative stress and hypoxia. This is supported by decreased levels of antioxidative enzymes and increased levels of oxidative stress markers in aqueous humor [3]. It is suggested that increased levels of growth factors, such as TGF- $\beta$ 1, and oxidative stress trigger the fibrotic process. The imbalance between matrix metalloproteinases (MMPs) and their tissue inhibitors (TIMPs) results in insufficient degradation of this material, leading to accumulation of EM in the extracellular matrix [3]. Current evidence also shows the increased levels of homocysteine in the aqueous humor of XFS patients suggesting a potential role of this molecule in the dysregulation of MMP and TIMPs [4]. Another factor contributing to the accumulation of EM is thought to be decreased levels of clusterin (CLU), an extracellular chaperon that is thought to participate in the pathogenesis by preventing the aggregation of misfolded proteins, in the aqueous humor of XFS eyes [5].

## GENETIC ASSOCIATIONS OF EXFOLIATION SYNDROME

Reported studies have shown multiple inheritance patterns for XFS, including autosomal dominant, autosomal recessive, X linked and recently maternal inheritance [6]. It is sug-

## PODŁOŻE GENETYCZNE ZESPOŁU PSEUDOEKSFOLIACJI

Udokumentowane badania wykazały wiele schematów dziedziczenia PEX, w tym: dziedziczenie autosomalne dominujące, autosomalne recesywne, sprzężone z chromosomem X, a ostatnio także dziedziczenie matczyne [6]. Sugeruje się, że cechy kliniczne PEX, takie jak: późny początek choroby, jej wieloukładowy charakter, a także zmniejszona liczba mitochondriów w zajętych tkankach, potwierdzają schemat dziedziczenia matczyne [6]. Niektóre regiony chromosomalne kojarzone są z PEX (2q16, 2q35-36, 3q13-q21, 17p, 18q12.1-21.33), przy czym najsilniejszy związek wykazano dla 18q12.1-21.33 [7]. Udokumentowany związek HLA z PEX także potwierdza teorię o dziedziczeniu genetycznym [6]. Stąd też wydaje się, że PEX ma złożony schemat dziedziczenia, w który zaangażowane są rozmaite czynniki genetyczne i pozagenetyczne.

Wykazano również, że niektóre loci uczestniczą w patogenezie PEX (tab. 1). Geny, które kodują: apolipoproteinę E (APOE), transferazę S-glutationową (GST), klasterynę (CLU), czynnik martwicy guza  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), metaloproteinazy 1 i 3 macierzy zewnątrzkomórkowej (MMP-1, -3), haplogrupy mitochondrialne, białko CNTNAP2, jak również niedawno zidentyfikowaną oksydazę lizynową 1 (LOXL1), mają związek z PEX/XFG [8–14].

Natomiast inne geny, takie jak: fibrylina 1 (FBN-1), białka wiążące utajoną formę transformującego czynnika wzrostu  $\beta$  (LTBP-1,-2), białko towarzyszące mikrofibrylom 2 (MFAP-2), transformujący czynnik wzrostu  $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1) oraz transglutaminaza 2 (TGM2), zostały poddane badaniom, które nie przyniosły rozstrzygających dowodów na to, że odgrywają one istotną rolę w patogenezie PEX [11].

## OKSYDAZA LIZYNOWA 1

W badaniu całego genomu, przeprowadzonym przez Thorleifssona i wsp. [15], wykazano, że trzy polimorfizmy pojedynczego nukleotydu (SNP) mają istotny związek z PEX w genie LOXL1 na chromosomie 15q24.1. Dwa ze zidentyfikowanych SNP: rs1048661 (Arg141Leu, R141L) oraz rs3825942 (Gly153Asp, G153D), zlokalizowano w pierwszym eksonie genu. W doniesieniu Thorleifsson i wsp. [15] wykazali najsilniejszy związek tego fenotypu z intronowym allelem T (SNP rs2165241), ale zależność ta przestała być statystycznie istotna przy jednoczesnym dostosowaniu dla pozostałych dwóch SNP. W tym początkowym badaniu tylko trzy z możliwych czterech haplotypów (G-G, T-G, G-A) wykryto w grupie pacjentów. Wykazano, że haplotyp najwyższego ryzyka (G-G) podnosi ryzyko rozwoju PEX 27-krotnie w porównaniu z haplotypem niskiego ryzyka (G-A). Osoby będące nosicielami dwóch kopii haplotypu G-G narażone są według badaczy na 700-krotnie większe ryzyko rozwoju PEX niż nosiciele haplotypu niskiego ryzyka (G-A). Z uwagi na doniesienie o tym, że 25% ogólnej populacji także jest nosicielami haplotypu wysokiego ryzyka, to ryzyko

gested that the clinical features of XFS, including late age of onset, multisystem involvement and reduced number of mitochondria in affected tissues, support the maternal inheritance pattern [6]. Several chromosomal regions have been associated with XFS (2q16, 2q35-36, 3q13-q21, 17p, 18q12.1-21.33), the most significant association was shown with 18q12.1-21.33 [7]. The reported HLA association with XFS also supports genetic inheritance [6]. Thus, XFS appears to exhibit a complex inheritance pattern with multiple genetic and non-genetic factors.

Several loci have been found to be involved in XFS pathogenesis (Table 1). The genes that code for apolipoprotein E (APOE), glutathione S-transferase (GST), clusterin, tumor necrosis factor  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), matrix metalloproteinases 1 and 3 (MMP-1, -3), mitochondrial haplogroups, contactin-associated protein-like 2 (CNTNAP2) as well as recently identified lysyl oxidase-like 1 (LOXL1) have been found to be associated with XFS/XFG [8–14].

Several other genes like fibrillin-1 (FBN-1), latent transforming growth factor  $\beta$ -binding proteins (LTBP-1, -2), microfibrillar-associated protein 2 (MFAP-2), transforming growth factor  $\beta$ -1 (TGF- $\beta$ 1) and transglutaminase 2 (TGM2) were studied with no conclusive evidence to support their role in the pathogenesis of XFS [11].

## LYSYL OXIDASE-LIKE 1

In a genome wide study by Thorleifsson et al. [15], three SNPs were found to be significantly associated with XFS in LOXL1 gene on chromosome 15q24.1. Two of the identified SNPs, rs1048661 (Arg141Leu, R141L) and rs3825942 (Gly153Asp, G153D), were located in the first exon of the gene. In the original report of Thorleifsson et al. [15], although the most significant association was found between the intronic T allele (SNP rs2165241) with the phenotype, this SNP was found no longer statistically significant after simultaneously adjusting for the other two SNPs. In this initial study, only three of the four possible haplotypes (G-G, T-G, G-A) were found in the patient group. The highest risk haplotype (G-G) was found to increase the risk of developing XFS by 27 times when compared to the low risk haplotype (G-A). Individuals carrying the two copies of G-G haplotype were found to have an increased risk of developing XFS 700 times than the ones carrying the low risk (G-A) haplotype. Due to the finding that 25% of general population was also found to carry the high risk haplotype in the study, the risk of having the disease in subjects with the high-risk haplotype was calculated to be only 2.47 times higher than the general population. In the same study, LOXL1 expression of adipose tissue of the patients, whose genotypes were known for rs1048661 and rs3825942, was evaluated. It was shown that LOXL1 was underexpressed by 7.7% in patients carrying one copy of G allele of rs1048661, whereas no such

TABELA / TABLE 1

| Geny i polimorfizmy powiązane z zespołem ekfoliacji.<br>Genes and polymorphisms associated with exfoliation syndrome. |                    |  |   |  |
|---|--------------------|--|---|--|
| Miejsce / site  | Locus              | Polimorfizmy / polymorphisms   | Populacja / population  | Autorzy / authors  |
| <b>LOXL1</b>  | 15q24.1            | rs2165241 <sup>†</sup><br>rs1048661 <sup>†</sup><br>rs3825942 <sup>†</sup>                           | tabela 2 / Table 2  | tabela 2 / Table 2   |
|   |                    | rs41435250 <sup>†</sup>  | meksykańska (A) / Mexican (A)   | Guadarrama-Vallejo et al. (2013)   |
| <b>CLU</b>  | 8p21               | rs3087554 <sup>†</sup>   | australijska (A) / Australian (A)   | Burdon et al. (2008)   |
|   |                    | rs2279590 <sup>†</sup>   | włoska (NA) / Italian (NA)<br>niemiecka (A) / German (A)  | Krumbiegel et al. (2009)   |
| <b>CNTNAP2</b>  | 7q35               | rs2107856 <sup>†</sup><br>rs2141388 <sup>†</sup>   | włoska (NA) / Italian (NA)<br>niemiecka (A) / German (A)  | Krumbiegel et al. (2011)   |
|   |                    |  | polska (NA) / Polish (NA)<br>japońska (NA) / Japanese (NA)  | Malukiewicz et al. (2012)<br>Shimizu et al. (2012)   |
|   |                    | rs1404699 <sup>†</sup><br>rs7803992 <sup>†</sup>   | japońska (A) / Japanese (A)   | Shimizu et al. (2012)  |
| <b>MMP-1</b><br><b>MMP-3</b>  | 11q22.3<br>11q22.3 | rs1799750 <sup>†</sup><br>rs3025058 <sup>†</sup>   | grecka (A) / Greek (A)<br>grecka (NA) / Greek (NA)  | Tsironi et al. (2009)  |
| <b>TNF-α</b>  | 6p21               | rs1800629 <sup>†</sup>   | turecka (NA) / Turkish (NA)<br>rasy białej (NA) / Caucasians (NA)<br>pakistańska (A) / Pakistani (A)<br>irańska (A) / Iranian (A) | Tekeli et al. (2008)<br>Mossböck et al. (2009)<br>Khan et al. (2009)<br>Razeghinejad et al. (2009) |
| <b>APOE</b>   | 19q13.2            | allel E2   | turecka (A) / Turkish (A)<br>norweska (NA) / Norwegian (NA)<br>włoska (NA) / Italian (NA)<br>niemiecka (NA) / German (NA)         | Yilmaz et al. (2005)<br>Ritland et al. (2007)<br>Krumbiegel et al. (2010)                          |
| <b>GST</b>  | 1p13.3             | T1 i M1  | turecka (NA) / Turkish (NA)<br>saudyjska (A) / Saudi Arabian (A)<br>pakistańska (A) / Pakistani (A)                               | Yilmaz et al. (2005)<br>Abu-Amero et al. (2008)<br>Khan et al. (2010)                              |
| <b>Haplogrupy mitochondrialne / mitochondrial haplogroups</b>   |                    | U (niedostatecznie reprezentowany) / U (underrepresented)  | niemiecka (S) / German (S)<br>saudyjska (NS) / Saudi Arabian (NS)   | Wolf et al. (2010)<br>Abu-Amero et al. (2011)  |
|   |                    | T i L2 (nadmiernie reprezentowane) / T and L2 (overrepresented)                                      | niemiecka (NS) / German (NS)<br>saudyjska (S) / Saudi Arabian (S)   | Wolf et al. (2010)<br>Abu-Amero et al. (2011)  |
| <b>TLR4</b>   | 9q33.1             | rs2149356 <sup>†</sup><br>rs1927914 <sup>†</sup><br>rs1927911 <sup>†</sup><br>rs7037117 <sup>†</sup> | japońska (A) / Japanese (A)   | Takano et al. (2012)   |

LOXL1 – oksydaza lizynowa 1 / lysyl oxidase-like 1; CLU – klasteryna / clusterin; CNTNAP2 – białko oddziałujące z kontaktyną 2 / contactin-associated protein-like 2; MMP-1 – metaloproteinaza macierzy 1 / matrix metalloproteinase 1; MMP-3 – metaloproteinaza macierzy 3 / matrix metalloproteinase 3; TNF-α – czynnik martwicy guza α / tumor necrosis factor α; APOE – apolipoproteina E / apolipoprotein E; GST – transferaza S-glutationowa / glutathione S-transferase; TLR4 – receptor Toll-podobny 4 / Toll-like receptor 4.

<sup>†</sup> Polimorfizm pojedynczego nukleotydu (SNP) / single nucleotide polymorphism (SNP); A – powiązany / associated; NA – niepowiązany / not associated; S – istotny / significant; NS – nieistotny / not significant.

rozwoju choroby u osób z haplotypem wysokiego ryzyka zostało obliczone zaledwie na 2,47 razy wyższe niż w ogólnej populacji. W tym samym badaniu oceniano ekspresję LOXL1 tkanki tłuszczowej pacjentów, których genotypy zawierały polimorfizmy rs1048661 i rs3825942. Wykazano zmniejszoną o 7,7% ekspresję LOXL1 u nosicieli jednej kopii

relationship was found for the SNP rs3825942.

Following the initial report by Thorleifsson et al. [15], LOXL1 SNP associations were evaluated in different geographic locations and their risk modifying effects were confirmed in the United States, Austria, Germany, Italy, India, Australia, Iceland, Finland, Poland, Pakistan, Saudi

allelu G rs1048661, natomiast związku tego nie udokumentowano dla SNP rs3825942.

Po wstępnym raporcie autorstwa Thorleifssona i wsp. [15] zależności LOXL1 SNP zostały przeanalizowane w innych krajach, a ich skutki modyfikujące ryzyko potwierdzono w Stanach Zjednoczonych, Austrii, Niemczech, we Włoszech, w Indiach, Australii, Islandii, Finlandii, Polsce, Pakistanie, Arabii Saudyjskiej i Turcji [13–17]. Jednakże w populacjach chińskiej, japońskiej i koreańskiej, w przeciwieństwie do rezultatów uzyskanych w populacjach rasy białej, allel ryzyka był odwrotny dla SNP rs1048661 (tab. 2) [15].

Arabia and Turkey [13–17]. However, in Chinese, Japanese and Korean populations, in contrast to the results of Caucasian populations, the risk allele was inverse for the rs1048661 SNP (Table 2) [15].

In most of these populations G allele of rs3825942 was found to be the highest risk allele with an average OR of 10.89 [13]. In contrast, the A allele of rs3825942 conferred the greatest risk for XFS in the South African population [16] and G allele of rs3825942 was no longer statistically significant after adjusting for rs1048661 in the Turkish population [17]. These findings contradict the assumption that the G allele of rs3825942 is linked to the development of XFS. For

TABELA / TABLE 2

Podsumowanie częstości występowania allelu LOXL1 dla rs1048661 oraz rs3825942 jako czynników modyfikujących ryzyko rozwoju zespołu pseudoeksfoliacji/jaskry pseudoeksfoliacyjnej w różnych populacjach.

Summary of LOXL1 allele frequencies of rs1048661 and rs3825942 as risk modifying factors for exfoliation syndrome/exfoliation glaucoma reported in various populations.

| Przebadana populacja / studied population            | rs1048661 (R141L)<br>Allel G / G Allele |                           |                            | rs3825942 (G153D)<br>Allel G / G Allele |                           |                            |
|--|---|---------------------------|----------------------------|---|---------------------------|----------------------------|
|  | Nosiciele / case                        | Grupa kontrolna / control | Istotność* / significance* | Nosiciele / case                        | Grupa kontrolna / control | Istotność* / significance* |
| Austria (Mossböck et al.)                            | 0,841                                   | 0,671                     | $2,55 \times 10^{-7}$      | 0,994                                   | 0,817                     | $5,76 \times 10^{-15}$     |
| Chiny / China (Chen et al.)                          | 0,110                                   | 0,480                     | $6,95 \times 10^{-11}$     | 1                                       | 0,900                     | $8,00 \times 10^{-4}$      |
| Chiny / China (Lee et al.)                           | 0,524                                   | 0,444                     | 0,142                      | 0,992                                   | 0,918                     | 0,0018                     |
| Finlandia / Finland (Lemmelä et al.)                 | 0,825                                   | 0,683                     | $2,65 \times 10^{-5}$      | 0,968                                   | 0,823                     | $2,24 \times 10^{-8}$      |
| Niemcy / Germany (Pasutto et al.)                    | 0,918                                   | 0,644                     | $4,32 \times 10^{-16}$     | 0,951                                   | 0,857                     | $1,21 \times 10^{-11}$     |
| Islandia / Iceland (Thorleifsson et al.)             | 0,781                                   | 0,651                     | $1,80 \times 10^{-6}$      | 0,984                                   | 0,847                     | $4,10 \times 10^{-9}$      |
| Włochy / Italy (Pasutto et al.)                      | 0,825                                   | 0,693                     | 0,0009                     | 1                                       | 0,821                     | $1,66 \times 10^{-18}$     |
| Japonia / Japan (Fuse et al.)                        | 0,964                                   | 0,507                     | $7,70 \times 10^{-18}$     | 1                                       | 0,877                     | $4,10 \times 10^{-4}$      |
| Japonia / Japan (Mabuchi et al.)                     | 0,994                                   | 0,550                     | < 0,0001                   | 0,994                                   | 0,853                     | < 0,0001                   |
| Korea (Sagong et al.)                                | 0,070                                   | 0,360                     | $5,74 \times 10^{-12}$     | 0,980                                   | 0,890                     | 0,0003                     |
| Polska / Poland (Malukiewicz et al.)                 | 0,903                                   | 0,800                     | 0,09                       | 1                                       | 0,867                     | 0,005                      |
| Pakistan (Micheal et al.)                            | 0,852                                   | 0,658                     | $1,00 \times 10^{-7}$      | 0,973                                   | 0,839                     | $1,00 \times 10^{-7}$      |
| Arabia Saudyjska / Saudi Arabia (Abu-Amro et al.)    | 0,876                                   | 0,762                     | 0,0056                     | 0,968                                   | 0,817                     | $5,00 \times 10^{-6}$      |
| Afryka Południowa / South Africa (Rautenbach et al.) | 1                                       | 0,883                     | 0,00106                    | 0,140                                   | 0,617                     | 0,00582                    |
| Afryka Południowa / South Africa (Williams et al.)   | 0,990                                   | 0,810                     | $1,70 \times 10^{-5}$      | 0,130                                   | 0,620                     | $5,20 \times 10^{-13}$     |
| Szwecja / Sweden (Thorleifsson et al.)               | 0,934                                   | 0,682                     | $2,70 \times 10^{-7}$      | 0,995                                   | 0,879                     | $9,10 \times 10^{-14}$     |
| Turcja / Turkey (Kasim et al.)                       | 0,875                                   | 0,710                     | $7,08 \times 10^{-7}$      | 1                                       | 0,840                     | $5,8 \times 10^{-16}$      |
| USA / U.S.A. (Aragon-Martin et al.)                  | 0,843                                   | 0,703                     | $7,74 \times 10^{-19}$     | 0,959                                   | 0,798                     | $3,10 \times 10^{-17}$     |

\*wartość p / p value

W większości z nich allel G polimorfizmu rs3825942 okazał się allelem najwyższego ryzyka, przy średnim OR wynoszącym 10,89 [13]. Z kolei w populacji południowoafrykańskiej [16] to allel A polimorfizmu rs3825942 wiązał się z największym ryzykiem rozwoju PEX [16], a allel G rs3825942 nie był statystycznie istotny po dostosowaniu dla rs1048661 w po-

the rs1048661 SNP, the G allele was shown to be the risk allele for developing XFS in most Caucasian studies, whereas in Chinese and Japanese populations either the T allele was found to be the high-risk allele or no association was found. These variants were also found to be common in normal population (57–88% for G allele of rs3825942 and 51–68%

pulacji tureckiej [17]. Doniesienia te stoją w sprzeczności z założeniem, że to allel G polimorfizmu rs3825942 wiąże się z rozwojem PEX. Dla SNP rs1048661 allel G okazał się allelem ryzyka rozwoju PEX w większości badań populacji rasy białej, podczas gdy w populacjach chińskiej i japońskiej wykazano, że allelem najwyższego ryzyka jest allel T, bądź też nie zaobserwowano żadnej zależności. Warianty te okazały się również powszechne w populacji zdrowej (57–88% dla allelu G rs3825942 oraz 51–68% dla allelu G rs1048661). Czułość udokumentowano na poziomie 100% dla rs3825942 oraz 95,7% dla rs1048661, podczas gdy swoistość była bardzo niska dla tych wariantów (3% dla rs3825942 oraz 13% dla rs1048661) [18]. Dane te są cenne, ponieważ za pomocą testu genetycznego można zidentyfikować pacjentów, u których rozwinie się PEX, natomiast nie umożliwi on wykrycia osób, u których choroba się nie rozwinie [18]. Oznacza to, że nie tylko allele LOXL1, ale także inne warianty genetyczne i czynniki środowiskowe odgrywają istotną rolę w patogenezie PEX.

Gen oksydazy lizynowej (LOX) jest istotny dla patogenezy PEX, ponieważ koduje rodzinę enzymów, która katalizuje kowalენტne sieciowanie kolagenu i elastyny w macierzy zewnątrzkomórkowej w mechanizmie oksydacyjnego odaminowania bocznych łańcuchów lizyny i hydroksylizyny [19]. Oksydaza lizynowa 1 (LOXL1) jest członkiem tej rodziny, szczególnie zaangażowanym w sieciowanie tropoelastyny i homeostazę elastyny [19]. LOX i LOXL1 mają podobne struktury eksonowe, złożone z 7 eksonów i różniące się głównie pod względem sekwencji kodowanych przez pierwszy ekson [20]. Pierwszy ekson LOXL1 jest większy niż LOX i koduje fragment N-końcowy, odpowiedzialny za aktywację enzymu, rozpoznanie i wiązanie substratów. Dwa zidentyfikowane w PEX eksonowe polimorfizmy SNP zlokalizowane są w pierwszym eksonie, co prowadzi do wniosku, że warianty ryzyka mogą wpływać na funkcje enzymów. W badaniu przeprowadzonym przez Schlöttera-Schrehardta i wsp. [21] wykazano, że ekspresja LOXL1 spada o 20% u pacjentów z PEX będących nosicielami allelu G polimorfizmu 1048661. Nie wykazano natomiast podobnego skutku dla allelu ryzyka polimorfizmu rs3825942, co sugeruje jednocześnie funkcjonalną rolę wariantu rs3825942.

W początkowych stadiach PEX odnotowuje się wzrost ekspresji LOXL1 o 20% [21], jednak w późniejszych stadiach spada ona o blisko 20%, a w końcowym stadium jaskry jest to spadek rzędu nawet 40% [21]. Zaobserwowano również, że na wspomniane zmiany ekspresji nie mają wpływu warianty rs1048661. Zgromadzone dane sugerują, że LOXL1 może odgrywać rolę w tworzeniu elastycznych fibryli w początkowych stadiach choroby oraz że w późnych stadiach ekspresja LOXL1 spada w odpowiedzi na nagromadzenie białka LOXL1 w przestrzeni zewnątrzkomórkowej. Stąd w późnych stadiach choroby nieprawidłowe stężenie

for G allele of rs1048661). The sensitivities were reported to be 100% for rs3825942 and 95.7% for rs1048661, whereas the specificities were very low for the variants (3% for rs3825942 and 13% for rs1048661) [18]. This data is valuable in that with a genetic test, the patients who will develop XFS can be identified but it is not possible to identify the individuals who will not develop XFS [18]. This means not only the LOXL1 alleles but other genetic variants and environmental factors have a role in the pathogenesis of XFS.

The lysyl oxidase (LOX) gene is relevant to XFS pathogenesis in that it codes for a family of enzymes that catalyzes the covalent cross-linking of collagen and elastin in extracellular matrix by oxidative deamination of lysine and hydroxylysine side chains [19]. Lysyl oxidase-like 1 (LOXL1) is a member of this family that specifically has a role in tropoelastin cross-linking and elastin homeostasis [19]. LOX and LOXL1 have similar exon structures which consist of 7 exons and differ mainly in sequences coded by the first exon [20]. The first exon of LOXL1 is larger than LOX and it encodes the N-terminal which is responsible for enzyme activation, substrate recognition and binding. The two identified exonic SNPs in XFS are located in the first exon which suggests that the risk variants may affect enzyme functions. In a study by Schlötter-Schrehardt et al. [21], LOXL1 expression was decreased by 20% in XFS patients carrying G allele of rs1048661. However, no effect of LOXL1 expression was shown for risk allele of rs3825942, which also suggests the functional role of the rs3825942 variant.

In early stages of XFS, LOXL1 expression is found to be increased by 20% [21]. However, in late stages the expression was decreased by almost 20% and in the end stage glaucomatous patients the decrease was found to be on the order of 40% [21]. It was also found that this change of the expression was not affected by rs1048661 variants. The data suggests that LOXL1 may have a role in formation of elastic fibrils in early stages, and in late stages LOXL1 expression is decreased in response to the accumulation of LOXL1 protein in the extracellular space. Thus, in later stages of the disease, inadequate levels of LOXL1 are thought to disrupt elastin homeostasis. It has been also shown that LOXL1 expression is induced by transforming growth factor  $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1), oxidative stress, UV light and hypoxia, which are thought to be important factors in etiopathogenesis of XFS [22].

Recently, in a study by Guadarrama-Vallejo D et al. [23], the T allele of rs41435250 in LOXL1 gene was found to be a new risk factor for XFS and XFG in Mexican patients, whereas no association was found in previous studies in South African populations. This association was also found to be stronger in patients without TT genotype at rs2165241 which suggests an intragenic epistasis. The

LOXL1 może zaburzać homeostazę elastyny. Wykazano również, że ekspresja LOXL1 jest indukowana przez transformujący czynnik wzrostu  $\beta 1$  (TGF- $\beta 1$ ), stres oksydacyjny, światło UV oraz niedotlenienie, czyli czynniki uważane za istotne w etiopatogenezie PEX [22].

W badaniu Guadarrama-Vallejo i wsp. [23] odkryto niedawno, że allel T polimorfizmu rs41435250 w genie LOXL1 jest nowym czynnikiem ryzyka rozwoju PEX i XFG u pacjentów meksykańskich, podczas gdy nie zidentyfikowano takiej zależności we wcześniej prowadzonych badaniach na populacjach południowoafrykańskich. Ponadto powiązanie to okazało się silniejsze u pacjentów bez genotypu TT w rs2165241, co sugeruje epistazę intragenową. Allel T rs41435250 koduje mutację p.Ala310Ala w N-końcowej domenie genu LOXL1 jak pozostałe dwa SNP eksonowe (rs1048661 oraz rs3825942), ale konieczne są dalsze badania funkcjonalne dotyczące tego nowego polimorfizmu.

W badaniu przeprowadzonym przez Schlöttera-Schrehardta i wsp. [24] wykazano, że ekspresja LOXL1 w blaszce sitowej oka z PEX/XFG ulega regulacji w dół (*downregulation*) w porównaniu z okiem z POAG i grupą kontrolną. Obniżone stężenie LOXL1 w początkowych stadiach XFG, nawet u osób z niskim ciśnieniem śródgałkowym (IOP), sugeruje, że blaszka sitowa pacjentów z XFG jest bardziej wrażliwa na IOP, co prowadzi do większego uszkodzenia niż w POAG przy tym samym zakresie IOP.

## WNIOSKI

Podsumowując, kilka niedawno przeprowadzonych badań wskazuje na podłoże genetyczne PEX, ale dokładna patogeneza choroby pozostaje nieznana. Związek między pewnymi SNP w genie LOXL1 a zespołem pseudoeksfoliacji został wykazany dla różnych populacji, co potwierdza fakt, że LOXL1 odgrywa istotną rolę jako ważny enzym uczestniczący w tworzeniu nieprawidłowych mikrofibrili mających udział w patogenezie PEX. Jednakże różnice alleliczne między populacjami rasy białej a pozostałymi oraz powszechne występowanie powiązanych z chorobą SNP w ogólnej populacji wskazują na to, że istnieją dodatkowe czynniki, inne niż zmiany genetyczne, które prowadzą do fenotypu PEX. Obecnie uważa się, że PEX jest zaburzeniem wieloczynnikowym, układowym, u którego podłoża leżą rozmaite czynniki genetyczne i środowiskowe. Być może w przyszłości lepsze zrozumienie czynników ryzyka tej choroby umożliwi klinicytom szybsze stawianie diagnozy i zapobieżenie progresji jaskry.

T allele of rs41435250 codes for p.Ala310Ala mutation at N-terminal domain of LOXL1 gene as the other two exonic SNPs (rs1048661 and rs3825942), yet functional studies needed for this novel SNP.

In a study by Schlötter-Schrehardt et al. [24], LOXL1 expression in the lamina cribrosa of the eyes with XFS/XFG was found to be downregulated when compared to eyes with POAG and control subjects. Decreased levels of LOXL1 in early stages of XFG, even in those with low IOP levels, suggests that the lamina cribrosa of XFG patients are more sensitive to IOP, leading to more damage compared to POAG in the same IOP range.

## CONCLUSION

In conclusion, several recent studies indicate a genetic basis for XFS, yet the exact pathogenesis of this disease remains unknown. The association between certain LOXL1 SNPs and XFS has been shown in different populations supporting the role of LOXL1 as an important enzyme in the formation of abnormal microfibrils contributing to the pathogenesis of XFS. However, the allelic difference between Caucasians with other populations and the common prevalence of disease associated SNPs among general population indicate that there are additional factors in addition to genetic alterations leading to the XFS phenotype. Currently, XFS is thought to be a multi-factorial, systemic disorder with multiple genetic and environmental factors. In the future, a more comprehensive understanding of the risk factors for the disease may enable clinicians to make earlier diagnosis of this condition and prevent glaucoma progression.

## ADRES DO KORESPONDENCJI CORRESPONDENCE

**Murat İrkeç, MD, Professor of Ophthalmology**

Hacettepe University School of Medicine,

Department of Ophthalmology

Sıhhiye 06100, Ankara, Turkey

phone: +90 312 305 1777

fax: +90 312 309 4101

e-mail: mirkec@hacettepe.edu.tr

## Piśmiennictwo

### References

1. Ritch R, Schlötzer-Schrehardt U. Exfoliation syndrome. *Surv Ophthalmol.* 2001; 45: 265-315.
2. Ritch R, Schlötzer-Schrehardt U, Konstas AG. Why is glaucoma associated with exfoliation syndrome? *Prog Retin Eye Res.* 2003; 22: 253-275.
3. Schlötzer-Schrehardt U, Naumann GO. Ocular and systemic pseudoexfoliation syndrome. *Am J Ophthalmol.* 2006; 141: 921-937.
4. Mossböck G, Weger M, Faschinger C, et al. Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) 677C>T polymorphism and open angle glaucoma. *Mol Vis.* 2006; 12: 356-359.
5. Zenkel M, Kruse FE, Junemann AG, et al. Clusterin deficiency in eyes with pseudoexfoliation syndrome may be implicated in the aggregation and deposition of pseudoexfoliative material. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2006; 47: 1982-1990.
6. Damji KF, Bains HS, Stefansson E, et al. Is pseudoexfoliation syndrome inherited? A review of genetic and nongenetic factors and a new observation. *Ophthalmic Genet.* 1998; 19: 175-185.
7. Lemmelä S, Forsman E, Sistonen P, et al. Genome-wide scan of exfoliation syndrome. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2007; 48: 4136-4142.
8. Krumbiegel M, Pasutto F, Mardin CY, et al. Apolipoprotein E genotypes in pseudoexfoliation syndrome and pseudoexfoliation glaucoma. *J Glaucoma* 2010; 19: 561-565.
9. Wolf C, Gramer E, Muller-Myhsok B, et al. Mitochondrial haplogroup U is associated with a reduced risk to develop exfoliation glaucoma in the German population. *BMC Genet.* 2010; 11: 8.
10. Elhawry E, Kamthan G, Dong CQ, et al. Pseudoexfoliation syndrome, a systemic disorder with ocular manifestations. *Hum Genomics.* 2012; 6: 22.
11. Krumbiegel M, Pasutto F, Mardin CY, et al. Exploring functional candidate genes for genetic association in German patients with pseudoexfoliation syndrome and pseudoexfoliation glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2009; 50: 2796-2801.
12. Schlötzer-Schrehardt U. Genetics and genomics of pseudoexfoliation syndrome/glaucoma. *Middle East Afr J Ophthalmol.* 2011; 18: 30-36.
13. Chen H, Chen LJ, Zhang M, et al. Ethnicity-based subgroup meta-analysis of the association of LOXL1 polymorphisms with glaucoma. *Mol Vis.* 2010; 16: 167-177.
14. Wang L, Fu S, Zhao W, et al. LOXL1 Gene Polymorphism With Exfoliation Syndrome/Exfoliation Glaucoma: A Meta-Analysis. *J Glaucoma* 2014 Oct 9 [epub ahead of print].
15. Thorleifsson G, Magnusson KP, Sulem P, et al. Common sequence variants in the LOXL1 gene confer susceptibility to exfoliation glaucoma. *Science.* 2007; 317: 1397-1400.
16. Williams SE, Whigham BT, Liu Y, et al. Major LOXL1 risk allele is reversed in exfoliation glaucoma in a black South African population. *Mol Vis.* 2010; 16: 705-12.
17. Kasım B, İrkeç M, Alikasıfoğlu M, et al. Association of LOXL1 gene polymorphisms with exfoliation syndrome/glaucoma and primary open angle glaucoma in a Turkish population. *Mol Vis.* 2013; 19: 114-120.
18. Challa P. Genetics of pseudoexfoliation syndrome. *Curr Opin Ophthalmol.* 2009; 20: 88-91.
19. Lucero HA, Kagan HM. Lysyl oxidase: an oxidative enzyme and effector of cell function. *Cell Mol Life Sci.* 2006; 63: 2304-2316.
20. Thomassin L, Werneck CC, Broekelmann TJ, et al. The Pro-regions of lysyl oxidase and lysyl oxidase-like 1 are required for deposition onto elastic fibers. *J Biol Chem.* 2005; 280: 42848-42855.
21. Schlötzer-Schrehardt U, Pasutto F, Sommer P, et al. Genotype-correlated expression of lysyl oxidase-like 1 in ocular tissues of patients with pseudoexfoliation syndrome/glaucoma and normal patients. *Am J Pathol.* 2008; 173: 1724-1735.
22. Zenkel M, Krysta A, Pasutto F, et al. Regulation of lysyl oxidase-like 1 (LOXL1) and elastin-related genes by pathogenic factors associated with pseudoexfoliation syndrome. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2011; 52: 8488-8495.
23. Guadarrama-Vallejo D, Miranda-Duarte A, Zenteno JC. The T allele of lysyl oxidase-like 1 rs41435250 is a novel risk factor for pseudoexfoliation syndrome and pseudoexfoliation glaucoma independently and through intragenic epistatic interaction. *Mol Vis.* 2013; 19: 1937-1944.
24. Schlötzer-Schrehardt U, Hammer CM, Krysta AW, et al. LOXL1 deficiency in the lamina cribrosa as candidate susceptibility factor for a pseudoexfoliation-specific risk of glaucoma. *Ophthalmology.* 2012; 119: 1832-1843.