

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ  
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ «СТАВРОПОЛЬСКИЙ  
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ» МИНИСТЕРСТВА  
ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

*На правах рукописи*



Какулия Дарья Михайловна

**Генный полиморфизм про- и противовоспалительных цитокинов при  
первичной открытоугольной глаукоме**

3.2.7. Иммунология

Диссертация

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

**Научный руководитель:**

доктор медицинских наук, профессор

Барычева Людмила Юрьевна

Ставрополь – 2024

## ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	3
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ. ЗНАЧЕНИЕ ИНТЕРЛЕЙКИНОВ В РАЗВИТИИ И ПРОГРЕССИРОВАНИИ ПЕРВИЧНОЙ ОТКРЫТОУГОЛЬНОЙ ГЛАУКОМЫ.....	11
1.1. Роль иммунных механизмов в патогенезе первичной открытоугольной глаукомы.....	11
1.2. Значение интерлейкинов как биомаркеров-кандидатов у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой.....	20
1.3. Ассоциация полиморфизмов генов интерлейкинов с развитием первичной открытоугольной глаукомы.....	27
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ .....	34
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ. ПРОФИЛЬ ЭКСПРЕССИИ И ГЕННЫЙ ПОЛИМОРФИЗМ ЦИТОКИНОВ ПРИ ПЕРВИЧНОЙ ОТКРЫТОУГОЛЬНОЙ ГЛАУКОМЕ.....	42
3.1. Фактор некроза опухоли альфа и полиморфизм гена <i>ФНО-α</i> (-308 G>A) при первичной открытоугольной глаукоме .....	42
3.2. Интерлейкин-1β и полиморфизм гена <i>ИЛ-1β</i> (-31 T>C) при первичной открытоугольной глаукоме .....	55
3.3. Интерлейкин-10 и полиморфизм гена <i>ИЛ-10</i> (592 C>A) при первичной открытоугольной глаукоме.....	69
3.4. Прогнозирование первичной открытоугольной глаукомы (математическая модель).....	82
ГЛАВА 4. ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	85
ВЫВОДЫ.....	96
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	97
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	98
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	100

## ВВЕДЕНИЕ

### Актуальность темы исследования

Глаукома – прогрессирующее заболевание, в основе которого лежит дегенерация зрительного нерва, приводящая к потере зрения и необратимой слепоте [15, 72, 117, 129]. Глобальная распространенность глаукомы в мире оценивается в 80 миллионов человек с прогнозируемым увеличением числа больных до 112 миллионов к 2040 году [72, 129, 154, 173].

Клинический диагноз первичной открытоугольной глаукомы (далее ПОУГ), как правило, является отсроченным и устанавливается, когда утрачено до 30-40% нейросенсорных клеток [12, 72, 192]. Существует огромная потребность в ранней диагностике и прогнозировании ПОУГ с использованием неинвазивных биомаркеров глаукомы [20, 69, 72].

В современных исследованиях показано, что нейровоспаление является ключевым процессом при глаукоме и краеугольным камнем для ее развития [15, 16, 19, 28, 139, 149, 166, 167, 169, 170, 177, 206]. Реализация воспалительного ответа, обусловленного увеличением внутриглазного давления, сопровождается значительной активацией клеток микроглии, астроцитов и олигодендроцитов, а также гиперпродукцией провоспалительных интерлейкинов, способствующих повреждению зрительного нерва [41, 70, 167, 169, 202, 213]. Установлено, что одним из ведущих факторов хронического дегенеративно-дистрофического воспаления при ПОУГ является нарушение баланса про- и противовоспалительных интерлейкинов [19, 150, 187, 245]. Вместе с тем, представленные в литературе данные, касающиеся цитокинового профиля слезы, нередко противоречивы, отсутствует сопоставление уровней интерлейкинов и инструментальных показателей [75].

В последние годы инициированы исследования, посвященные взаимосвязи развития глаукомы и полиморфизма генов цитокинов [209]. Показано, что генетически детерминированные различия продукции интерлейкинов могут влиять

на предрасположенность к развитию нейровоспаления и способствовать прогрессированию ПОУГ [26, 38, 51].

Поиск полиморфных маркеров генов интерлейкинов позволит расширить представление о течении патологического процесса при первичной открытоугольной глаукоме и возможностях патогенетического лечения заболевания [75], что и определило цель и задачи нашего исследования.

### **Степень разработанности темы исследования**

Высокая реактивность глиальных клеток при глаукоме характеризуется повышенной продукцией провоспалительных интерлейкинов, таких как ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, ИЛ-12, ИЛ-2 и хемокинов, действующих в качестве эффекторов воспалительной нейротоксичности [15, 16, 19, 150, 151, 187, 245].

ФНО- $\alpha$  относится к основным провоспалительным интерлейкинам в глаукомной сетчатке и зрительном нерве, способным напрямую инициировать активацию каспаз и апоптоз клеток нейроглии [41, 146, 213]. Интерлейкин-1 $\beta$  является основным интерлейкином, потенцирующим синтез матриксной металлопротеиназы-9, оксида азота и активных радикалов кислорода [41, 213]. В то время как ИЛ-10 относится к противовоспалительным цитокинам, способным уменьшать секрецию провоспалительных медиаторов и увеличить экспрессию противовоспалительных генов посредством сигнального преобразователя и активатора транскрипции STAT3 [53, 213].

Ранее было показано, что провоспалительные интерлейкины вовлечены в патологию и патофизиологию первичной открытоугольной глаукомы. Установлено увеличение уровня ФНО- $\alpha$  [2, 82, 89, 97], ИЛ-1 $\beta$  [2, 6, 21, 90], и ИЛ-10 в слезной жидкости у пациентов с ПОУГ [82, 91], что не всегда подтверждалось в альтернативных исследованиях [2, 23, 55, 88, 89, 98, 209]. В рамках генной диагностики выявлено, что полиморфизмы генов ФНО- $\alpha$  [59, 61, 190, 196], ИЛ-1 $\beta$  [48, 104, 220], ИЛ-10 [48, 53], были ассоциированы с развитием ПОУГ, в то время как другие авторы не подтвердили значимой связи [229, 246].

Таким образом, полиморфные маркеры отдельных генов цитокинов были идентифицированы в качестве потенциальных биомаркеров-кандидатов при глаукоме, однако их роль для прогноза заболевания и мониторинга терапии в различных этнических группах до конца не установлена.

### Цель и задачи исследования

Прогнозирование первичной открытоугольной глаукомы на основании полиморфизма генов интерлейкинов и содержания ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-10 в слезной жидкости.

Для реализации цели исследования поставлены следующие задачи:

1. Определить содержание интерлейкинов в слезной жидкости (ФНО- $\alpha$  ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-10) у пациентов с развитой, далекозашедшей и терминальной стадиями глаукомы.

2. Установить зависимость течения заболевания и показателей оптической когерентной томографии от уровня интерлейкинов в слезной жидкости (ФНО- $\alpha$  ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-10).

3. Оценить наличие взаимосвязи генов интерлейкинов *ФНО- $\alpha$  G308A*, *ИЛ-1 $\beta$  T31C*, *ИЛ-10 C592A* с развитием глаукомы у пациентов русской национальности, проживающих на Юге России.

4. Выявить молекулярно-генетические маркеры высокого риска развития первичной открытоугольной глаукомы при изучении полиморфных маркеров *ФНО- $\alpha$  G308A*, *ИЛ-1 $\beta$  T31C*, *ИЛ-10 C592A* у пациентов русской национальности Юга России.

5. Изучить характер влияния генного полиморфизма *ФНО- $\alpha$  G308A*, *ИЛ-1 $\beta$  T31C*, *ИЛ-10 C592A* на уровень интерлейкинов (ФНО- $\alpha$  ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-10) в слезной жидкости и показатели оптической когерентной томографии у больных первичной открытоугольной глаукомой.

6. Построить прогностическую модель, позволяющую определить вероятность диагноза первичной открытоугольной глаукомы на основании молекулярно-генетических факторов риска.

### Научная новизна

Впервые у пациентов русской национальности Юга России установлено патогенетическое значение генного полиморфизма *ФНО-α G308A*, *ИЛ-1β T31C*, *ИЛ-10 C592A* для развития первичной открытоугольной глаукомы.

Впервые получены данные о том, что факторами риска развития первичной открытоугольной глаукомы являются мутантные аллели *ФНО-α 308A*, *ИЛ-10 592A*, распространенный аллель – *ИЛ-1β -31T*, а также генотипы *308 G/A*, *308 A/A*, *-31T/T*.

Впервые выявлено, что аллели *ФНО-α 308G*, *ИЛ-10 592C* *ИЛ-1β -31C* и генотипов *ФНО-α 308 G/G*, *ИЛ-10 592 C/C* имеют протективный потенциал и обладание ими существенно уменьшает риск развития первичной открытоугольной глаукомы.

Впервые на кагорте пациентов Ставропольского края установлено увеличение уровней *ФНО-α*, *ИЛ-1β* в слезной жидкости при развитой, длекозашедшей и терминальной стадиях глаукомы, сопровождающееся уменьшением толщины слоя нервных волокон сетчатки. Впервые показано, что высокая продукция *ФНО-α* в слезной жидкости больных с ПОУГ выявляется у резидентов аллеля *ФНО-α 308A*, *ИЛ-10 – ИЛ-10 592A*, *ИЛ-1β – генотипа ИЛ-1β (-31) T/T*. Впервые установлены взаимосвязи между полиморфизмом генов интерлейкинов и морфометрическими показателями диска зрительного нерва у больных с первичной открытоугольной глаукомой. Показано, что наименьшая толщина слоя нервных волокон сетчатки определяется у обладателей аллелей *ФНО-α 308A*, *ИЛ-10 592A* и генотипа *ИЛ-1β -31T/T*, минимальные объем и площадь нейроретинального пояса – резидентов аллеля *ФНО-α 308A*. Впервые предложена прогностическая модель, позволяющую диагностировать первичную открытоугольную глаукому с учетом молекулярно-генетических факторов риска.

## Теоретическая и практическая значимость работы

Изучение полиморфизма генов интерлейкинов *ФНО- $\alpha$  G308A*, *ИЛ-1 $\beta$  T31C*, *ИЛ-10 C592A* имеет существенное значение для развития современных знаний о патоморфологических особенностях нейровоспаления при развитии первичной открытоугольной глаукомы.

Полученные в процессе исследования данные о взаимосвязи между уровнем провоспалительных интерлейкинов (*ФНО- $\alpha$* , *ИЛ-1 $\beta$* ), полиморфизмом генов интерлейкинов и морфометрическими показателями диска зрительного нерва могут использоваться для оценки прогрессирования ПОУГ и в качестве теоретического фундамента для применения генно-инженерной таргетной терапии у пациентов с прогрессирующим течением первичной открытоугольной глаукомы.

Установленные ассоциации между носительством аллелей *ФНО- $\alpha$  308A*, *ИЛ-10 592A*, *ИЛ-1 $\beta$  -31T*, а также генотипов *308 G/A*, *308 A/A*, *-31T/T* и риском развития глаукомы свидетельствуют о необходимости дальнейших исследований в других этнических группах и обширных когортах, что позволит формировать группы высокого риска развития глаукомы с применением тактики превентивного профилактического лечения. Предложенная прогностическая модель позволит оптимизировать диагностику первичной открытоугольной глаукомы на начальных этапах диагностического поиска.

## Методология и методы исследования

Работа выполнена в дизайне продольного когортного одноцентрового исследования с применением офтальмологических, инструментальных, иммуноферментных, молекулярно-генетических и статистических методов.

В качестве объекта исследования были отобраны пациенты с развитой, далекозашедшей и терминальной глаукомой, госпитализированные в офтальмологическое отделение ГБУЗ СК «Ставропольская краевая клиническая больница». Предмет исследования: интерлейкины слезной жидкости (*ФНО- $\alpha$*  *ИЛ-*

1 $\beta$ , ИЛ-10) и генные полиморфизмы про- и противовоспалительных интерлейкинов *ФНО- $\alpha$  G308A*, *ИЛ-1 $\beta$  T31C*, *ИЛ-10 C592A* у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой. Дизайн диссертационного исследования был одобрен Локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО СТГМУ Минздрава России (протокол №81 от 27.03.2019 г.). Клинико-офтальмологическое и инструментальное обследование пациентов с первичной открытоугольной глаукомой осуществлялось на базе офтальмологического отделения ГБУЗ СК «Ставропольская краевая клиническая больница». Определение интерлейкинов *ФНО- $\alpha$*  *ИЛ-1 $\beta$* , *ИЛ-10* методом иммуноферментного анализа и молекулярно-генетические исследования выполнялись в лабораториях Федерального казенного учреждения здравоохранения «Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора».

### **Личный вклад автора**

Автор лично участвовал в выборе направления и темы диссертационного исследования, разработал дизайн исследования, осуществлял отбор пациентов, их клиническое и инструментальное обследование, транспортировку биологических образцов. Диссертантом лично проведен анализ уровня интерлейкинов слезной жидкости и файлов генетических исследований с определением степени патогенности установленных мутаций с последующим обсуждением полученных результатов в научных публикациях и докладах. Автором лично написан и оформлен текст диссертации и автореферата.

### **Положения, выносимые на защиту**

1. Молекулярно-генетическими предикторами развития первичной открытоугольной глаукомы у пациентов русской национальности Юга России являются редкие аллели *ФНО- $\alpha$  308A*, *ИЛ-10 592A*, дикий аллель – *ИЛ-1 $\beta$  -31T*, а также генотипы *ФНО- $\alpha$  308 G/A*, *308 A/A*, *ИЛ-1 $\beta$  -31T/T*.

2. В слезной жидкости пациентов с первичной открытоугольной глаукомой наблюдается увеличение уровней ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$ . Высокая продукция ФНО- $\alpha$  ассоциирована с аллелем гена *ФНО- $\alpha$  308A*, ИЛ-10 – *ИЛ-10 592A*, ИЛ-1 $\beta$  – генотипом *ИЛ-1 $\beta$  -31 T/T*.

3. Морфометрические показатели диска зрительного нерва у больных с первичной открытоугольной глаукомой взаимосвязаны с полиморфизмом генов интерлейкинов. Наименьшая толщина слоя нервных волокон сетчатки ассоциирована с аллелями *ФНО- $\alpha$  308A*, *ИЛ-10 592A* и генотипом *ИЛ-1 $\beta$  -31T/T*, минимальные объем и площадь нейроретинального пояса – аллелем *ФНО- $\alpha$  308A*.

### **Соответствие диссертации паспорту научной специальности**

Результаты выполненного исследования соответствуют пункту 1 паспорта научной специальности 3.2.7. Иммунология – «фундаментальные исследования строения и функционирования иммунной системы, а также пунктам 2 – «изучение механизмов врожденного и адаптивного иммунитета в норме и при патологии» и 6 – «разработка и усовершенствование методов диагностики, лечения и профилактики инфекционных, аллергических и других иммунопатологических процессов».

### **Степень достоверности и апробация результатов**

Достоверность результатов настоящего исследования аргументирована убедительным объемом и репрезентативностью выборки пациентов, страдающих первичной открытоугольной глаукомой, использованием актуальных клинко-офтальмологических и молекулярно-генетических методов. Для оценки статистической значимости полученных данных применялись современные статистические методы. Выводы и практические рекомендации полностью аргументированы полученными результатами. Диссертация апробирована на заседании кафедр иммунологии с курсом ДПО, офтальмологии с курсом ДПО,

неврологии, нейрохирургии и медицинской генетики, гигиены им. Г.А. Гудзовского, патологической физиологии, клинической фармакологии с курсом ДПО Ставропольского государственного медицинского университета (протокол №12 от 26.09.2024 г.). Основные положения диссертации доложены и обсуждены на межвузовском международном конгрессе «Высшая школа: научные исследования» (Москва, 9 июня 2023 г., 23 июня 2023 г.), XXXII международной научно-практической конференции «Академическая наука – проблемы и достижения» (Bengaluru, Karnataka India, 13-14 июня 2023 г.). Результаты исследования внедрены в практику работы офтальмологического отделения ГБУЗ СК «Ставропольская краевая клиническая больница», образовательные программы подготовки кадров циклов повышения квалификации и профессиональной переподготовки на кафедрах иммунологии и офтальмологии с курсом ДПО Ставропольского государственного медицинского университета.

### **Публикации по теме диссертации**

По материалам диссертации опубликовано 9 научных работ, из них 3 опубликованы в журналах, индексируемых в международной базе Scopus, 3 – иные публикации по теме диссертации, 3 – публикации в сборниках материалов международных и всероссийских конференций.

### **Структура и объем диссертации**

Диссертация изложена на 130 страницах печатного текста, включает введение, обзор литературы, материал и методы исследования, результаты и их обсуждение, выводы, практические рекомендации и список литературы. Работа иллюстрирована 19 таблицами и 48 рисунками. Библиографический список содержит 249 источников – 32 отечественных, 217 – зарубежных.

# ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ. ЗНАЧЕНИЕ ИНТЕРЛЕЙКИНОВ В РАЗВИТИИ И ПРОГРЕССИРОВАНИИ ПЕРВИЧНОЙ ОТКРЫТОУГОЛЬНОЙ ГЛАУКОМЫ

## 1.1. Роль иммунных механизмов в патогенезе первичной открытоугольной глаукомы

Глаукома является многофакторным прогрессирующим нейродегенеративным заболеванием и считается наиболее частой причиной необратимой слепоты [129]. По предварительным подсчетам количество людей с глаукомой в мире увеличится с 76,5 млн. в 2020 году до 111,8 млн. в 2040 г., что связано с общим старением населения [129, 154]. Глаукома характеризуется потерей ганглиозных клеток сетчатки (далее ГКС), истончением слоя нервных волокон сетчатки и образованием купола диска зрительного нерва [129]. Ведущими факторами риска глаукомы по современным представлениям считаются возраст, высокое внутриглазное давление (далее ВГД) и генетическая предрасположенность [129, 242].

Первичная открытоугольная глаукома является наиболее распространенной формой глаукомы в западных странах, при этом около 30-40% пациентов европеоидной расы и еще большая часть населения Азии имеют глаукому нормального напряжения [101, 129]. В этиопатогенезе ПОУГ обсуждают механическую и сосудистую теории [129, 177, 186]. В основе механической гипотезы лежит сдавление аксонов зрительного нерва и повреждение решетчатой мембраны склеры [177, 186]. При сосудистой дисрегуляции в результате снижения кровотока и перфузионного давления развивается ишемия диска зрительного нерва, что приводит к его повреждению [112, 129]. В соответствии с сосудистой гипотезой аксоны ГКС испытывают дефицит кислорода и питательных веществ вследствие нарушения локального кровотока, что и способствует их дегенерации [78].

Нестабильный глазной кровоток, обусловленный высоким и/или колеблющимся ВГД в сочетании с сосудистой дисфункцией может привести к повторной гипоперфузии и хроническому окислительному стрессу, являющемуся триггером воспаления [129]. Показано, что гипоксия вызывает митохондриальное повреждение клеток сетчатки, в том числе ГКС и клеток Мюллера, что приводит к аномальному накоплению глутамата, N-метил-D-аспартата (NMDA), повышенному притоку кальция, активации каспаз и гибели ганглиозных клеток сетчатки [129, 225].

У пациентов с высоким внутриглазным давлением поражены как передняя, так и задняя камеры глаза, обширные повреждения обнаруживаются в трабекулярной сети и вдоль центрального зрительного пути [129]. Патогенетические механизмы нейродегенеративного процесса, обусловленного механическим и сосудистым стрессом, включают ишемию/гипоксию [129], митохондриальную дисфункцию, хронический оксидативный стресс [94, 129, 240], эксайтотоксичность [129], метаболический стресс [183], снижение уровня никотинамида [170, 171], и нейровоспаление [129, 145, 170]. Окислительный стресс и митохондриальная дисфункция усиливаются при старении сетчатки и являются главенствующими факторами риска развития глаукомы [94, 129, 201].

Важная патогенетическая составляющая глаукомы – паравоспаление «inflammaging» (инфламэйджинг), обусловленное стареющими клетками [108]. Одной из современных концепций развития глаукомы является нарушение регуляции паравоспаления в стареющей сетчатке и других структурах глаза в ответ на стрессовые стимулы, особенно на хронический окислительный стресс [108, 155]. При секреторном типе воспаления стареющие клетки приобретают способностью синтезировать активные радикалы кислорода, хемокины и цитокины (ИЛ6, ИЛ8, ФНО $\alpha$ , колониестимулирующие факторы, MCP1, CX3CL1), что обусловлено стимуляцией p38 MAPK и NF-kB [74].

Чрезмерное неконтролируемое воспаление с высвобождением цитокинов/хемокинов приводит к необратимому повреждению ганглиозных клеток сетчатки [129, 222]. Паравоспалительные механизмы повреждения реализуются и

в передней камере глаза и могут быть связаны с дисфункцией внеклеточного матрикса и цитоскелета и повышенным сопротивлением оттоку водянистой жидкости, что является основной причиной повышения ВГД при первичной открытоугольной глаукоме [129, 222].

Хроническое субклиническое воспаление на поверхности глаза может быть результатом длительного местного применения антиглаукомных препаратов [129]. Его прогрессирование оказывает негативное влияние на барьерные функции конъюнктивы и роговицы, вызывает дисфункцию трабекулярной сети и активацию иммунокомпетентных клеток [114, 129].

В последние годы появляется все больше данных о том, что нейровоспаление является кардинальным процессом при глаукоме [139, 149, 166, 167, 169, 170, 177, 206]. Глаз является иммунопривилегированным органом, что связано с его анатомическими особенностями – наличием гематофтальмологического барьера, особым типом межклеточных контактов в сетчатке и цилиарном теле, отсутствием лимфатических сосудов [25], а также наличием растворимых факторов во внутриглазной жидкости таких как TFR $\beta$ 2, вазоактивный интестинальный пептид и др. [25].

Выделено несколько феноменов иммунной привилегированности глаза, способствующих эффективному ингибированию Т-цитотоксических реакций: иммунное отклонение, связанное с передней и задней камерами – anterior chamber associated immune deviation (ACAID), PCID (posterior chamber immune deviation), феномен субретинального пространства [25].

Иммунная защита сетчатки осуществляется микроглией, астроцитами, клетками Мюллера, являющихся резидентными клетками врожденного иммунитета [145, 170]. В нормальных условиях клетки врожденного иммунитета активируются умеренно. Для быстрого устранения поврежденных клеток, клеточного детрита и других продуктов окислительного стресса реализуются реакции паравоспаления благодаря распознаванию клеточного «мусора» с помощью скавенджеров или TLR, экспрессируемых на глиальных клетках [128, 129, 145] с последующей их активацией и высвобождением белков системы

комплемента, цитокинов/хемокинов и апоптотических факторов для восстановления гомеостаза ткани сетчатки [128, 129].

Показано, что устойчивые окислительные стимулы на протяжении десятилетий обуславливают гиперсекрецию провоспалительных цитокинов, хронические реакции паравоспаления и нейродегенерацию [128, 129]

На схематическом рисунке показаны: анатомия глаза со слоями сетчатки (рисунок 1 А), умеренная активация клеток врожденного иммунитета с балансом про- и противовоспалительных цитокинов в здоровой сетчатке (рисунок 1 В), а также активированная глия, продуцирующая в условиях повышенного ВГД высокие концентрации провоспалительных цитокинов, обладающих нейротоксичностью по отношению к ГКС и способствующих потере их аксонов (рисунок 1 С) [206].

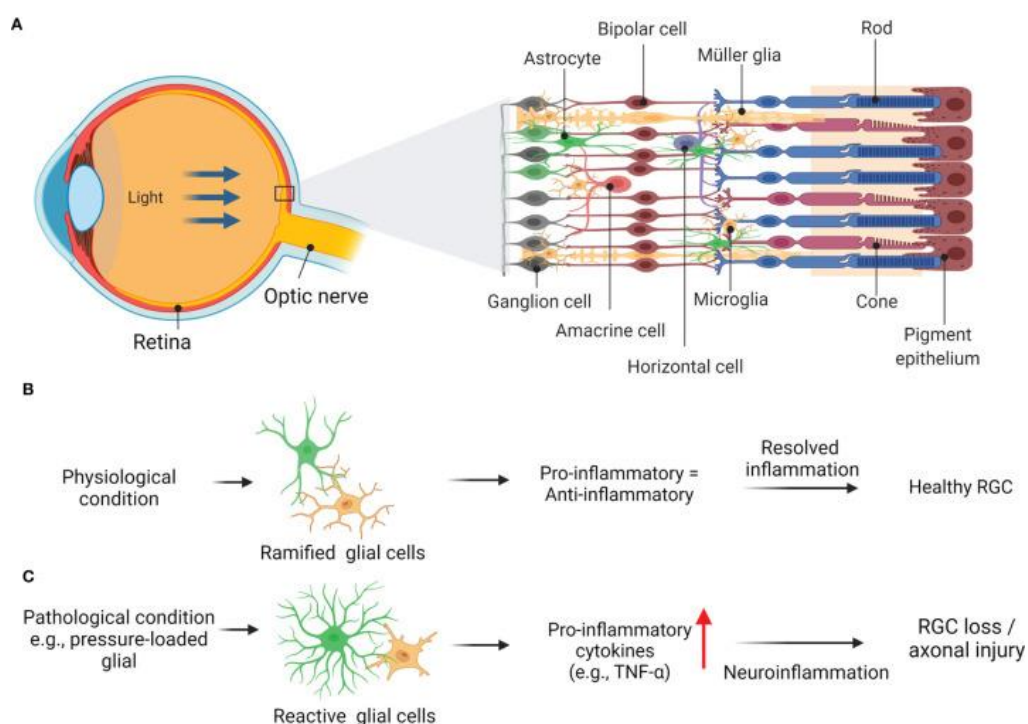


Рисунок 1 – Патогенез первичной открытоугольной глаукомы [206]

Клетки микроглии представляют собой резидентные макрофагоподобные клетки сетчатки, основными функциями которых является фагоцитоз поврежденных клеток и устранение клеточного детрита в слое ганглиозных клеток,

внутреннем и внешнем плексиформе и внутреннем ядерном слое [73, 145]. При активации покоящиеся клетки микроглии становятся амебеоидными, способными пролиферировать, презентировать антигены и продуцировать значительное количество нейродеструктивных молекул, включая активные формы кислорода, цитокины, хемокины, простагландины, оксид азота, глутамат, белки системы комплемента [129]. Вместе с тем они высвобождают многочисленные нейропротективные факторы – нейротрофический фактор головного мозга (BDNF), цилиарный нейротрофический фактор (CNTF), фактор глиальной клеточной линии (GDNF), фактор роста нервов (NGF), нейротрофин (NT3), фактор роста фибробластов (bFGF), способствующих выживанию нейронов [129].

Клетки микроглии являются первыми из тех, что реагируют на повреждение путем индукции воспалительных реакций, в том числе в астроцитах [170]. Исследования на животных свидетельствуют о том, что микроглия существенно увеличивается в объеме и активируется в экспериментальных моделях глаукомы, однако непонятно являются ли эти реакции деструктивными или защитными [139, 170]. Установлено, что подавление микроглии сетчатки и диска зрительного нерва миноциклином на ранних стадиях заболевания может приводить к уменьшению нейродегенерации при глаукоме [139, 159, 170].

Клетки Мюллера являются наиболее распространенными глиальными клетками и охватывают всю толщину сетчатки, отвечая за гомеостатическую и метаболическую поддержку ГКС, включая продукцию АТФ и антиоксидантов, участвуя в метаболизме глюкозы и электролитов [129]. За счет поглощения и деградации глутамата, продукции нейротрофических факторов и глутатиона, эти клетки играют существенную роль в защите нейронов, предотвращая накопление глицина, гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК) и глутамата в сетчатке [176].

В здоровых тканях астроциты занимают дискретные домены, помогают сохранить гомеостатическую среду для нормального функционирования нейронов, имеют решающее значение для передачи сигналов в зрительные структуры мозга [149, 170]. Выстилая поры решетчатой пластинки и кровеносных сосудов, астроциты секретируют молекулы внеклеточного матрикса, регулируют гомеостаз,

поддерживают синапсы, участвуют в нейрогенезе [149, 170]. Астроциты продуцируют про- и противовоспалительные интерлейкины, белки теплового шока (HSP) и нейротрофический фактор головного мозга (BDNF), способствующий регенерации нейронов [66, 129]. При дистрофии зрительного нерва облегчают миелинизацию за счет выведения внеклеточных ионов и нейротрансмиттеров, а также за счет продукции промиелинизирующих факторов [66, 129]. Установлено, что астроциты являются основными продуцентами фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) в ответ на гипоксию, играющего важную роль в васкуляризации сетчатки [66, 129].

Реактивные ответы нейроглии и паравоспаление представляю собой начальную адаптивную реакцию сетчатки на первичные стрессовые стимулы, которые могут стать деструктивными, если стресс сохраняется или повторяется [129, 179]. При экстремальных уровнях активации, в ответ на повреждение, клетки Мюллера и астроциты могут вызывать рубцевание, способствовать нейродегенерации и препятствовать репаративным процессам в ткани сетчатки [129]. Считается, что реактивный астроцитоз от незначительного утолщения отростков астроцитов до тяжелого процесса с формированием глиального рубца, может быть одним из самых ранних проявлений при глаукоме [149, 170].

При анализе моделей глаукомы на животных было показано, что активация и рекрутирование клеток микроглии и астроцитов обнаруживаются на ранней стадии глаукомы, еще до потери ГКС и морфологически обнаруживаемого глаукоматозного повреждения зрительного нерва и сетчатки [93, 202]. Установлено, что пролиферация различных типов иммунных клеток, включая астроциты, клетки микроглии и олигодендроциты активируется повышением ВГД и повреждением зрительного нерва [116]. Кроме того, было показано, что развитие глаукомы у мышей сопровождается инфильтрацией ткани моноцитами и макрофагами [170], а у облученных животных глаукома не развивается [118, 166, 167, 170, 177]. В работе A. Sapienza с соавт. высокое внутриглазное давление стимулировало воспаление сетчатки, астроглиоз, активацию тканевых макрофагов,

микроглиоз, активацию мРНК провоспалительных цитокинов, таких как моноцитарный хемотаксический фактор MCP1/CCL2, IL1 $\beta$ , TNF $\alpha$  [70].

Анализ транскриптома в экспериментальной модели глаукомы свидетельствовал об активации различных воспалительных путей при ранней глаукоме, включая рибосомы, цитокины, каскады активации комплемента. Активировались два сигнальных пути: ядерный фактор (NF)- $\kappa$ B и MyD88-зависимый путь TLR, индуктором которого являются эндогенные лиганды (DAMP) [202]. В эксперименте показано, что экспрессия TNF $\alpha$  и IL1 $\beta$  резко возрастала в ответ на гипоксическое воздействие, а кондиционированная среда, полученная из микроглии в условиях гипоксии, усиливала апоптоз [73].

Известно, что фактор некроз опухолей альфа продуцируется активированными глиальными клетками, включая микроглию, астроциты, клетки Мюллера в ответ на ишемический или окислительный стресс [231], в том числе на фоне высокого внутриглазного давления [87]. Высокий синтез TNF $\alpha$  в компартаментах сетчатки и диска зрительного нерва у больных с глаукомой и, вероятно, играет ключевую роль в развитии глаукомы [100, 231]. Около 2-х десятилетий назад известно, что фактор некроза опухолей альфа принимает участие в апоптозе клеток сетчатки, однако локальная экспрессия его рецепторов и механизмы деструкции по-прежнему не до конца изучены [206, 212]. По данным M. Roh с соавт. повышенное внутриглазное давление в модели глаукомы у крыс сопровождалось увеличением TNF $\alpha$  в течение нескольких дней с последующей дегенерацией аксонов и потерей 38% ганглиозных клеток сетчатки через несколько недель [102].

На сегодняшний день известно, что TNF $\alpha$  снижает выживаемость ГКС различными путями: стимулируя продукцию оксида азота и митохондриальную дисфункцию [73], повышая синтез NMDA в клетках Мюллера [87], активируя молекулы мембранных FasL на микроглиальных клетках сетчатки и макрофагах, инфильтрирующих ткань [36], участвуя в ремоделировании и развитии глаукомы. В то же время подтверждено, что TNF $\alpha$  способствует синтезу нейропротективных факторов в ответ на глаукоматозное повреждение [161].

В соответствии с сегодняшними представлениями, TNF $\alpha$  управляет сложными взаимодействиями между апоптозом и механизмами выживания клеток сетчатки, обусловленными активностью рецепторов – TNFR1 и TNFR2 [207], контролирующей баланс эндогенной активности TNF $\alpha$  в пользу провоспалительных/проапоптотических или нейропротективных/репаративных процессов в ткани сетчатки [168].

Показано, что TNFR1 необходим для индукции провоспалительных ответов, тогда как TNFR2 опосредует миграцию, активацию и пролиферацию клеток [194]. Существует данные о том, что регуляция TNFR2, экспрессируемого на регуляторных клетках (Treg), имеет решающее значение для поддержания толерантности и иммунного гомеостаза [34, 221]. В экспериментальных исследованиях показано, что TNFR1 обнаруживается в эндотелии роговицы, радужной оболочке, цилиарном теле, сосудистой оболочке, оболочке зрительного нерва, витреоретинальном интерфейсе [96, 200, 231, 232].

Исследование культуры клеток сетчатки показало, что большая часть рецепторов TNFR1 обнаруживается в нервных пучках, расположенных в передней области глаукоматозного зрительного нерва, следовательно, ткань нейронов сетчатки является важной мишенью для TNF, который продуцируется глиальными клетками [206, 231]. Рецепторы TNFR2 в физиологических условиях практически не экспрессируются в тканях глаза, однако активируются при воспалительных заболеваниях [206].

Эффекты взаимодействия TNF с TNFR1 и TNFR2 определяются их профилями экспрессии и активацией сигнального пути [42, 195, 206, 231].

TNFR1 включает рецепторы цитоплазматического домена смерти (DD), которые инициируют провоспалительные пути и запрограммированную клеточную смерть (апоптоз и некроптоз) [42]. Аномально высокая продукция TNF и/или экспрессия TNFR1 являются неблагоприятными для выживания ГКС и усугубляют их повреждение [195, 231]. Следует отметить, что активация TNFR1 инициирует несколько путей и механизмов апоптоза, которые способствуют увеличению активных радикалов кислорода, экспрессии белков семейства BCL2,

вызывающих клеточную смерть [241]. Напротив, каскадная последовательность молекулярных событий при активации TNFR2 способствует выживанию нейронов, а дефицит TNFR2 усугубляет нейрональную токсичность [206].

Гистологические исследования образцов тканей от пациентов с глаукомой, взятых во время выполнения трабекулоэктомии свидетельствуют об активации генов в клетках трабекулярной сети, которые могли быть вовлечены в индукцию и прогрессирование глаукомы [129], в том числе генов, ответственных за синтез хемокинов – ELAM1, CXCL6, CCL5 и рецептора IL1.

Установлено увеличение количества дендритных клеток и макрофагов с воспалительным фенотипом клеток, а также Т-лимфоцитов, плазматических клеток, мигрировавших в трабекулярную сеть [184]. Авторы обнаружили высокие уровни экспрессии IL6, IL1 $\beta$ , TNF $\alpha$  в образцах трабекулярной сети пациентов с глаукомой с высоким ВГД, предположив, что их синтез приводит к острой воспалительной реакции и привлечению других иммунокомпетентных клеток в ткань, включая Т-лимфоциты [184].

А. Micera с соавторами показано увеличение продукции большого спектра цитокинов (IL10, IL6, IL7, IL12), а также профиброгенных факторов роста (VEGF, TGF $\beta$ 1) и растворимого рецептора TNFR1 в трабекулярной сети, что свидетельствует об интенсивной воспалительной реакции у пациентов, перенесших трабекулоэктомию [91]. Аномальный иммунный ответ, опосредованный активированными иммунными клетками при ПОУГ сопровождается изменением профиля цитокинов и в передней камере глаза [129].

Увеличение цитокинов, вероятно, является результатом секреции различными резидентными иммунными клетками, локализованными в трабекулярной сети, радужной оболочке и цилиарном теле и/или следствием диффузии из стекловидного тела или поверхности роговицы [129, 227]. Более того, предполагается, что белки, экспрессируемые в передней камере, могут диффундировать в задний сегмент, вызывая активацию глиальных клеток и участвуя в апоптозе ГКС [222]. Пациенты с ПОУГ имеют более высокие уровни

цитокинов (IL6, IL8) и хемокинов (CCL2/MCP1, CXCL1), связанные с повышением внутриглазного давления [109].

В ряде исследований показано увеличение уровня IL8 во внутриглазной жидкости у пациентов с глаукомой [205, 217]. Показатели TNF $\alpha$  были повышенными [235, 236] или не изменялись [165, 205]. Содержание IL2, IL6, напротив, уменьшались [127, 153, 205]. В исследовании J. Chua с соавт. выявлены повышенные показатели IL12, IFN $\gamma$ , IL9. Высокие уровни IL12 и IFN $\gamma$  во внутриглазной жидкости свидетельствуют об активации иммунного ответа Th1-типа, а повышенная экспрессия CCL2/MCP1 – об активации моноцитов/макрофагов [105].

Таким образом, повреждение ганглиозных клеток сетчатки и, в конечном счете, развитие глаукомы предполагает участие различных механизмов, включая барьерную травму, гипоксию-ишемию и воздействие метаболитических токсинов, запускающих воспалительный процесс и вторичную дегенерацию диска зрительного нерва [177].

Повреждение аксонов в результате прямого действия на зрительный нерв является лишь первой стадией патологического процесса при глаукоме, вызывающей потерю ГКС, что сопровождается продукцией провоспалительных цитокинов резидентными клетками врожденной иммунной системой сетчатки [206]. В то время как вторая стадия при глаукоме связана с активированной глией, продуцирующей провоспалительные цитокины, инициирующие апоптоз выживших ганглиозных клеток сетчатки [206].

## **1.2. Значение интерлейкинов как биомаркеров-кандидатов у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой**

На сегодняшний день изучено более 400 биомаркеров заболевания. Однако вопрос о том, являются ли предложенные молекулы-кандидаты причиной или следствием ПОУГ, остается предметом дискуссий [69,72].

Высокая реактивность клеток микроглии у пациентов с ПОУГ сопровождается избыточной продукцией провоспалительных интерлейкинов, в том числе ИЛ6, ИЛ1 $\beta$ , ИЛ12, ИЛ10, ФНО $\alpha$ , что приводит к острой воспалительной реакции, нарушает взаимодействие белков цитоскелета в трабекулярной сети, инициирует процессы ремоделирования [82, 184, 213].

Фактор некроза опухолей представляет собой плеiotропный цитокин, выполняющий роль индуктора в модуляции клеточных событий и иммунной регуляции [233, 241]. Роль TNF $\alpha$  при глаукоме отражена в обзорных публикациях последних лет [80, 170]. Известно, что внутриглазной TNF $\alpha$  синтезируется активированными макрофагами, астроцитами, клетками микроглии и глиальными клетками сетчатки Мюллера под действием высокого давления и ишемии [82, 184, 213], и инициирует клеточный апоптоз, который можно предотвратить с помощью нейтрализующих TNF $\alpha$  - антител [231].

Во многих исследованиях показана взаимосвязь между глаукоматозной нейропатией зрительного нерва и TNF $\alpha$ . Ишемия ткани или ее повреждение усиливают выработку TNF $\alpha$ , что способствует процессу ремоделирования и дегенерации нерва [236]. В экспериментальных моделях на животных повышение TNF $\alpha$  предшествует потере ганглиозных клеток сетчатки, увеличивает восприимчивость аксонов к эксайтотоксичности в головке зрительного нерва и гибели ГКС [237]. Рядом исследователей показано смещение баланса интерлейкинового профиля в пользу воспаления Th1- типа [75, 105, 198].

Ранее сообщалось о повышении уровня TNF $\alpha$  во внутриглазной жидкости, трабекулярной сети, головке зрительного нерва и сетчатке у пациентов с глаукомой [89, 148, 184, 231, 235, 236, 247]. Tezel G. et al. обнаружили, что уровень экспрессии TNF $\alpha$  и его рецептора TNF $\alpha$ R1 были существенно выше во внутренних слоях сетчатки глаукоматозных глаз по сравнению с контролем [231].

Существует мнение, что посттравматическое повышение уровня TNF $\alpha$  предсказывает неблагоприятные исходы. Высокие концентрации TNF $\alpha$  во время модификации и повреждения нейронов свидетельствуют о том, что дефекты поля зрения, вероятно, будут увеличиваться [236]. Возможна корреляция между уровнем

внутриглазного давления и уровнем TNF $\alpha$ . В исследовании Sawada H. et al., показано, что пациенты с ПОУГ чаще имеют обнаруживаемые уровни TNF $\alpha$  в водянистой влаге, а повышение внутриглазной экспрессии TNF $\alpha$  может быть причиной повреждения нервов [236].

Показатели фактора некроза опухолей увеличивались в водянистой влаге глаукоматозных больных [132, 214, 235, 236] и зависели от уровня внутриглазного давления [208, 212, 244] и степени повреждения зрительного нерва [216, 244]. Показано, что у больных с глаукомой определяются более высокие показатели TNF $\alpha$  в водянистой влаге, чем у пациентов со старческой катарактой [113, 148].

В работе J.C. Ten Berge с соавт. у большинства пациентов определялись нормальные показатели TNF $\alpha$  в водянистой влаге, при этом отмечены высокие уровни IL8 [140]. Установлено, что экспрессия TNF $\alpha$  зависела от возраста пациентов [140] и объема местной гипотензивной терапии [187]

В исследовании I. Chono с соавт. значения TNF $\alpha$  в водянистой влаге наряду с показателями IL2, IL10, IL12, IL17 коррелировали с полями зрения [123]. По данным метаанализа, обобщившим четыре исследования у пациентов с ПОУГ, установлены более высокие показатели TNF $\alpha$  по сравнению с контролем ( $p=0,0001$ ), при этом три из этих исследований проведены в Юго-Восточной Азии [196].

Однако в ряде исследований не получено статистически значимых различий TNF $\alpha$  в водянистой влаге у пациентов с ПОУГ по сравнению со здоровыми людьми [105, 107, 153, 165, 199, 205].

Хорошо известно, что получение водянистой влаги является инвазивной процедурой и сопряжено с осложнениями. Более доступным методом потенциального скрининга при ПОУГ является исследование сыворотки крови и слезной жидкости [81, 82].

В отдельных работах показана взаимосвязь между сывороточным уровнем TNF $\alpha$ , риском развития и прогрессирования глаукомы у пациентов различных расовых и этнических групп [55, 99, 103, 131].

По данным М. В. Oliveira с соавт. IL1 $\alpha$  и TNF $\alpha$  были повышены в плазме крови у пациентов с ПОУГ, при этом показатели внутриглазной жидкости не отличались от контрольных значений [131]. По мнению авторов, такой профиль цитокинов может создавать аномальную воспалительную среду, которая способствует прогрессированию глаукомы [131].

В одной из недавних публикаций значительное повышение TNF $\alpha$  в плазме крови получено у жителей Саудовской Аравии [55], что не всегда подтверждалось в альтернативных исследованиях и может быть связано с иммуногенетическими особенностями популяции, модифицирующими факторами, различиями в окружающей среде или другими факторами [103].

Более высокие уровни экспрессии TNF $\alpha$  в плазме у пациентов с ПОУГ по сравнению со здоровыми людьми получены в исследовании Alapati Т. с соавторами, однако различия не были статистически значимы [103]. В исследовании S. K. Pulukool установлены повышенные уровни TNF $\alpha$ , IF $\gamma$ , IL17A, TGF $\beta$  в плазме крови пациентов с ПОУГ [97].

Анализ экспрессии генов продемонстрировал изменения в передаче сигналов цитокинов, которые включают пути, активируемые TNF $\alpha$ , IF $\gamma$ , TGF $\beta$ , что соответствовало представленным ранее данным о преобладании Th1-ответа при ПОУГ [75, 105, 198, 227]. В исследовании Y. Tang с соавт. продемонстрированы потенциальные возможности использования TNF в качестве биомаркера ПОУГ как в водянистой влаге, так и в сыворотке крови с высокой корреляцией с клиническими показателями у пациента [156].

Поскольку протеомика слезы позволяет неинвазивно исследовать уровни белка в слезной жидкости, она становится все более популярным подходом в клинической диагностике различных форм глаукомы и изучении патофизиологических механизмов в развитии и прогрессировании ПОУГ [81, 82, 86, 144].

В работе Csósz É. с соавт. проведено определение 27 цитокинов и хемокинов в парных образцах слезы и водянистой влаги при ПОУГ методом Luminex [82]. Обнаружены значительно более высокие уровни цитокинов в слезе по сравнению

с водянистой влагой, что позволяет рекомендовать ее исследование для оценки воспалительных реакций при ПОУГ [82].

При изучении цитокинов слезной пленки (IL10, IL13, IL4, IL2, IL8, IL6, TNF $\alpha$ , IL1 $\beta$ , IFN $\gamma$ ) у пациентов с недавно диагностированной ПОУГ, ранее не получавших глазные капли, статистически значимых отличий от здоровых пациентов не установлено, выявлено умеренное снижение IL12p70 [88]. Авторами отмечено, что профили цитокинов слезной пленки могут быть использованы в качестве биомаркеров ПОУГ.

В работе Benítez-Del-Castillo J. et al. показано снижение IL4, увеличение TNF $\alpha$  и фактора роста эндотелия сосудов, при ПОУГ по сравнению с пациентами с синдромом сухого глаза, что свидетельствовало об участии различных сигнальных путей в патогенезе этих офтальмологических процессов [89].

Более высокие показатели цитокинов IL2, IL5, IL10, IL12, IL13, IL15, IL17, TNF $\alpha$  определялись в слезах пациентов с ПОУГ, получавших местные препараты, содержащие консерванты [209, 210]. Существует мнение, что TNF $\alpha$  может играть роль в повреждении ганглиозных клеток сетчатки, а не в повышении сопротивления оттоку жидкости при ПОУГ [205].

На сегодняшний день опубликованы единичные исследования эффективности генноинженерных биологических препаратов, блокирующих TNF $\alpha$  у пациентов с ПОУГ после хирургического лечения [35, 79]. Показана терапевтическая эффективность препаратов, направленных на TNF/TNFR, позволивших предотвратить развитие глаукомы на ранней стадии [206].

Интерлейкин 1 $\beta$  (IL1 $\beta$ ) является ключевым медиатором воспалительного процесса и стимулирует экспрессию других цитокинов, металлопротеиназ и молекул адгезии [124]. Известно, что IL1 $\beta$  играет существенную роль в развитии воспаления, участвуя в привлечении макрофагов, активации провоспалительного цитокина IL6 и усилении экспрессии хемокинов [157], что в конечном итоге приводит к прогрессирующей гибели фоторецепторных клеток [138].

Высокая активность, миграция и рекрутирование резидентной микроглии при глаукоме способствуют прогрессирующей дегенерации ганглиозных клеток и фоторецепторов сетчатки [223, 248].

В экспериментальных моделях на животных показано, что увеличение продукции IL1 $\beta$  было связано с чрезмерным воспалением и апоптозом ГКС [124, 158, 203]. Установлено, что ингибирование IL1 $\beta$  с помощью блокирующих антител способно уменьшать дегенерацию сетчатки в результате снижения активности иммунных клеток и продукции хемокинов, что в конечном итоге замедляет гибель фоторецепторных клеток [157].

Существуют данные о дозозависимом эффекте IL1 $\beta$ , при этом низкие дозы обеспечивают защиту сетчатки [203]. В то время как высокие дозы формируют дополнительный праймирующий сигнал для усиления экспрессии медиаторов воспаления, закрепляя гибель фоторецепторных клеток и ГКС [203].

Выявлено, что у пациентов с ПОУГ значительно повышено содержание IL1 $\beta$  в водянистой влаге [43], увеличена экспрессия матричной РНК IL1 $\beta$ , что подтверждает вовлеченность IL1 $\beta$  в иммунопатологию глаукомы [39]. В то время как другие авторы не обнаружили существенных различий [105, 205].

По данным А. Wörkenstein средние уровни IL6 во внутриглазной жидкости у больных с ПОУГ были существенно выше, чем в контроле. Достоверной разницы в содержании IL1 $\beta$  между больными ПОУГ и контрольной группой обнаружено не было [153].

В исследовании Y. Takai с соавт. выявлено увеличение TGF $\beta$ 1, IL8 и SAA в образцах водянистой влаги у пациентов с ПОУГ по сравнению с катарактой, показатели IL1 $\beta$ , MIF, VEGF, TNF $\alpha$  статистически значимых отличий не имели [205]. При этом обнаружена положительная корреляция между значениями IL1 $\beta$  и TNF $\alpha$  [205].

По данным М. В. Oliveira концентрация IL1 $\beta$  была повышена в плазме пациентов с открытоугольной глаукомой, однако эти различия не сохранялись при исследовании внутриглазной жидкости [98]. Исследования IL1 $\beta$  в слезной жидкости единичны. В работе J. Benitez-Del-Castillo с соавт. показатели IL1 $\beta$  и IL10

в слезной жидкости у больных с ПОУГ не отличались от здоровых людей, установлено увеличение уровня IL6 [89]. Однако экспрессия IL1 $\beta$  была существенно выше у тех пациентов, которые получали глазные капли для снижения ВГД, содержащие консерванты [90, 178].

В ряде исследований концентрации IL1 $\beta$ , TNF $\alpha$  при ПОУГе пределов обнаружения [153]. В работе Н. М. Агаркова с соавт. показано, что развитие глаукомы характеризуется увеличением провоспалительных интерлейкинов в слезной жидкости (IL1 $\beta$ , IL4, IL2, IL6, IL7, IL8, IL17, IL18), снижением – противовоспалительных (IL10). Предложенная регрессионная модель позволяет прогнозировать развитие глаукомы на основании увеличения IL2, IL8, IL17 [2, 6].

Интерлейкин 10 – многофункциональный цитокин, играющий ключевую роль в иммунорегулирующих и противовоспалительных реакциях. Фундаментальные исследования последних лет свидетельствуют о важной роли IL10 в развитии воспалительных заболеваний глаз [125, 197]. Вместе с тем, увеличение IL10 инициирует развитие фиброзных процессов путем подавления Th1-реакций и уменьшения синтеза TNF $\alpha$ , IL1, IL6, IL8, IL12, MIP1 $\alpha$ , MIP2 $\alpha$ , матриксных металлопротеиназ [19, 126].

Несколько исследовательских групп проанализировали показатели IL10 у пациентов с ПОУГ. В. Burgos-Blasco с соавт. отмечено увеличение IL10 в слезной и внутриглазной жидкостях, однако различия не были достоверными [209]. При этом зарегистрировано увеличение IL4, IL12, IL15, FGF $\beta$  и VEGF в слезной и IL5, IL12, IL15, IF $\gamma$  – во внутриглазной жидкости [209].

По данным J. Chua с соавт. в группе ПОУГ увеличено содержание IL12, IF $\gamma$ , IL10 и CXCL9 [105]. Уровни IL1 $\beta$ , TNF $\alpha$  были повышены, однако статистически значимых различий по сравнению с контролем не определялось. Достоверной корреляции между уровнем цитокинов водянистой влаги и уровнем внутриглазного давления, а также длительностью глаукомы получено не было [105].

В исследовании A. Micera, L. Quaranta, G. Esposito с соавт. показано увеличение экспрессии интерлейкинов IL10, IL6, IL7, IL12p40/70, VCAM1, MIP1,

TNF, а также маркеров Th2-воспаления (IL2, IL3, IL4, IL5) и ремоделирования тканей (MMP2, VEGF, TGF $\beta$ 1 в трабекулярной сети [91], что согласуется с предыдущими исследованиями сыворотки крови, внутриглазной и слезной жидкости [67, 71].

Высокая экспрессия ИЛ6, ИЛ10 в трабекулярной сети при глаукоме коррелирует с повышенными уровнями этих интерлейкинов в сыворотке крови и водянистой влаги у глаукоматозных пациентов, что подтверждает возможность использования ИЛ10 и ИЛ6, как потенциальных биомаркеров прогноза заболевания и/или терапии [130]. Показатели ИЛ10 в слезной и внутриглазной жидкостях не различались у пациентов с открытоугольной и псевдоэкссфолиативной глаукомой [187].

Таким образом, анализ интерлейкинов слезной жидкости демонстрирует уникальный профиль воспалительной реакции при развитии глаукомы, что позволяет использовать их определение в качестве биомаркеров ПОУГ [209].

Вместе с тем уровни цитокинов, полученные в различных исследованиях, могут быть трудны для сравнения из-за вариабельности стадий заболевания у анализируемых групп пациентов, различий консервативного фармакологического лечения и аналитических тестов для определения цитокинов [164, 210].

### **1.3. Ассоциация полиморфизмов генов интерлейкинов с развитием первичной открытоугольной глаукомы**

Патогенез первичной открытоугольной глаукомы генетически гетерогенен и чрезвычайно сложен [80, 92, 124, 129, 162, 170, 206]. Одиночные нуклеотидные полиморфизмы (далее SNP) являются одним из наиболее распространенных типов генетической изменчивости среди людей [50]. В современных исследованиях определены генетические локусы, предрасполагающие к развитию первичной открытоугольной глаукомы [58]. Однако основные гены, обуславливающие высокую предрасположенность к ПОУГ, до настоящего времени не установлены [58].

О роли гена TNF при различных формах ПОУГ свидетельствуют публикации из разных стран [60, 181, 193, 196, 246]. Ген *TNF $\alpha$*  локализован в высокополиморфной области III класса главного комплекса гистосовместимости на хромосоме 6p21.3 [120]. На сегодняшний день известно несколько функциональных полиморфизмов в промоторной части гена *TNF $\alpha$* , которые связаны с риском развития первичной открытоугольной глаукомы [59, 61, 62, 190].

Полиморфизм в положении rs1800629 (-308 G/A) характеризуется заменой аллеля G на A, что увеличивает транскрипцию гена в 6-7 раз [84].

В исследовании В. J. Fan изучены полиморфизмы в 10 генах, в том числе *CDH1* (кадгерин-1), *CDKN1A* (ингибитор циклинзависимой киназы 1A), *CYP1B1* (цитохром P450, семейство 1, подсемейство B, полипептид 1), *GSTM1* (глутатион-S-трансфераза), *MTHFR* (5,10-метилентетрагидрофолатредуктаза), *NOS3* (синтаза оксида азота 3), *OPA1* (белок OPA1), *TNF* (фактор некроза опухолей), *T353* (белок опухоли p53) [58].

Выявлена значительная связь SNP *TNF $\alpha$*  (-308 G>A; rs1800629) с развитием первичной открытоугольной глаукомы,  $p=0,012$ . Частота аллеля G была выше, чем в контроле (94,6% против 90,3%, ОШ=1,89).

Известно, что TNF являются важным медиатором, участвующим в процессе апоптоза. Повышенный уровень экспрессии TNF при глаукоме был продемонстрирован как в экспериментальных моделях [62], так и в клинических исследованиях внутриглазной слезной жидкости [62], сыворотки крови [62]. Установлено, что TNF непосредственно участвует в апоптозе ганглиозных клеток сетчатки [62]. Ранее сообщалось, что полиморфизмы гена *TNF* ассоциируется с развитием ПОУГ в китайской популяции [62]. Частота аллеля A промотора SNP rs1800629 (-308 G>A) была выше у пациентов с ПОУГ, чем в контроле (42,5% против 21,4%; ОШ=2,72, 95% ДИ 1,66-4,45) [62, 190].

Аналогичные закономерности получены в иранской популяции с более высокой частотой аллеля A rs1800629 (-308 G>A) у пациентов с глаукомой по сравнению с контрольной группой (9,3% против 2,5%; ОШ=3,99; ДИ 1,71-9,33) [190]. Исследования, проведенные в Японии, не выявили статистически значимой

связи между промоторными SNP *TNF* (-308 G>A, -875C>T, -863C>A) и риском развития ПОУГ [239]. В европеоидной популяции из южной Австрии также не получено закономерностей развития глаукомы у носителей SNP *TNF* (-308 G>A, -238G>A) [230].

В метаанализе X. Xin с соавт., включившем 14 исследований (1182 пациента с глаукомой и 3003 здоровых людей) были проанализированы полиморфизмы *TNF*-308 G/A, -857 C/T, -863C/A, -238G/A и их роль в развитии ПОУГ [196]. Объединенные результаты показали, что полиморфными маркерами развития глаукомы высокого давления являются только SNP (-308 G>A). Риск развития ПОУГ возрастал у пациентов носителей аллеля A по сравнению с G (ОШ=1,660, 95% ДИ=1,033-2,667) и генотипов AA/AG по сравнению с GG (ОШ=1,949, 95% ДИ=1,140-3,332).

В метаанализе Q. Q. Yu с соавт. исследовали связь между полиморфизмами *TNF* – 308 G/A, -238G/A, -863C/A и -857C/T и риском развития различных фенотипов глаукомы [246]. В работу вошли 8 исследований (1199 пациентов с глаукомой и 1189 здоровых пациентов). Установлено, что полиморфизмы *TNF*-308 G/A в отличие от -238G/A, -863C/A и -857C/T в значительной степени связаны с первичной открытоугольной глаукомой высокого давления [59, 63, 246]. При этом стратифицированный по этническому признаку анализ показал, что значительная связь прослеживается преимущественно у азиатов [246].

Результаты альтернативных исследований подтверждали, что TNF $\alpha$  и TNFR1 активируются после экспериментального повышения ВГД, что свидетельствует о прямой связи между TNF $\alpha$  и ВГД [215]. Кроме того, сообщалось, что SNP (*G308A* rs1800629) вызывает повышение уровня TNF $\alpha$ , а аллель -308A положительно связан с развитием глаукомы в популяциях Турции [63], Египта [193] и Ирана [190].

Исследование S. Passan с соавт. было направлено на изучение ассоциации полиморфизмов *TNF* – с.-238G>A (rs361525), с.-308G>A (rs1800629), с.-857C>T (rs1799724) и с.-863C>A (rs1800630) в северной индийской когорте [60]. Авторами показана значительная связь генетических вариантов TNF $\alpha$  rs1800629 (с.-308G>A) и rs1800630 (с.- 863C>A) с прогрессированием глаукомы у индийских пациентов,

что может помочь в определении их влияния на продукцию TNF $\alpha$  [60]. Генотип *AA* (*c.- 863C>A*) приводил к 7-кратному увеличению риска развития глаукомы (OR=6,82, 95% CI=2,82-16,53, p=0,001) [60]. При этом в исследовании С. Wang с соавт. показано, что аллель TNF $\alpha$  (-863) *A* ассоциирован с защитой от ПОУГ [181].

На когорте пациентов в Ираке установлено, что аллель TNF $\alpha$  (-863) *C* является фактором риска ПОУГ, тогда как аллель TNF $\alpha$  (-863) *A* является защитным. Выявлено увеличение среднего уровня TNF $\alpha$  в сыворотке больных ПОУГ (132,85 $\pm$ 5,18 пг/мл, p=0,001) по сравнению со здоровыми людьми (71,52 $\pm$ 2,07 пг/мл) [218]. В ряде других исследований не показано значительной связи полиморфизма *G308A rs1800629* с первичной открытоугольной глаукомой [33, 64, 122].

Исследования, проведенные в России не многочисленны. В работе Е. Тикуновой с соавт., установлено, что аллель (-308)*G* TNF является фактором риска ПОУГ в популяции Центральной России, в то время как носители генотипа (-308) *AA* TNFR2 имеют низкий риск развития ПОУГ [111, 228]. В будущем потребуются дополнительные исследования с большими размерами выборки и различными этническими группами, чтобы получить более убедительные доказательства [50].

Интерлейкин-1 является ключевым медиатором иммунных и воспалительных реакций. В ряде клинических и экспериментальных работ подтверждено, что IL1 может инициировать повреждение зрительного нерва, стимулируя продукцию металлопротеиназы-9 [56, 124, 157], оксида азота и активных радикалов кислорода, участвующих в повреждении ГКС и нейродегенерации [124, 138]. Однако существуют данные о нейропротективном потенциале IL1. Обнаружено, что IL1 экспрессируется в клетках трабекулярной сети, которые контролируют реакцию на стресс и обеспечивают защиту от глаукомы [56, 134].

В экспериментах *in vivo* установлено, что IL1 $\beta$  способствует поглощению глутамата клетками Мюллера и увеличивает количество выживших клеток ГКС [134]. Ген IL1 $\beta$  демонстрирует высокий полиморфизм, на сегодняшний день сообщается о 144 SNP [133, 220]. Два наиболее распространенных SNP гена IL1 $\beta$

находятся в кодирующей области в положении +3954, влияя на 5-й экзон (rs 1143654;  $C>T$ ), два в промоторной области, в положении -31 (rs 1143627;  $T>C$ ) и -511 (rs 16944;  $C>T$ ) [133, 220].

Аллель  $IL1\beta$  +3954T (rs 1143654) встречается реже, чем аллель  $C$  и приводит к повышенным уровням  $IL1\beta$  в сыворотке [220]. Показано, что SNP -31 (rs1143627;  $T>C$ ) внутри промотора вызывает разрушение сайта сплайсинга перед началом транскрипции, приводя к изменениям экспрессии гена [220].

В последние десятилетия были исследованы несколько однонуклеотидных полиморфизмов в кластере генов  $IL1$  для уточнения ассоциации с ПОУГ. Установлено увеличение риска ПОУГ у пациентов в Китае, являющихся обладателями аллеля  $IL1\alpha$  (-889)T генотипа  $IL1\alpha$  (-889)TT [180]. При этом полиморфизмы  $IL1\alpha$  C/T в положении (-889) не увеличивали вероятность ПОУГ нормального напряжения [172].

В работе Now A.C. с соавт. выполнено генотипирование кластера генов  $IL1\beta$  в трех полиморфных локусах  $IL1\alpha$  (-889 C/T),  $IL1\beta$  (-511 C/T) и  $IL1\beta$  (+3953 C/T), не подтвердившее статистически значимой связи с развитием ПОУГ у китайских субъектов [147]. В исследовании Mookherjee S. с соавт. изучены три нуклеотидных полиморфизма:  $IL1\alpha$  (-889 C/T),  $IL1\beta$  (-511 C/T),  $IL1\beta$  (-3953 C/T) у пациентов с ПОУГ в Восточной Индии. Полученные данные свидетельствовали о том, данные SNP не связаны с ПОУГ [54, 104].

Метаанализ, включивший 5 исследований полиморфизма  $IL1\beta$  (с. -511 C/T), 4 –  $IL1\alpha$  (с. -889 C > T), 4 –  $IL1\beta$  (с. - +3953 C > T) не продемонстрировал связи между SNP  $IL1$  (rs16944, rs1800587, rs1143634) и риском ПОУГ [56]. Однако полученные результаты позволяют предположить, что патогенетические эффекты  $IL1$  могут различаться при глаукоме высокого и нормального напряжения. Необходимы дальнейшие исследования для уточнения роли  $IL1$  в повышении внутриглазного давления [56].

В работе Oliveira M.B. с соавт. пять однонуклеотидных полиморфизмов  $IL1\alpha$  (с. -889  $C>T$ , +4845  $G>T$ ),  $IL1\beta$  (-31  $T>C$ , -511  $C>T$ , +3953  $C>T$ ) были генотипированы путем прямого секвенирования [48, 219]. Выявлена ассоциация

полиморфизмов  $-31 T>C$  ( $p=0,002$ ) и  $-511 C>T$  ( $p=0,009$ ) в гене  $IL1\beta$  с развитием ПОУГ. Между полиморфизмами  $-31 T/C$  и  $-511 C/T$  наблюдалось сильное неравновесное сцепление. Установлено, что аллели  $-31 C$  (rs 1143627) и  $-511 T$  (rs 16944) являются факторами риска для развития ПОУГ у бразильцев [48].

Анализ функциональных полиморфизмов в гене  $IL1\beta$  показал, что полиморфизмы  $-511 (C\rightarrow T)$  и  $-31 (T\rightarrow C)$  влияют на продукцию  $IL1\beta$  [219]. Показано, что промотор SNP  $-31$  (rs1143627;  $T/C$ ) вызывает разрушение сайта сплайсинга, что приводит к изменению экспрессии гена [219]. Кроме того, аллель  $-31T$  этого полиморфизма связана с более высоким связыванием ядерных белков, чем аллель  $-31C$  в активированных моноцитах [220].

Промоторный локус SNP (rs 16944  $C\rightarrow T$ ) расположен в регуляторном сегменте, облегчающем взаимодействие с транскрипционными факторами, что приводит к повышению активности промоторов гена  $IL1\beta$  [220]. Показано, что этот полиморфизм приводит к высокой продукции  $IL1\beta$  у обладателей генотипов  $TT$  и  $CT$  при кератоконусе и истончении роговицы [175].

Интерлейкин 10 – многофункциональный цитокин, источником которого являются Т-хелперные клетки, в том числе Th2, Th1, макрофаги/моноциты и дендритные клетки [49]. Интерлейкин 10 обладает комплексными иммунодепрессивными и иммуностимулирующими свойствами, усиливает функцию В-лимфоцитов, их пролиферацию, дифференцировку, выработку антител. Подавляя синтез  $IL2$ ,  $IF\gamma$  и других цитокинов,  $IL10$  ингибирует активность Т-лимфоцитов и антигенпрезентирующих клеток [49].

В исследованиях последних лет показана роль  $IL10$  в заболеваниях глаз [110, 125, 136]. Интерлейкин-10 кодируется геном  $IL10$ , расположенным на хромосоме человека 1q31-32, имеет длину 4,8 и содержит 5 экзонов и 4 интрона, которые кодируют 178 аминокислот [121].

Ouma C. с соавт. сообщили о трех наиболее распространенных SNP:  $-1082 A>G$  (rs 1800870),  $-819 T>C$  (rs 1800871) и  $-592 C>A$  (rs1800872) в промоторной области  $IL10$ , которые существенно влияют на транскрипцию и экспрессию гена [121].

В настоящее время имеются единичные исследования посвященные взаимосвязи генетического полиморфизма IL10 и риска развития ПОУГ [49]. Установлено, что носители генотипа *-819 CC* (rs1800871) имели повышенный риск развития ПОУГ по сравнению с обладателями генотипа *-819 TT*. Пациенты с генотипом *-1082 AA* (rs1800872) заболевали в 10,6 раз чаще по сравнению с обладателями генотипа *-1082 CC*. Было обнаружено неравновесное сцепление между rs1800871 и rs1800872 [49]. Полученные данные свидетельствуют о том, что генные полиморфизмы IL10 rs1800871 и rs1800872 могут быть прогностическими факторами развития ПОУГ в китайской популяции.

Fakhraie G. с соавт. проведено исследование трех SNP в промоторах гена IL10 – *-592 C/A*, *-819 C/T*, *-1082 A/G* [53]. Выявлено, что генотипы *-1082 AA* и *-819 TT* промотора IL10 связаны с восприимчивостью к ПОУГ в иранской популяции [53]. Ранее было показано, что SNP промотора *IL10* могут влиять на экспрессию мРНК и IL10 [135].

Методом ПЦР с обратной транскриптазой было подтверждено, что гаплотип *-819T/-592A* был детерминантой высокой транскрипции IL10 в липополисахарид-стимулированных мононуклеарных клетках периферической крови [53]. Следовательно, продукция IL10 может быть связана с патогенезом ПОУГ.

Таким образом, полиморфизмы генов интерлейкинов являются потенциальными факторами риска развития первичной открытоугольной глаукомы [53]. Однако существуют различия в распространенности отдельных генов и их аллелей при ПОУГ, что вероятно, обусловлено этническими различиями, а также клинической неоднородностью и небольшими размерами выборок больных, включенных в альтернативные исследования [37].

## ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В рамках диссертационной работы выполнено клинико-генетическое и иммунологическое обследование 56 пациентов с первичной открытоугольной глаукомой на базе офтальмологического отделения ГБУЗ СК «Ставропольская краевая клиническая больница».

Критерии включения: возраст более 50, но менее 75 лет, показатели внутриглазного давления  $>21$  мм рт. ст., степень открытия угла передней камеры – 3-4, прозрачность оптических сред глаза, толщину слоя нервных волокон сетчатки более 60  $\mu\text{m}$ , но менее 85  $\mu\text{m}$ , добровольное информированное согласие пациента на обследование и включение в исследование.

Критериями исключения: травмы глаза, операции на органе зрения, воспалительные или аллергические заболевания переднего отрезка глаза, помутнение оптических сред, наличие дегенеративных заболеваний (возрастная макулярная дегенерация), диабетической ретинопатии, системных аутоиммунных и опухолевых процессов, прием иммуносупрессивных препаратов и биологической терапии, отсутствие информированного согласия на участие в исследовании.

В группу сравнения вошли 30 пациентов в возрасте от 50 до 75 лет с миопией слабой степени, пресбиопией или начальными признаками помутнения хрусталика, уровнем ВГД менее 21 мм рт. ст., степенью открытия угла передней камеры – 3-4, прозрачностью оптических сред глаза, толщиной слоя нервных волокон сетчатки более 90  $\mu\text{m}$ , отсутствием системных аутоиммунных, опухолевых заболеваний, сахарного диабета, подписавших добровольное информированное согласие на включение в исследование.

Диагноз устанавливали в соответствии с требованиями Национального руководства по глаукоме и существующими клиническими рекомендациями на основании данных визометрии, авторефрактометрии, стандартной автоматизированной периметрии, тонометрии по Маклакову, биомикроскопии, гониоскопии, тонографии по Нестерову, пахиметрии, оптической когерентной томографии [14].

При оценке данных анамнеза учитывали стаж заболевания, режим местного консервативного лечения, наличие сердечно-сосудистой патологии и другой сопутствующей патологии, прием гипотензивных средств. Перед включением в исследование пациенты обследованы терапевтом, неврологом.

Определение остроты зрения проводили на проекторе знаков Shin Nippon CP-30. Авторефракметрию выполняли на аппарате MRK-3100 («Huvitz»), исследование КЧСМ – приборе «КЧСМ-Д», полей зрения – периметре Ферстера.

Статическую автоматическую периметрию выполняли на анализаторе полей зрения («Humphrey» – Zeiss – 720) с оценкой потери светочувствительности сетчатки и глубины очаговых изменений полей зрения.

Внутриглазное давление определяли тонометром Маклакова, Офтальмобиомикроскопию выполняли с помощью щелевой лампы ЩЛ - XCEL-255, гониоскопию – трехзеркальной линзы Гольдмана.

Гидродинамические показатели оценивали методом тонографии по Нестерову, определяли истинное внутриглазное давление ( $P_0$ ), коэффициент легкости оттока ( $C$ ), минутный объем камерной влаги ( $F$ ) и коэффициент Беккера ( $P_0/C$ ). Пахиметрия выполнялась на аппарате ST 3000 («Tomey»).

Оптическая когерентная томография выполнялась на аппарате «Topcon» 3D OCT 1000. Применялись стандартные протоколы RNFLThickness (число А – сканов 512, диаметр прицельного круга 3,4 мм). С помощью программного анализа получена информация о морфометрических показателях диска зрительного нерва, таких как средняя толщина нервных волокон сетчатки в перипапиллярной зоне (далее СНВС), объем и площадь нейроретинального пояса (далее НРП).

**Объекты (участники) исследования.** В исследовании участвовали 56 пациентов русской национальности с первичной открытоугольной глаукомой, проживающих на территории Ставропольского края, в том числе 32 женщины, 24 мужчины. У 28 пациентов верифицирована развитая, 16 – далекозашедшая, 12 – терминальная стадии первичной открытоугольной глаукомы. Средний возраст пациентов составил  $71,3 \pm 1,98$  лет (таблица 1). В группу сравнения вошли 30 человек (18 женщин, 12 мужчин), средний возраст –  $70,3 \pm 0,96$  лет.

Распространенность сопутствующих заболеваний (сахарный диабет, гипертоническая болезнь, ИБС, гиперхолестеринемия) были сопоставимы в группах ПОУГ и сравнения.

Таблица 1 – Демографическая и клиническая характеристика субъектов исследования

	ПОУГ (n=56)	Группа сравнения (n=30)	p
Пол (м/ж), %	42,9/57,1	40,0/60,0	p=0,79
Сопутствующие заболевания			
Сахарный диабет 2 типа	20 (35,7%)	9 (30%)	0,59
Гипертоническая болезнь	22 (39,3%)	11 (36,7%)	0,81
Гиперхолестеринемия	4 (7,1%)	3 (10,0 %)	0,65
ИБС	5 (8,9%)	4 (13,3%)	0,52
Возраст (M±m)	71,3±1,98	70,3±0,96	p=0,41
ВГД, мм. рт.ст.	22 [22; 26]	19 [17; 20]	p=0,001
Толщина СНВС, мкм	80 [64; 96]	106 [97; 119]	p=0,001
Объем НРП, мм <sup>3</sup>	0,21 [0,11 – 0,30]	0,31 [0,28 – 0,33]	p=0,001
Площадь НРП, мм <sup>2</sup>	1,46 [1,05; 1,76]	2,23 [2,16; 2,30]	p=0,001
Примечание: p – статистическая значимость различий по сравнению с группой сравнения (критерий $\chi^2$ Пирсона, Манна-Уитни)			

У пациентов с первичной открытоугольной глаукомой выявлено увеличение средних показателей внутриглазного давления (ВГД), а также уменьшение толщины слоя нервных волокон сетчатки (СНВС).

**Клинико-инструментальные показатели в подгруппах.** У пациентов всех групп отмечалось снижение остроты зрения и увеличение уровня внутриглазного давления (табл. 2).

По данным тонографии по Нестерову показатели истинного внутриглазного давления у больных с ПОУГ II составили 25,5 [22,3; 28,8], ПОУГ III – 25,5 [19,5; 2,7], ПОУГ IV – 0 [0; 0] мм. рт. ст.; коэффициент легкости оттока (C) – 0,24 [0,20; 0,26], 0,24 [0,22; 0,29] и 0 [0; 0] соответственно.

Скорость образования водянистой влаги (F) при развитой глаукоме была равной 3,72 [2,79; 3,81], далекозашедшей – 3,81 [2,19; 5,89], терминальной – 0 [0; 0] мм<sup>3</sup>/мин; коэффициент Беккера (k) – 107,0 [89,0; 142,0], 102,0 [82,0; 142,0] и 0 [0; 0] соответственно (таблица 2).

Таблица 2 – Клинические показатели у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой в зависимости от стадии заболевания

Показатель		ПОУГ II стадия (n=56)	ПОУГ III стадия (n=30)	ПОУГ IV стадия (n=21)
Острота зрения		0,30 [20; 55]	0,10 [0,09; 0,3]	0,01 [0,01; 0,01]
ВГД, мм. рт.ст.		21 [21; 23]	23 [22; 28]	28 [21; 26]
КЧСМ, Гц		50,0 [45,5; 55,0]	40,0 [37,0; 43,0]	18,0 [12,0; 20,5]
Тонометрия по Нестерову	P <sub>0</sub>	25,5 [22,3; 28,8]	25,5 [19,5; 32,7]	0 [0; 0]
	C	0,24 [0,20; 0,26]	0,24 [0,22; 0,29]	0 [0; 0]
	F	3,72 [2,79; 3,81]	3,81 [2,19; 5,89]	0 [0; 0]
	k Беккера	107,0 [89,0; 142,0]	102,0 [82,0; 142,0]	0 [0; 0]
Периметрия	MD, дБ	-8,43 [-10,25; -7,45]	-13,6 [-14,7; -12,5]	0 [-7,35; 0]
	PSD	7,74 [6,19; 8,12]	10,7 [10,4; 11,2]	0 [0; 0]
ОСТ	Толщина СНВС, мкм	96,5 [81,0; 104,5]	67,5 [64,0; 87,0]	40,0 [0,0; 44,5]
	Объем НРП, мм <sup>3</sup>	0,21 [0,15; 0,27]	0,12 [0,08; 0,18]	0,01 [0,0; 0,25]
	Площадь НРП, мм <sup>2</sup>	1,59 [1,45; 1,86]	1,38 [1,31; 1,82]	0,17 [0,0; 0,33]
Примечание: n – число глаз				

Миопический тип рефракции был наиболее частым и определялся в 83,9% (49) при ПОУГ II, 90,0% (27) – при ПОУГ III и 90,5% (19) – при ПОУГ IV. Гиперметропический тип рефракции установлен на 6,9% (4) глаз у больных с развитой глаукомой и 9,5% (2) – терминальной. Эмметропия в структуре патологических изменений у пациентов с развитой глаукомой составила 7,1% (4), далекозашедшей – 10,0% (3) и не встречалась при терминальной глаукоме.

Симптом эмиссария отмечен на 27 (48,2%) глазах у пациентов с ПОУГ II, 28 (93,3%) – ПОУГ III, 21 (100%) – ПОУГ IV. Присутствие пигмента во влаге передней камеры глаза регистрировалось на 55,4% (31) глаз в группе ПОУГ II, 93,3% (28) – при ПОУГ III и 100% (21) – при ПОУГ IV.

Патологические признаки, представленные субатрофией радужки, дефектом целостности пигментной каймы, депигментацией отмечены на 34 (60,7%) глазах в группе с развитой глаукомой, 28 (93,3%) – далекозшедшей и 21 (100%) – терминальной. Помутнение хрусталика и факосклероз выявлялись у пациентов всех групп.

Ангиопатия сосудов сетчатки выявлена на 47 (83,9%) глазах при ПОУГ II и в 100% случаев при ПОУГ III и ПОУГ IV, глаукомная экскавация – на 47 (83,9%), 27 (90%) и 21 (100%) глазах соответственно. Серый цвет диска зрительного нерва зарегистрирован в 7,1% случаях у пациентов с ПОУГ II, 46,7% – при ПОУГ III и 57,1% – ПОУГ IV.

Средние значения центральной толщины роговицы (далее ЦТР) у пациентов с развитой глаукомой составили 549 [545; 556], далекозшедшей – 547,5 [523; 562], терминальной – 538 [531; 547,5] мкм.

При выполнении статической периметрии (Humphrey) определялись патологические симптомы, такие как диффузное снижение чувствительности, концентрическое сужение поля зрения, расширение слепого пятна, секторальное выпадение, а также фокальные дефекты – парацентральные скотомы, аркуатная скотома Бьеррума, назальная ступенька.

Показатели MD (Mean Deviation) у пациентов с ПОУГ II составили -8,43 [-10,25; -7,45], ПОУГ III – -13,6 [-14,7; -12,5], ПОУГ IV – 0 [-7,35; 0] дБ. Индекс PSD (Pattern Standart Deviation), характеризующий глубину локальных дефектов и неравномерность полей зрения, был увеличен в группах с развитой – 7,74 [6,19; 8,12] и далекозшедшей – 10,7 [10,4; 11,2] стадиями глаукомы, не определялся при ПОУГ IV – 0 [0; 0].

При определении критической частоты слияния мельканий определялось снижение средних значений КЧСМ в группе ПОУГ II до 50 [45,5; 55,0], ПОУГ III – 40 [37,0; 43,0], ПОУГ IV – 18 [12,0; 20,5] Гц.

Показатели средней толщины нервных волокон сетчатки у больных с развитой стадией глаукомы составили 95,5 [81,0; 104,5], далекозашедшей – 67,5 [64,0; 87,0], терминальной – 40,0 [0,0; 44,5] мкм. Объем нейроретинального пояска в группе ПОУГ II был равен – 0,51 [0,41; 0,59], ПОУГ III – 0,32 [0,22; 0,65], терминальной – 0,01 [0,0; 0,025] мм<sup>3</sup>, площадь нейроретинального пояска – 1,59 [1,45; 1,86], ПОУГ III – 1,38 [0,31; 1,82], терминальной – 0,17 [0,0; 0,033] мм<sup>2</sup>.

**Определение интерлейкинов в слезной жидкости.** Содержание интерлейкинов в слезной жидкости (ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-10) у пациентов с ПОУГ определяли посредством твердофазного иммуноферментного анализа (тест-системы «Вектор-Бест»). Исследование выполнялось на базе ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителя и благополучия человека». Средние уровни интерлейкинов вычисляли с учетом всех образцов, в том числе отрицательных.

Исследовано 107 образцов слезной жидкости пациентов с первичной открытоугольной глаукомой (с развитой стадией – 56, далекозашедшей – 30, терминальной – 21). Сбор слезной жидкости проводился из нижнего слезного мениска. Стерильный физиологический раствор в объеме 50 мкл закапывали в нижний свод с помощью стерильной микропипетки. Затем пациентов просили посмотреть вправо, влево, вверх и вниз, не моргая. Слезную жидкость в количестве 100 мкл собирали из нижнего конъюнктивального свода с помощью стерильной микропипетки и переносили в пробирки типа «Эппендорф». Образцы центрифугировали при 10000 g для удаления слизи и клеточного детрита и хранили при температуре -20° до проведения исследования. В течение 2-х недель до исследования пациенты не применяли глазные капли, содержащие простагландины и кортикостероиды, в течение месяца – не использовали контактные линзы.

Забор слезной жидкости у пациентов из группы сравнения проводился при плановом посещении врача-офтальмолога. Исследовано 42 образца слезной жидкости.

**Молекулярно-генетические методы исследования.** Определение полиморфных маркеров генов интерлейкинов осуществляли в лейкоцитах венозной крови, полученной путем пункции периферических вен (1-2 мл), собранной в одноразовую пластиковую пробирку с раствором 0,5% ЭДТА.

Три гена-кандидата были отобраны для исследования на основании их прямого участия в сигнальных каскадах воспаления при ПОУГ. Тестировались только функциональные полиморфизмы с частотой минорного аллеля более 5% в популяции – *ФНО-α G308A* (rs1800629), *ИЛ-1β (-31 T>C)* (rs1143627), *ИЛ-10 592 C/A* (rs1800872). Исследование полиморфных маркеров генов цитокинов выполняли в Федеральном казенном учреждении здравоохранения «Ставропольский противочумный институт».

Выделение ДНК из лейкоцитов цельной крови проводили с применением набора реагентов «ДНК-ЭКСПРЕСС-КРОВЬ» («Литех», Россия). Супернатанты нуклеиновых кислот хранили при температуре -20°C. Генотипирование *ФНО-α G308A*, *ИЛ-1β -31 T>C* и *ИЛ-10 592 C/A* выполняли с помощью метода Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP analysis) с помощью многоканального амплификатора «Терцик» (ООО «ДНК-Технология», Россия) и диагностических тест-систем «SNP-экспресс» ООО НПФ «Литех» (Москва).

Готовили пробирки для проведения амплификации объемом 0,5 мл в соответствии с количеством анализируемых проб, положительного и отрицательного контроля. Для каждой пробы использовали 2 пробирки: аллель 1 и аллель 2. За 30 мин до приготовления рабочей амплификационной смеси извлекали комплект реагентов из морозильника. Пробирки с реакционной смесью и полностью размороженным раствором разбавителя тщательно перемешивали на вортексе. Из компонентов комплекта готовили 2 реакционные смеси – аллель 1 и 2. В пробирки вносили по 20 мкл рабочей амплификационной смеси и 5 мкл образца. В качестве отрицательного контрольного образца вносили разбавитель в

объеме 5 мкл в оба типа реакционной смеси, в качестве положительного – 5 мкл положительного контрольного образца. Пробирки закрывали и центрифугировали в течение 5 с при 3000 об/мин при комнатной температуре на микроцентрифуге-вортексе. Помещали пробирки в прогретый до 94° С амплификатор и проводили реакцию по стандартной программе амплификации.

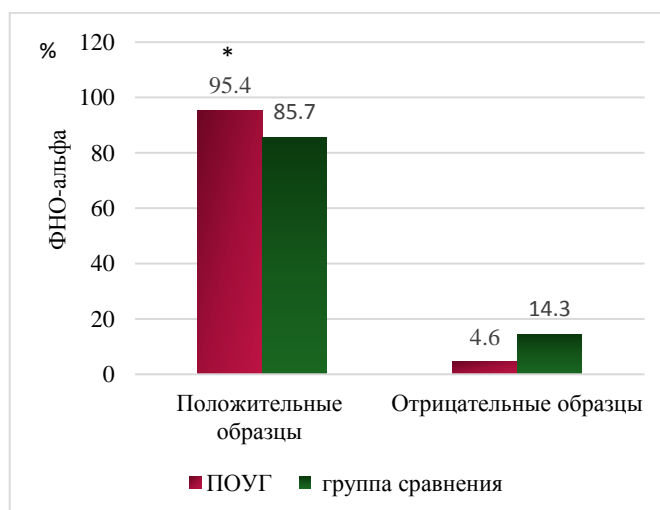
Разделение продуктов амплификации проводили в 3% агарозном геле методом горизонтального электрофореза с последующей электрофоретической детекцией («BioRad Laboratories», США). По 10 мкл проб и вносили в лунки геля. Подключали камеру к источнику тока (напряженность 10 В/см), соблюдая полярность. После проведения электрофореза переносили гель на трансиллюминатор, расположив полосы горизонтально лунками вверх. Получали изображение геля с помощью видеосистемы, отметив порядок нанесения, результаты заносили в базу данных. Для идентификации результатов электрофореза использовали 1% раствор бромистого этидия, фрагменты ДНК визуализировались в виде оранжевых и/или красных полос.

**Методы статистического анализа.** Статистический анализ результатов выполняли с помощью программ «Attestat 10.5.1.», «Statistica SPSS», «Primer of Biostat 4,0». Нормальность распределения количественных показателей оценивали с помощью критерия Колмогорова-Смирнова. При отсутствии нормального распределения количественные значения данных представляли в виде медианы и интерквартильного (25 и 75 процентиля) размаха (Me (Q1-Q)). Для анализа межгрупповых различий использовали критерий Манна-Уитни, при множественных сравнениях – Краскела-Уоллиса, Данна, Даннета. Достоверность различий качественных признаков (процентных долей) оценивали с помощью четырехпольных полей сопряженности и критерия  $\chi^2$  Пирсона. Статистически значимыми считали различия при  $p < 0,05$ . Корреляционные взаимосвязи признаков устанавливали с помощью коэффициента корреляции Пирсона. Построение прогностической модели риска развития глаукомы выполняли с применением метода логистической регрессии. Для оценки диагностической значимости прогностической модели использовали анализ ROC-кривых.

### ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ. ПРОФИЛЬ ЭКСПРЕССИИ И ГЕННЫЙ ПОЛИМОРФИЗМ ЦИТОКИНОВ ПРИ ПЕРВИЧНОЙ ОТКРЫТОУГОЛЬНОЙ ГЛАУКОМЕ

#### 3.1. Фактор некроза опухоли альфа и полиморфизм гена *ФНО-α* (-308 *G>A*) при первичной открытоугольной глаукоме

Фактор некроза опухолей альфа определялся в 102 из 107 (95,4%) образцов слезной жидкости, что было чаще, чем в группе сравнения (85,7%) (36 из 42),  $p=0,01$  (рисунок 2).



Примечание: ПОУГ – первичная открытоугольная глаукома, по оси абсцисс: положительные образцы – образцы слезной жидкости, в которых ФНО-α определялся, отрицательные образцы – образцы слезной жидкости, в которых ФНО-α был ниже определяемых значений; по оси ординат: частота (%), \* –  $p<0,05$ , значимость различий между группами (критерий  $\chi^2$  Пирсона)

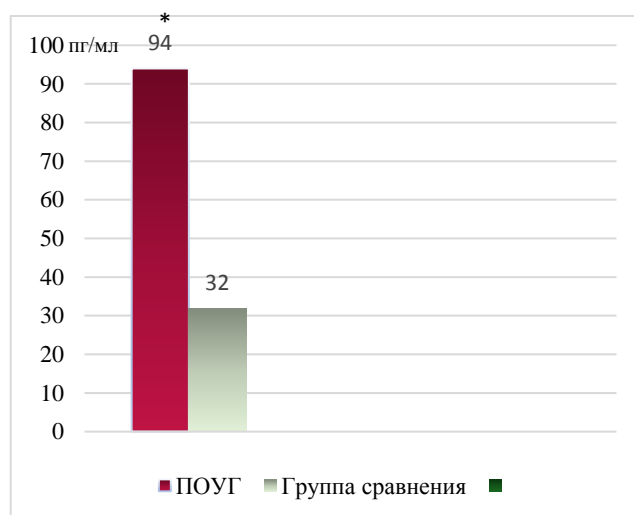
Рисунок 2 – Частота выявления ФНО-α в слезной жидкости у больных с первичной открытоугольной глаукомой и в группе сравнения

Концентрация ФНО-α была выше неопределяемых значений в 98,2% образцов слезной жидкости у пациентов с ПОУГ II стадии, в 93,3% – ПОУГ III стадии, 95,2% – ПОУГ IV стадии и в 85,7% образцов слезной жидкости в группе сравнения, межгрупповых различий установлено не было (таблица 3).

Таблица 3 – Частота выявления ФНО-α в образцах слезной жидкости у больных с различными стадиями первичной открытоугольной глаукомы

ПОУГ II стадия n= 56 глаз	ПОУГ III стадия n= 30 глаз	ПОУГ IV стадия n= 21 глаз	Группа сравнения n= 42 глаза
55/56 (98,2%)	28/30 (93,3%)	20/21 (95,2%)	36/42 (85,7%)

Показатели ФНО-α в слезной жидкости больных первичной открытоугольной глаукомой составили 94 [45; 165] пкг/л и превышали значения в группе сравнения (32 [14; 66]) (рисунок 3). (p=0,001 Манна-Уитни).



Примечание: \* – p<0,05, значимость различий между группами (критерий Манна-Уитни)

Рисунок 3 – Показатели ФНО-α в слезной жидкости у больных с первичной открытоугольной глаукомой и в группе сравнения

Статистически значимые различия по отношению к группе сравнения определялись для ПОУГ второй, третьей и четвертой стадий. Уровень ФНО-α был выше у пациентов с развитой и далекозашедшей глаукомой, однако статистически значимых межгрупповых различий установлено не было (таблица 4).

Таблица 4 – Показатели ФНО- $\alpha$  в слезной жидкости у больных с различными стадиями первичной открытоугольной глаукомы

Группа	Показатели, пкг/мл	P
ПОУГ II стадия (n=56) M <sub>e</sub> (25-75 перцентиль)	90 [33; 177]	p=0,001
ПОУГ III стадия (n=30) M <sub>e</sub> (25-75 перцентиль)	110 [45; 167]	p=0,001
ПОУГ IV стадия (n=21) M <sub>e</sub> (25-75 перцентиль)	98 [60,5; 142,5]	p=0,001
Группа сравнения (n=42) M <sub>e</sub> (25-75 перцентиль)	32 [14; 66]	

Примечание: p – достоверность различий с группой сравнения (критерий Крускала-Уоллиса, Дана, Дункана), n – число образцов слезной жидкости

Для оценки тренда концентрация ФНО- $\alpha$  → развитие ПОУГ показатели были разделены на квартили и определены две точки отсечения 45 пкг/мл (первый квартиль или менее, чем 25-й перцентиль), 45-165 пкг/мл (второй квартиль или 25-75-й перцентиль), 165 пкг/мл (третий квартиль или более, чем 75% перцентиль) (таблица 5).

Таблица 5 – Риск развития первичной открытоугольной глаукомы в зависимости от квартильного распределения показателей ФНО- $\alpha$  в слезной жидкости

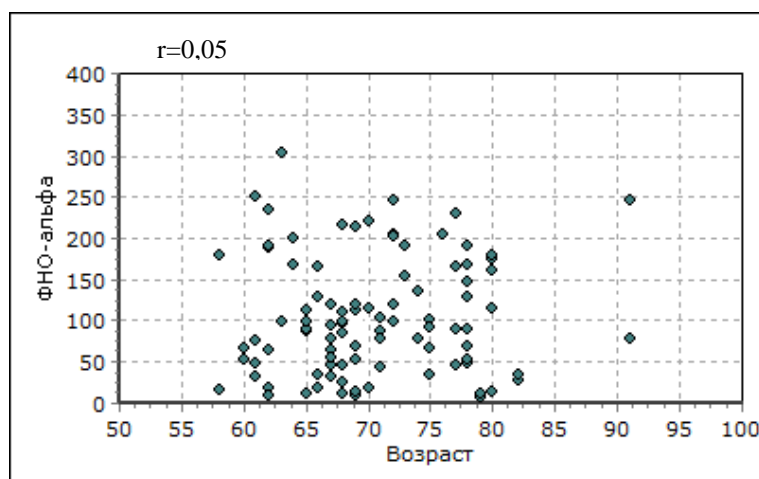
TNF $\alpha$ (пкг/мл), распределение по квартилям	ПОУГ	Группа сравнения	OR (95% CI)	p ( $\chi^2$ )
<25-й перцентиль (45 пкг/мл)	27/107 (25,2%)	25/42 (59,5%)	0,23 (0,11-0,49)	p=0,001
25-75-й перцентиль (45-165 пкг/мл)	52/107 (48,6%)	15/42 (35,7%)	1,70 (0,82-3,55)	p=0,16
>75-й перцентиль (165 пкг/мл)	28/107 (26,2%)	2/42 (4,8%)	7,09 (1,61-3,27)	p=0,004

Примечание: p – значимость различий между группами (критерий  $\chi^2$ ), OR – отношение шансов, CI – 95% доверительный интервал

Увеличение риска развития заболевания отмечалось у пациентов со средними (OR = 1,70, CI= 0,82-3,55) и высокими показателями ФНО- $\alpha$  (OR=7,09, CI=1,61-3,27). Однако количество пациентов с глаукомой (48,6%), имеющих средние показатели ФНО- $\alpha$  (45-165 пкг/л) было сопоставимо с группой сравнения

(35,7%),  $p=0,16$  (таблица 5). Статистически значимые различия наблюдались только для пациентов с высокими показателями ФНО- $\alpha$ , превышающие 165 пкг/мл ( $p=0,004$ ). С использованием корреляционного анализа и линейной регрессии проведено исследование взаимосвязи между уровнями ФНО- $\alpha$  в слезной жидкости и показателями, характеризующими первичную открытоугольную глаукому, такими как возраст, показатели внутриглазного давления, толщина слоя нервных волокон сетчатки (СНВС), объем и площадь нейроретинального пояса (НРП).

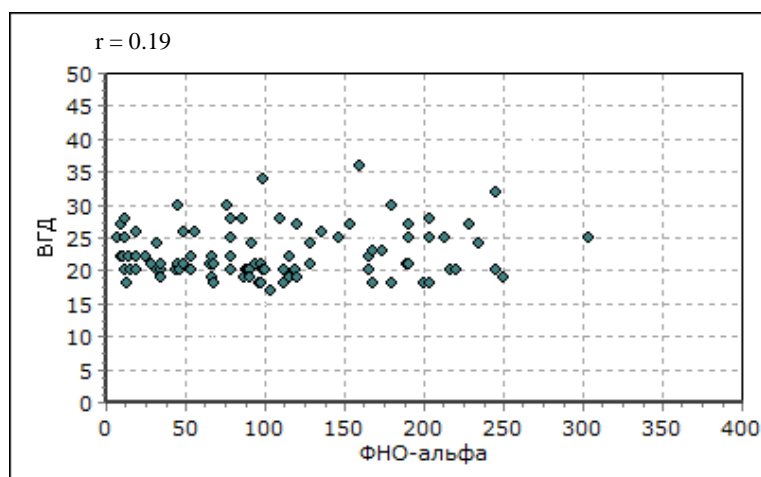
Не выявлено статистически значимой взаимосвязи между уровнем ФНО- $\alpha$  и возрастом пациентов с первичной открытоугольной глаукомой, коэффициент корреляции Пирсона составил 0,05,  $p=0,60$  (рисунок 4).



Примечание: r – коэффициент корреляции Пирсона

Рисунок 4 – Диаграмма рассеяния ФНО- $\alpha$  в слезной жидкости в зависимости от возраста у больных с первичной открытоугольной глаукомой

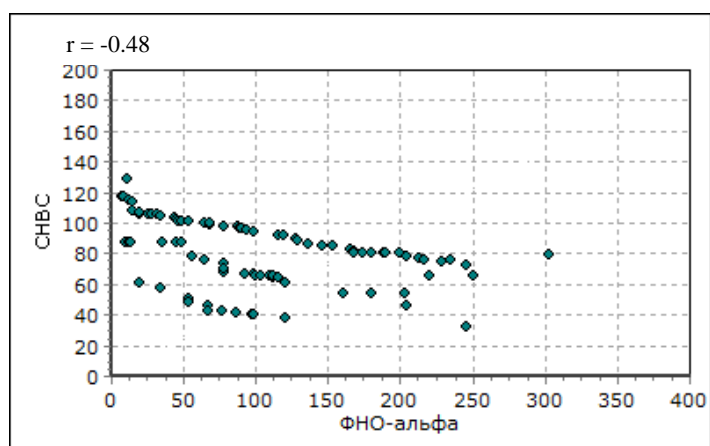
Показатели внутриглазного давления очень слабо коррелировали с уровнем ФНО- $\alpha$  ( $r=0,19$ ,  $p=0,04$ ) (рисунок 5).



Примечание:  $r$  – коэффициент корреляции Пирсона

Рисунок 5 – Диаграмма рассеяния ВГД в зависимости от уровня ФНО- $\alpha$  в слезной жидкости у больных с первичной открытоугольной глаукомой

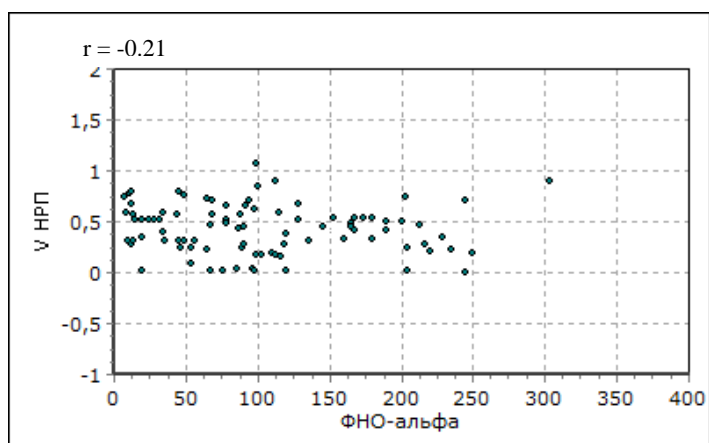
Установлено, что уменьшение толщины слоя нервных волокон умеренно взаимосвязано с увеличением показателей ФНО- $\alpha$  в слезной жидкости ( $r=-0,48$ ,  $p=0,0001$ ) (рисунок 6).



Примечание:  $r$  – коэффициент корреляции Пирсона

Рисунок 6 – Диаграмма рассеяния СНВС в зависимости от уровня ФНО- $\alpha$  в слезной жидкости у больных с первичной открытоугольной глаукомой

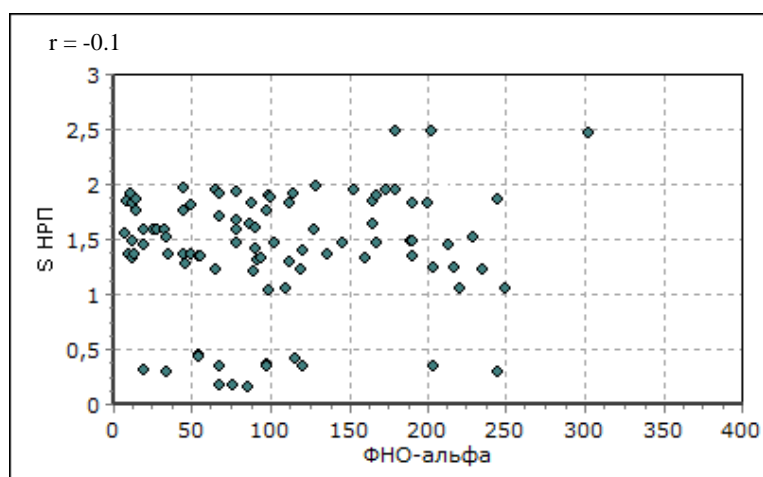
Слабая отрицательная корреляционная зависимость выявлена между уровнем ФНО- $\alpha$  и объемом нейроретинального пояса ( $r=-0,21$ ,  $p=0,03$ ) (рисунок 7).



Примечание:  $r$  – коэффициент корреляции Пирсона

Рисунок 7 – Диаграмма рассеяния объема НРП в зависимости от уровня ФНО- $\alpha$  в слезной жидкости у больных с первичной открытоугольной глаукомой

Не получено корреляционной взаимосвязи между уровнем ФНО- $\alpha$  в слезной жидкости и площадью нейроретинального пояска ( $r=-0,1$ ,  $p=0,13$ ) (рисунок 8).



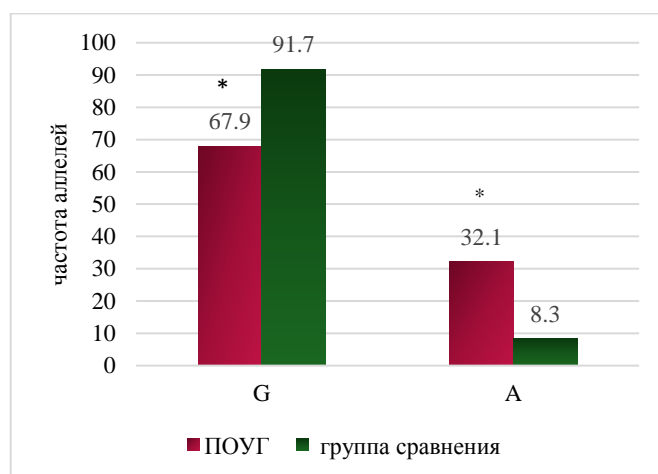
Примечание:  $r$  – коэффициент корреляции Пирсона

Рисунок 8 – Диаграмма рассеяния площади НРП в зависимости от уровня ФНО- $\alpha$  в слезной жидкости у больных с первичной открытоугольной глаукомой

У пациентов с первичной открытоугольной глаукомой был исследован генный полиморфизм ФНО- $\alpha$  (308)  $G>A$  в позиции rs1800629 (таблица 6). При анализе аллелей и генотипов ФНО- $\alpha$   $G308A$  (rs1800629) у русских пациентов Ставропольского края распределение генотипических вариантов ФНО- $\alpha$  308  $G/A$  соответствовало распределению Харди-Вайнберга.

При определении аллелей полиморфизма  $-308 G>A$  (rs1800629) гена  $\PhiНО-\alpha$  установлено частотное преобладание аллеля  $308G$ , доля которого у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой составила 69,6%, что было ниже, чем в группе сравнения – 91,7% ( $p=0,001$ ).

Вместе с тем у пациентов с ПОУГ выявлено статистически значимое увеличение встречаемости мутантного аллеля  $308A$  (32,1%,  $p=0,001$ ). Показатель отношения шансов в группе ПОУГ, обладателей дикого аллеля  $G$ , составил 0,19 (95% CI: 0,07-0,52;  $p=0,003$ ), резидентов минорного аллеля  $A$  – 5,21 (95% CI: 1,92-14,1;  $p=0,001$ ) (рисунок 9).

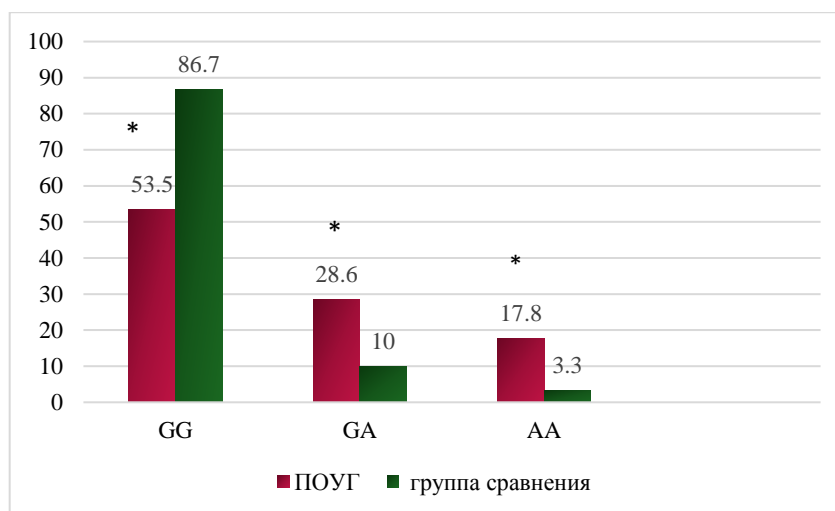


Примечание: ПОУГ – первичная открытоугольная глаукома, по оси абсцисс: аллели; по оси ординат: частота (%), (\*), \* –  $p<0,05$ , значимость различий между группами (критерий  $\chi^2$  Пирсона)

Рисунок 9 – Распределение аллелей  $\PhiНО-\alpha G308A$  у пациентов с ПОУГ и в группе сравнения

Гомозиготный по дикому аллелю генотип  $G308G$  (rs1800629) доминировал как в группе ПОУГ, так и в группе сравнения (рисунок 10). При этом у пациентов с ПОУГ он определялся реже, чем в группе сравнения (53,5% и 86,7%,  $p=0,003$ ).

Установлено увеличение риска развития первичной открытоугольной глаукомы у респондентов аллеля  $A$  –  $A308A$  (таблица 6).



Примечание: ПОУГ – первичная открытоугольная глаукома, по оси абсцисс: генотипы; по оси ординат: частота (%), (%), \* –  $p < 0,05$ , значимость различий между группами (критерий  $\chi^2$ )

Рисунок 10 – Распределение генотипов  $\Phi HO-\alpha G308A$  у пациентов с ПОУГ и в группе сравнения

Таблица 6 – Риск развития первичной открытоугольной глаукомы в зависимости от распределения аллелей и генотипов  $\Phi HO-\alpha (308) G > A$

	Аллели и генотипы					
	GG	GA	AA	GA+AA	G	A
ПОУГ (n=56)	30/56 (53,5%)	16/56 (28,6%)	10/56 (17,8%)	26/56 (46,4%)	76/112 (67,9%)	36/112 (32,1%)
Группа сравнения (n=30)	26/30 (86,7%)	3/30 (10%)	1/30 (3,3%)	4/30 (13,3%)	55/60 (91,7%)	5/60 (8,3%)
OR	0,13	3,60	6,30	5,85	0,19	5,21
95% CI	(0,04-0,41)	(0,96-13,6)	(0,77-51,9)	(1,81-18,9)	(0,07-0,52)	(1,92-14,1)
$\chi^2$	0,003	0,049	0,049	0,003	0,001	0,001

Примечание: n – число пациентов, p – значимость различий между группами (критерий  $\chi^2$ ), OR – отношение шансов, CI – 95% доверительный интервал

Обладание генотипами  $GA+AA$  существенно увеличивало вероятность развития ПОУГ (OR=5,85; 95% CI:1,81-18,9;  $p=0,003$ ), что подтверждалось в доминантной модели (OR=5,63; 95% CI:1,74-18,3,  $p=0,003$ ) (таблица 7).

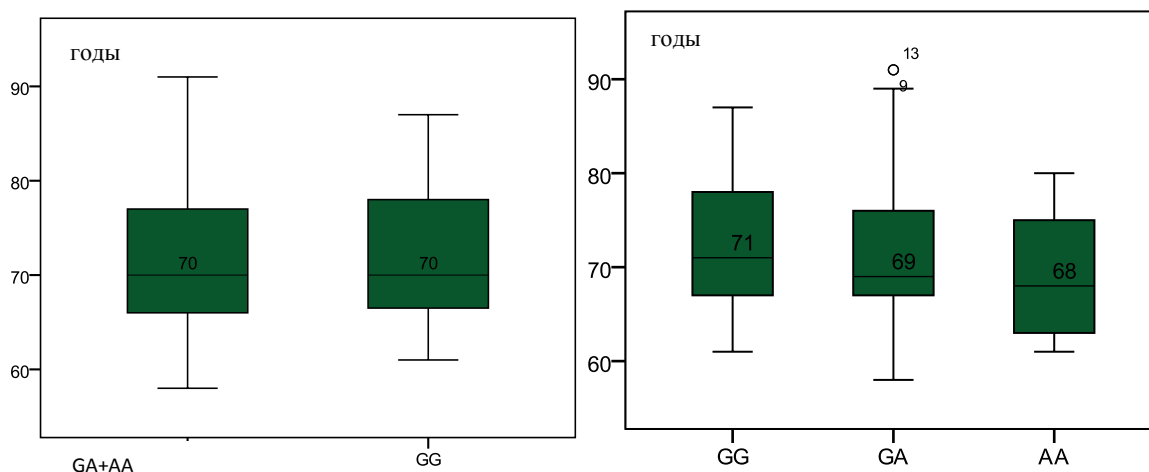
В рамках дизайна исследования проведен анализ лабораторных и инструментальных показателей у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой с учетом генотипов *ФНО-α G308A* (rs1800629).

Таблица 7 – Доминантная и рецессивная модели распределения генотипов гена *ФНО-α* (rs1800629) у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой

Модель	Генотип	ПОУГ (n=56)	Группа сравнения (n=30)	OR	95% CI	$\chi^2$
rs1800629 <i>ФНО-α</i> <i>G308A</i> доминантная	GG	30/56 (53,5%)	26/30 (86,7%)	5,63	1,74-18,3	p=0,003
	GA+AA	26/56 (46,4%)	4/30 (13,3%)			
rs1800629 <i>ФНО-α</i> <i>G308A</i> рецессивная	GA+GG	46/56 (82,1%)	29/30 (96,7%)	6,30	0,77-51,8	p=0,055
	AA	10/56 (17,9%)	1/30 (3,3%)			

Примечание: n – число пациентов, p – значимость различий между группами (критерий  $\chi^2$ ), OR – отношение шансов, CI – 95% доверительный интервал

У респондентов распространенного в популяции генотипа *G308G* средний возраст пациентов с глаукомой составил 70 [66,5 – 78,0] лет, у обладателей аллеля *2258A* и генотипов *G308A + A308A* – 70 [65,0 – 75,5] лет, статистически значимых различий не выявлено (p=0,37) (рисунок 11 А).



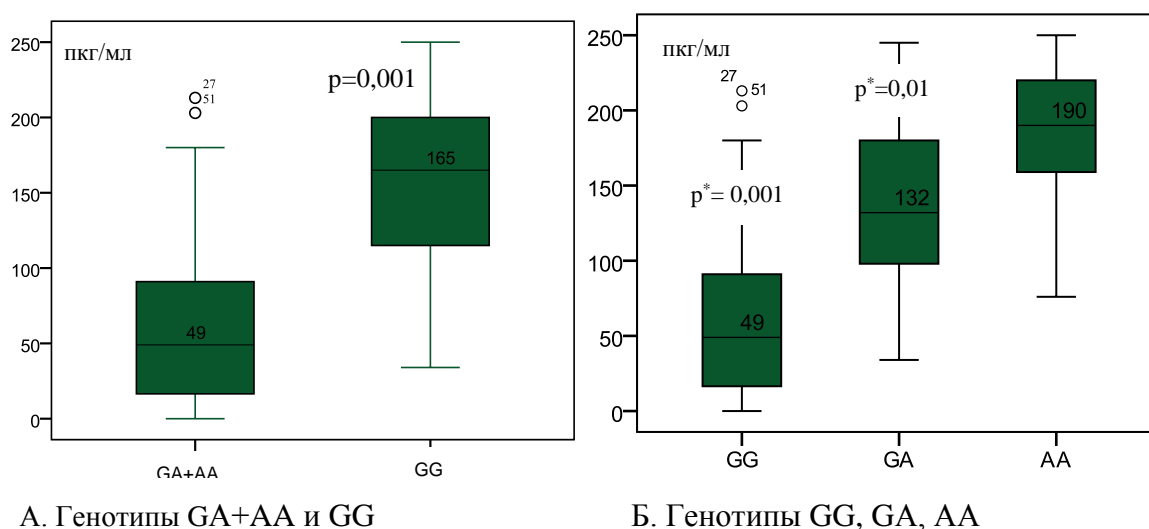
А. Генотипы *GA+AA* и *GG*

Б. Генотипы *GG*, *GA*, *AA*

Рисунок 11 – Возраст пациентов с ПОУГ в зависимости от полиморфизма гена *ФНО-α* (308) *G>A*

В группе больных с генотипом  $2258A/A$  возраст пациентов был меньше – 68 [63,0; 70,0] лет, чем в группах  $2258G/A$  – 69 [67,0; 76,0] лет и  $2258G/G$  – 71 [67,0; 77,0] лет, однако различия не были статистически значимы (рисунок 11 Б).

Установлено влияние полиморфизма гена  $\PhiНО-\alpha$  (308)  $G>A$  на уровень фактора некроза опухолей альфа в слезной жидкости при первичной открытоугольной глаукоме. У резидентов минорного аллеля  $308A$ , имеющих генотипы  $G308A$  и  $A308A$  выявлено увеличение уровня  $\PhiНО-\alpha$  в слезной жидкости по сравнению с пациентами, обладателями генотипа  $G308G$  (165 [112,5; 193,5] и 49 [14,0; 90,0] пкг/мл соответственно),  $p=0,001$  (рисунок 12 А). Содержание  $\PhiНО-\alpha$  было существенно выше в группе  $A308A$  (190 [153,0; 220,0] пкг/мл), статистически значимые различия регистрировались по сравнению с группой  $G308A$  (132 [98,0; 180,0] пкг/мл),  $p=0,01$  и  $G308G$  (49 [14,0; 90,0] пкг/мл),  $p=0,001$  (рисунок 12 Б).



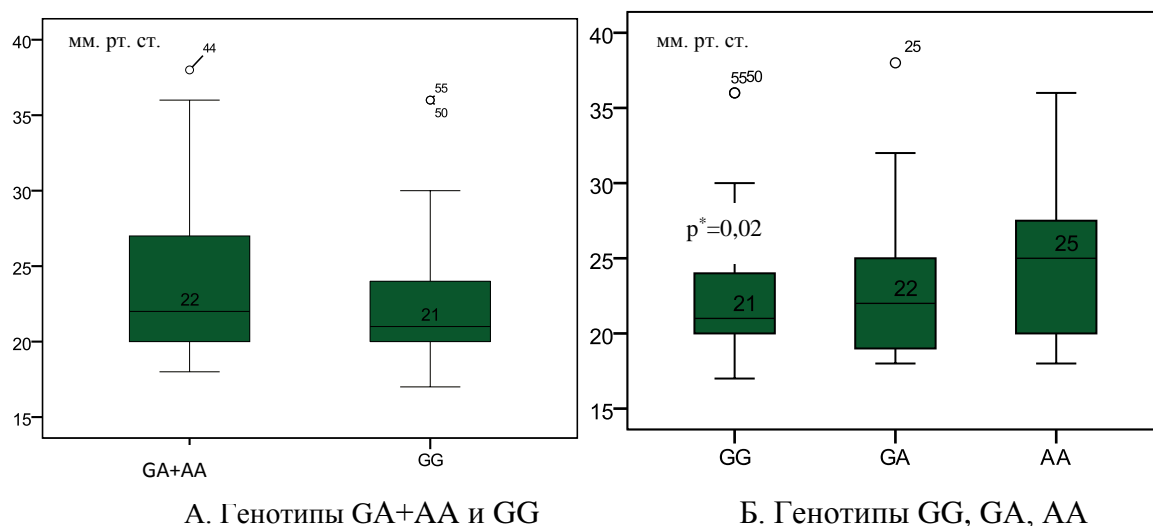
А. Генотипы  $GA+AA$  и  $GG$

Б. Генотипы  $GG$ ,  $GA$ ,  $AA$

Примечание:  $p$  – различия между группами с генотипами  $GG$  и  $GA+GA$  (критерий Манна – Уитни),  $p^*$  – различия по сравнению с группой  $AA$  (критерий Крускала-Уоллиса, Дана, Дункана)

Рисунок 12 – Влияние полиморфизма гена  $\PhiНО-\alpha$  (308)  $G>A$  на уровень  $\PhiНО-\alpha$  у пациентов с ПОУГ

Показатели внутриглазного давления у пациентов с генотипами  $G308A$  и  $A308A$  составили 22 [20,0; 25,5] (рисунок 13 А).



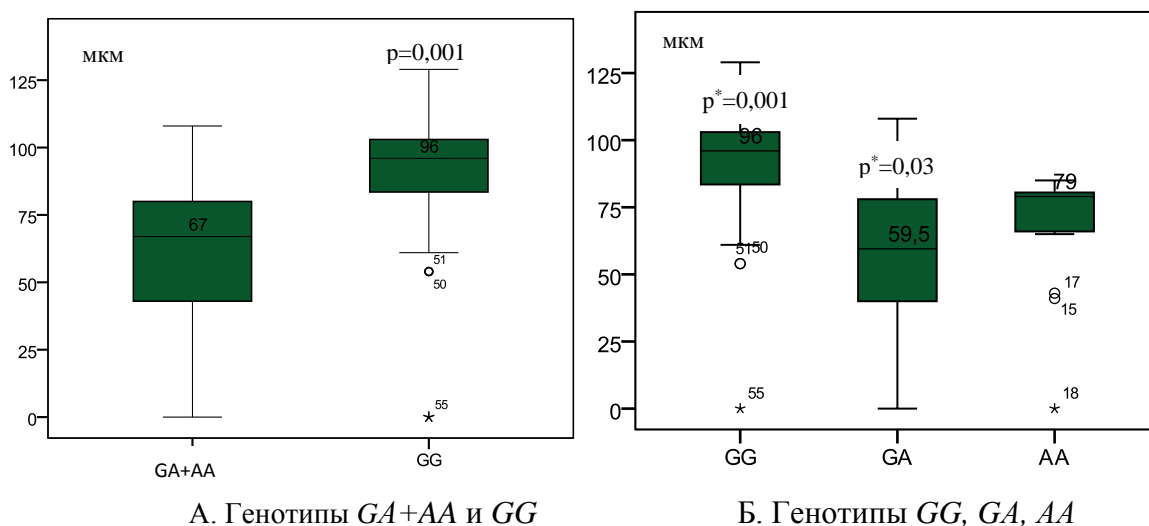
Примечание:  $p^*$  – различия по сравнению с группой AA (критерий Крускала-Уоллиса, Дана, Дункана)

Рисунок 13 – Влияние полиморфизма гена *FHO-α* (308)  $G>A$  на уровень внутриглазного давления у пациентов с ПОУГ

Уровни ВГД у обладателей генотипа  $G308G$  оказались равными 21 [20,0; 22,0] мм рт. ст., статистически значимых различий по сравнению с носителями аллеля  $308A$  ( $GA+AA$ ) не выявлено (рисунок 13 Б).

Показатели ВГД наиболее высокими были у респондентов генотипа  $A308A$  – 25,0 [20,0; 27,0] мм рт. ст., статистически значимые различия определялись по сравнению с генотипом  $G308G$  – 21,0 [20,0; 22,0] мм рт. ст.,  $p=0,02$ , но не  $G308A$  – 22,0 [19,5; 23,5] мм рт. ст.,  $p=0,64$ .

Средняя толщина слоя нервных волокон у обладателей редкого аллеля  $308A$  и генотипов  $G308A$  и  $A308A$  оказалась существенно меньше – 67 [43,0; 80,0] мкм, чем у респондентов  $G308G$  – 96 [81,0; 101,0] мкм,  $p=0,001$  (рисунок 14 А).



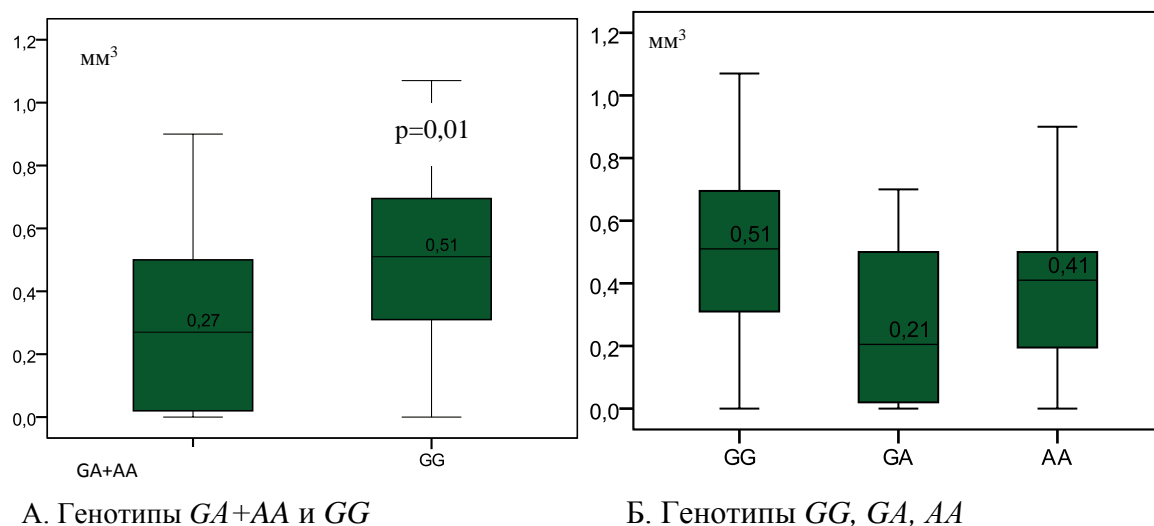
Примечание:  $p$  – различия между группами с генотипами GG и GA+GA (критерий Манна – Уитни),  $p^*$  – различия по сравнению с группой AA (критерий Крускала-Уоллиса, Дана, Дункана)

Рисунок 14 – Влияние полиморфизма гена  $\Phi HO-\alpha$  (308)  $G>A$  на показатели толщины слоя нервных волокон у пациентов ПОУГ

Наиболее низкие показатели СНВС определялись у пациентов генотипом  $A308A$  – 79,0 [65,0; 80,0] мкм, статистически значимые различия определены по отношению к генотипу  $G308G$  – 96 [81,0; 101,0] мкм,  $p=0,001$  и  $G308A$  – 59,5 [40,0; 78,0] мкм,  $p=0,03$  (рисунок 14 Б).

Аналогичные закономерности установлены при сопоставлении показателей объема и площади нейроретинального пояска. Объем нейроретинального пояска у респондентов генотипов  $G308A+ A308A$  составил 0,27 [0,02; 0,50] мм<sup>3</sup>, что было достоверно меньше, чем у обладателей  $G308G$  – 0,51 [0,31; 0,66] мм<sup>3</sup>,  $p=0,01$  (рисунок 15 А).

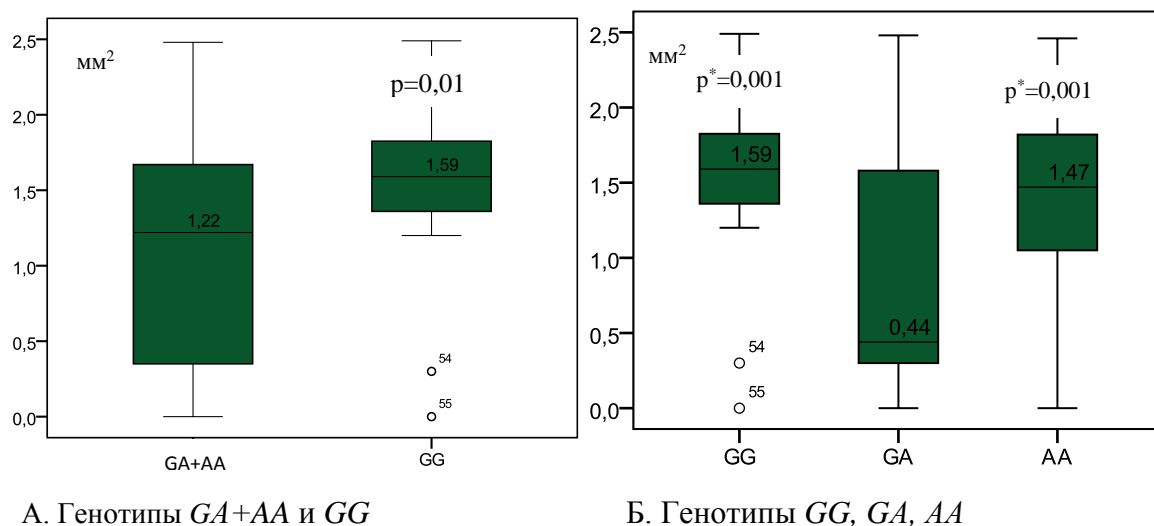
Показатели объема НРП у обладателей  $A308A$  оказались равными 0,41 [0,19 – 0,45] мм<sup>3</sup>,  $G308A$  – 0,21 [0,02; 0,50] мм<sup>3</sup>,  $G308G$  – 0,51 [0,31; 0,66] мм<sup>3</sup>, однако различия были статистически не значимы (рисунок 15 Б).



Примечание: p – различия между группами с генотипами GG и GA+GA (критерий Манна – Уитни)

Рисунок 15 – Влияние полиморфизма гена *ФНО-α (308) G>A* на показатели объема нейроретинального пояса у пациентов с ПОУГ

Медиана площади НРП у обладателей мутантного аллеля *308A* и генотипов *G308A* и *A308A* равнялась 1,22 [0,33; 1,61] мм<sup>2</sup>, у респондентов распространенного генотипа *G308G* – 1,59 [1,36; 1,82] мм<sup>2</sup>, p=0,01 (рисунок 16 А).



Примечание: p – различия между группами с генотипами GG и GA+GA (критерий Манна – Уитни). p\* – различия по сравнению с группой GA (критерий Крускала-Уоллиса, Дана, Дункана)

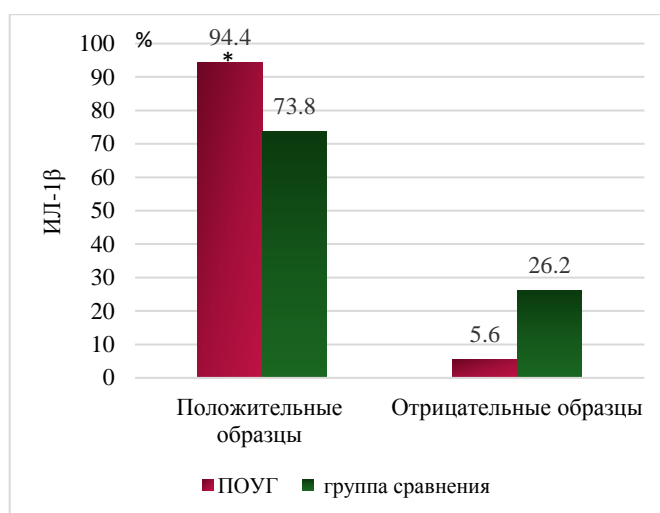
Рисунок 16 – Влияние полиморфизма гена *ФНО-α (308) G>A* на показатели площади нейроретинального пояса у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой

Показатели площади НРП были наименьшими в группе с генотипом *G308A* – 0,44 [0,30; 1,58] мм<sup>2</sup>, достоверные отличия наблюдались по сравнению с генотипом – *G308G* – 1,59 [1,36; 1,82],  $p=0,001$  и *A308A* – 1,47 [1,05; 1,64] мм<sup>2</sup>,  $p=0,001$  (рисунок 16 Б).

Таким образом, ФНО- $\alpha$  определялся при первичной открытоугольной глаукоме чаще, чем в группе сравнения и характеризовался более высокими показателями в слезной жидкости. Статистически значимое увеличение риска развития ПОУГ наблюдалось у пациентов с высокими показателями ФНО- $\alpha$ , превышающими 165 пкг/мл. Установлена отрицательная корреляционная взаимосвязь средней силы между уровнем ФНО- $\alpha$  и средней толщиной слоя нервных волокон, очень низкая – объемом нейроретинального пояска и уровнем внутриглазного давления. У пациентов с первичной открытоугольной глаукомой русской национальности выявлено преобладание мутантного аллеля *308A* и генотипов *G308A* и *A308A*. Установлены высокая продукция ФНО- $\alpha$ , а также низкие показатели толщины слоя нервных волокон, объем и площадь нейроретинального пояска у респондентов аллеля *A* и генотипов ФНО- $\alpha$  *G308A+A308A*. Наиболее высокие показатели ФНО- $\alpha$  и уровня внутриглазного давления определялись у пациентов с гомозиготным генотипом по редкому аллелю *A308A*, наиболее низкие показатели средней толщины нервных волокон – в группах с гомозиготным по редкому аллелю генотипом – *A308A*.

### **3.2. Интерлейкин-1 $\beta$ и полиморфизм гена *ИЛ-1 $\beta$* (-31 T>C) при первичной открытоугольной глаукоме**

Частота выявления ИЛ-1 $\beta$  в слезной пленке у пациентов с ПОУГ составила 94,4% (101 положительный результат из 107), в группе сравнения – 73,8% (31 положительный результат из 42),  $p<0,001$  (рисунок 17).



Примечание: ПОУГ – первичная открытоугольная глаукома, по оси абсцисс: положительные образцы – образцы слезной жидкости, в которых ИЛ-1β определялся, отрицательные образцы – образцы слезной жидкости, в которых ИЛ-1β был ниже определяемых значений; по оси ординат: частота (%), \* –  $p < 0,001$ , значимость различий между группами (критерий  $\chi^2$  Пирсона)

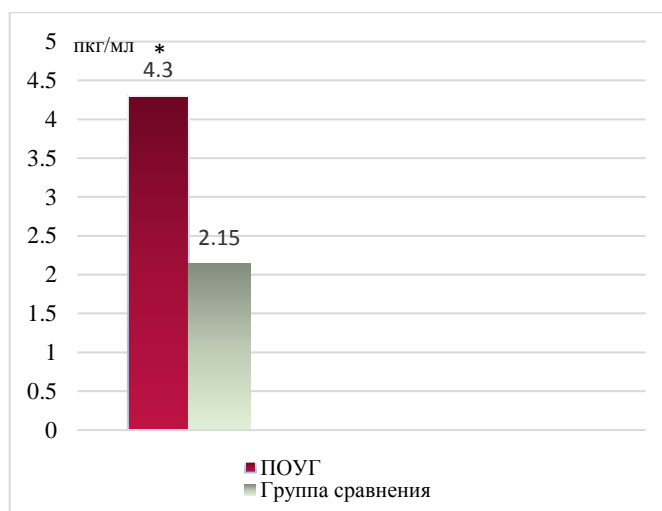
Рисунок 17 – Частота выявления ИЛ-1β в слезной жидкости у больных с ПОУГ и в группе сравнения

В группе с развитой глаукомой показатели ИЛ-1β были выше неопределяемых значений в 92,9% случаев, далекозашедшей глаукомой – 93,3%, терминальной глаукомой – 100%, группе сравнения – 73,8%, статистически значимых различий не установлено (таблица 8).

При исследовании ИЛ-1β в образцах слезной жидкости пациентов с первичной открытоугольной глаукомой определялись более высокие показатели, чем в группе сравнения (4,30 [1,85; 6,70] пкг/л и 2,15 [0; 3,70] пкг/л соответственно,  $p=0,001$ ) (рисунок 18).

Таблица 8 – Частота выявления ИЛ-1β в образцах слезной жидкости у больных с различными стадиями первичной открытоугольной глаукомы

ПОУГ II стадия n= 56 глаз	ПОУГ III стадия, n= 30 глаз	ПОУГ IV стадия, n= 21 глаз	Группа сравнения, n= 42 глаза
52/56 (92,9%)	28/30 (93,3%)	21/21 (100%)	36/42 (73,8%)



Примечание: \* –  $p < 0,001$ , значимость различий между группами (критерий Манна-Уитни)

Рисунок 18 – Показатели ИЛ-1 $\beta$  в слезной жидкости у больных с первичной открытоугольной глаукомой и в группе сравнения

Статистически значимые различия по отношению к группе сравнения определялись для ПОУГ второй и четвертой стадий (таблица 9). Уровень ИЛ-1 $\beta$  был выше в группе с далекозашедшей глаукомой, однако достоверных различий в зависимости от стадии установлено не было.

Таблица 9 – Показатели ИЛ-1 $\beta$  в слезной жидкости у больных с различными стадиями первичной открытоугольной глаукомы

Группа	Показатели, пкг/мл	P
ПОУГ II стадия (n=56) M <sub>e</sub> (25-75 перцентиль)	4,10 [1,60; 6,70]	p=0,01
ПОУГ III стадия (n=30) M <sub>e</sub> (25-75 перцентиль)	3,35 [0,90; 6,10]	p=0,17
ПОУГ IV стадия (n=21) M <sub>e</sub> (25-75 перцентиль)	6,25 [3,90; 7,20]	p=0,001
Группа сравнения (n=42) M <sub>e</sub> (25-75 перцентиль)	2,15 [0; 3,70]	

Примечание: P – достоверность различий с группой сравнения (критерий Крускала-Уоллиса, Дана, Дункана), n – число образцов слезной жидкости

При оценке влияния синтеза ИЛ-1 $\beta$  на развитие первичной открытоугольной глаукомы показатели ИЛ-1 $\beta$  были распределены на квартили с точками отсечения – 1,85 пкг/мл (первый квартиль или менее, чем 25-й перцентиль), 1,85-6,70 пкг/мл

(второй квартиль или 25-75-й процентиль), 6,70 пкг/мл (третий квартиль или более, чем 75% процентиль) (таблица 10).

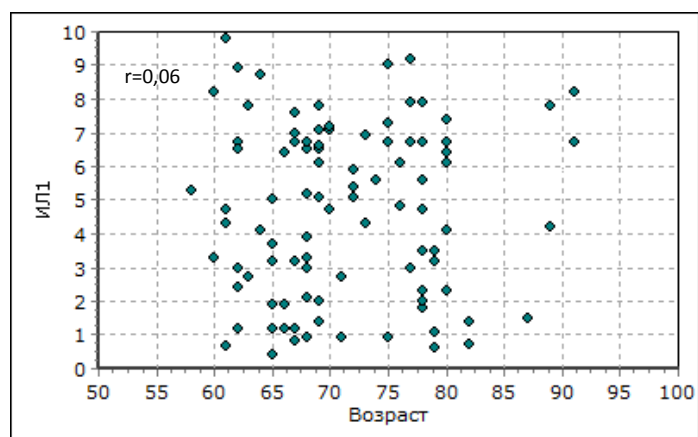
Увеличение риска развития заболевания отмечалось у пациентов со средними (OR = 1,64, CI= 0,80-3,37) и высокими показателями ИЛ-1 $\beta$  (OR=1,81, CI=0,63-5,16). Однако различия в группах ПОУГ и сравнения, имеющих средние (55,1 и 42,9%) и высокие (19,6 и 11,95%) показатели ИЛ-1 $\beta$  оказались статистически не значимы (таблица 10).

Таблица 10 – Риск развития ПОУГ в зависимости от квартильного распределения показателей ИЛ-1 $\beta$  в слезной жидкости

ИЛ-1 $\beta$ (пкг/мл), распределение по квартилям	ПОУГ	Группа сравнения	OR (95% CI)	p ( $\chi^2$ )
<25-й процентиль (1,85 пкг/мл)	27/107 (25,2%)	19/42 (45,2%)	0,41 (0,19-0,86)	p=0,02
25-75-й процентиль (1,85-6,70 пкг/мл)	59/107 (55,1%)	18/42 (42,9%)	1,64 (0,80-3,37)	p=0,18
>75-й процентиль (6,70 пкг/мл)	21/107 (19,6%)	5/42 (11,9%)	1,81 (0,63-5,16)	p=0,26

Примечание: p – значимость различий между группами (критерий  $\chi^2$ ), OR – отношение шансов, CI – 95% доверительный интервал

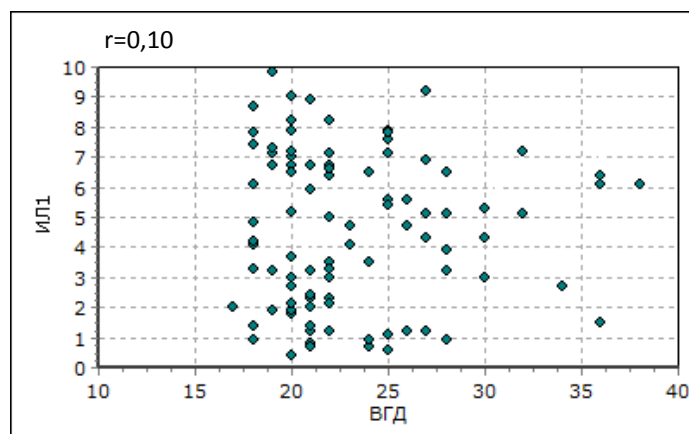
Для установления взаимосвязи показателей выполнен корреляционный анализ между уровнем ИЛ-1 $\beta$  в слезной жидкости и клинико-инструментальными характеристиками (возраст, значения ВГД, толщина слоя нервных волокон сетчатки, объем и площадь нейроретинального пояска). Показатели ИЛ-1 $\beta$  не коррелировали с возрастом больных ПОУГ ( $r=0,06$ ,  $p=0,55$ ) (рисунок 19).



Примечание:  $r$  – коэффициент корреляции Пирсона

Рисунок 19 – Диаграмма рассеяния ИЛ-1 $\beta$  в слезной жидкости в зависимости от возраста у больных с первичной открытоугольной глаукомой

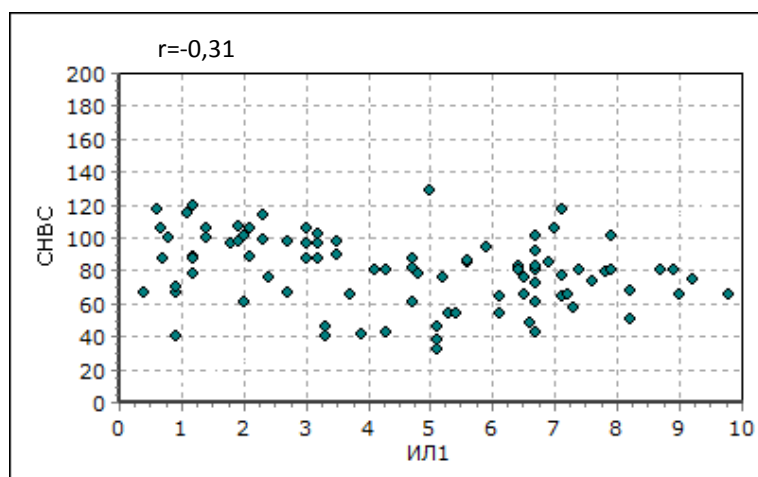
Не выявлено взаимосвязи между уровнем внутриглазного давления и показателями ИЛ-1 $\beta$  ( $k=0,10$ ;  $p=0,31$ ) (рисунок 20).



Примечание:  $r$  – коэффициент корреляции Пирсона

Рисунок 20 – Диаграмма рассеяния ВГД в зависимости от уровня ИЛ-1 $\beta$  в слезной жидкости у больных с первичной открытоугольной глаукомой

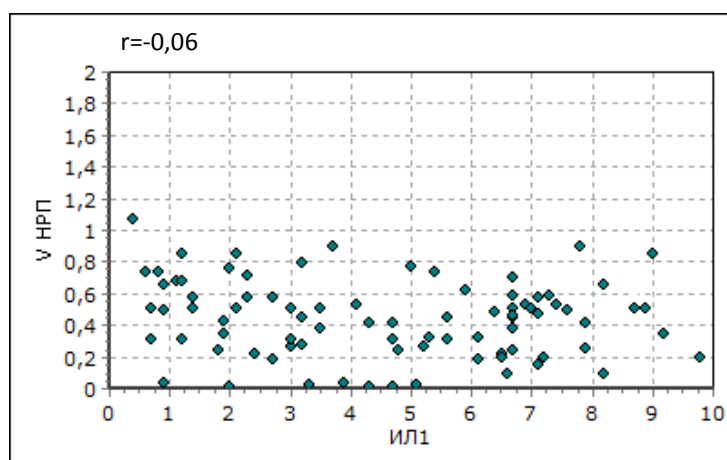
Уменьшение толщины слоя нервных волокон имело умеренную отрицательную взаимосвязь с уровнем ИЛ-1 $\beta$  в слезной жидкости больных с ПОУГ ( $r=-0,36$ ,  $p=0,0001$ ) (рисунок 21).



Примечание:  $r$  – коэффициент корреляции Пирсона

Рисунок 21 – Диаграмма рассеяния СНВС в зависимости от уровня ИЛ-1 $\beta$  в слезной жидкости у больных с первичной открытоугольной глаукомой

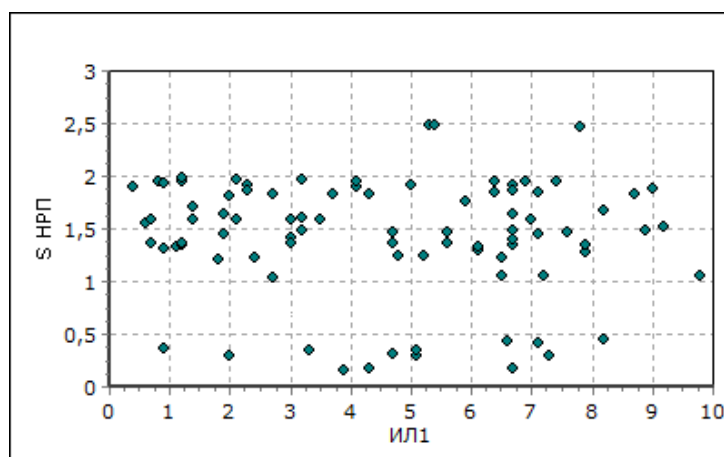
Не получено статистически значимой корреляционной взаимосвязи между уровнем ИЛ-1 $\beta$  в слезной жидкости и объемом нейроретинального пояска ( $r=-0,06$ ,  $p=0,51$ ) (рисунок 22).



Примечание:  $r$  – коэффициент корреляции Пирсона

Рисунок 22 – Диаграмма рассеяния объема НРП в зависимости от уровня ИЛ-1 $\beta$  в слезной жидкости у больных с ПОУГ

Показатели ИЛ-1 $\beta$  не были взаимосвязаны с площадью нейроретинального пояска (коэффициент корреляции Пирсона – 0,18,  $p=0,06$ ) (рисунок 23).



Примечание:  $r$  – коэффициент корреляции Пирсона

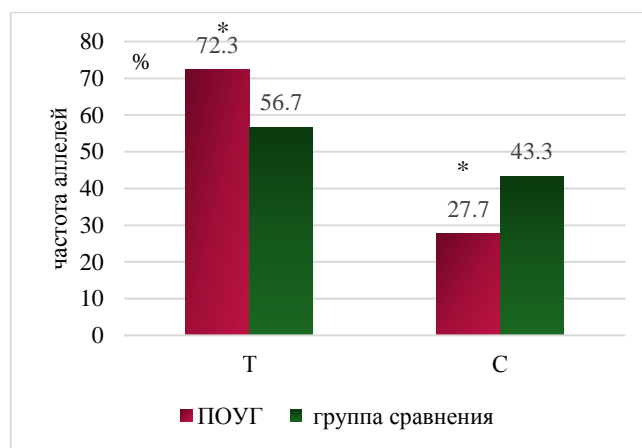
Рисунок 23 – Диаграмма рассеяния площади НРП в зависимости от уровня ИЛ-1 $\beta$  в слезной жидкости у больных с ПОУГ

При анализе аллелей и генотипов полиморфизма *ИЛ-1 $\beta$*  (-31  $T > C$ ) (rs1143627) выявлено увеличение распространенности дикого аллеля -31  $T$  у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой по отношению к группе сравнения (72,3% и 56,7%,  $p=0,04$ ), показатели риска развития ПОУГ у резидентов которого составили – 1,99 (1,04-3,86),  $p=0,04$  (таблица 11, рисунок 24).

Таблица 11 – Риск развития первичной открытоугольной глаукомы в зависимости от распределения аллелей и генотипов *ИЛ-1 $\beta$*  (-31)  $T > C$

	Аллели и генотипы					
	<i>TT</i>	<i>TC</i>	<i>CC</i>	<i>TT+TC</i>	<i>T</i>	<i>C</i>
ПОУГ (n=56)	32/56 (57,1%)	17/56 (30,4%)	7/56 (12,5%)	49/56 (87,5%)	81/112 (72,3%)	31/112 (27,7%)
Группа сравнения (n=30)	10/30 (33,3%)	14/30 (46,7%)	6/30 (20,0%)	24/30 (80,0%)	34/60 (56,7%)	26/60 (43,3%)
OR	2,67	0,50	0,61	1,75	1,99	0,50
95% CI	1,06-6,72	0,19-1,25	0,17-1,89	0,53-5,78	1,04-3,86	0,26-0,97
$\chi^2$	0,04	0,13	0,36	0,36	0,04	0,04

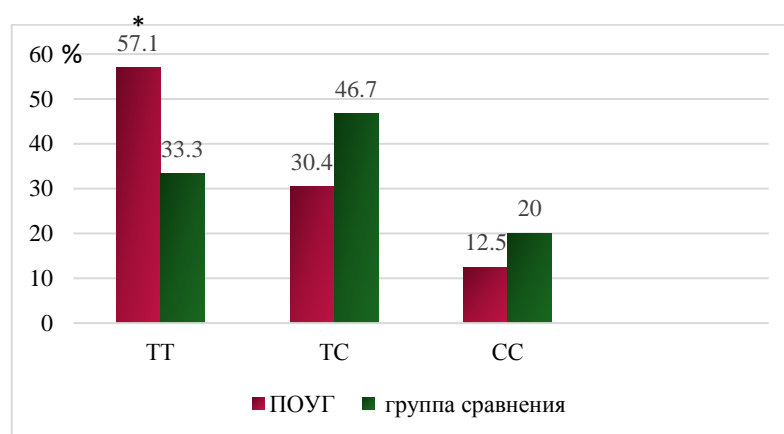
Примечание: n – число пациентов, p – значимость различий между группами (критерий  $\chi^2$ ), OR – отношение шансов, CI – 95% доверительный интервал



Примечание: ПОУГ – первичная открытоугольная глаукома, по оси абсцисс: аллели; по оси ординат: частота (%), \* –  $p < 0,05$ , значимость различий между группами (критерий  $\chi^2$ )

Рисунок 24 – Распределение аллелей *ИЛ-1 $\beta$  T31C* у пациентов с ПОУГ и в группе сравнения

Обладание редким аллелем *C* характеризовалось протективным эффектом (OR=0,50; 95% ДИ 0,26–0,97;  $p=0,04$ ). У больных с ПОУГ более частым, чем в группе сравнения был гомозиготный по распространенному аллелю генотип *T(-31)T* (57,1% и 33,3%,  $p=0,04$ ) (таблица 11, рисунок 24). Увеличение риска ПОУГ у респондентов *T(-31)T* составило 2,67 (1,06-6,72),  $p=0,04$  (таблица 11, рисунок 25).



Примечание: ПОУГ – первичная открытоугольная глаукома, по оси абсцисс: генотипы; по оси ординат: частота (%), (%), \* –  $p < 0,05$ , значимость различий между группами (критерий  $\chi^2$  Пирсона)

Рисунок 25 – Распределение генотипов *ИЛ-1 $\beta$  T31C* у пациентов с ПОУГ и в группе сравнения

Встречаемость гетерозиготного  $T(-31)C$  и гомозиготного  $C(-31)C$  по редкому аллелю генотипов в группе ПОУГ была ниже, чем в группе сравнения, однако различия оказались статистически не значимы (рисунок 25).

У пациентов, обладающих генотипами высокой экспрессии ИЛ-1 ( $TT+TC$ ) определялось увеличение вероятности развития заболевания (OR= 1,75; 95% CI: 0,53–5,78;  $p=0,36$ ), однако различия были статистически не значимы.

Вероятность развития ПОУГ для гомозигот и гетерозигот или только для гомозигот не возрастала в доминантной и рецессивной моделях (таблица 12).

Таблица 12 – Доминантная и рецессивная модели распределения генотипов гена  $ИЛ-1\beta$  (rs1143627) у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой

Модель	Генотип	ПОУГ (n=56)	Группа сравнения (n=30)	OR	95% CI	$\chi^2$
rs1143627 ИЛ-1 $\beta$ $T-31C$ доминантная	$TT$	32/56 (57,1%)	10/30 (33,3%)	0,38	0,15-0,95	$p=0,04$
	$TC+CC$	24/56 (42,9%)	20/30 (66,7%)			
rs1143627 ИЛ-1 $\beta$ $T-31C$ рецессивная	$TC+TT$	49/56 (87,5%)	24/30 (80,0%)	0,58	0,17-1,89	$p=0,36$
	$CC$	7/56 (12,5%)	6/30 (20,0%)			

Примечание: n – число пациентов, p – значимость различий между группами (критерий  $\chi^2$ ), OR – отношение шансов, CI – 95% доверительный интервал

Относительный риск развития глаукомы у обладателей  $A308A$  достигал 6,30 (95% CI: 0,77-51,9), у респондентов  $G308A$  – 3,60 (95% CI: 0,96-3,6). Обладание генотипами  $GA$  и  $AA$  существенно увеличивало вероятность развития ПОУГ (OR=5,85; CI: 1,81-18,9;  $p=0,003$ ), что подтверждалось в доминантной модели (OR=5,63; CI: 1,74-18,3;  $p=0,003$ ).

Для оценки взаимосвязи генного полиморфизма  $ИЛ-1\beta$  ( $-31 T>C$ ) и клинических характеристик пациентов с первичной открытоугольной глаукомой проведено сравнение показателей ИЛ-1 $\beta$ , уровня внутриглазного давления и данных оптической когерентной томографии в зависимости от полиморфизма аллелей и генотипов  $ИЛ-1\beta$   $-31 T>C$  (rs1143627). Изучено влияние аллеля  $-31 T$ , а

также гетерозиготного ( $T/C$ ) и гомозиготного по мажорному ( $T/T$ ) и минорному ( $C/C$ ) аллелю генотипов на инструментальные и лабораторные показатели.

У обладателей аллеля  $-31 T$  (генотипы  $T/T+T/C$ ) средний возраст больных с глаукомой был меньше и составил 69 [66,0; 74,0] лет, у резидентов генотипа  $-31 C/C$  – 78 [65,0; 75,5] лет, однако статистически значимых различий получено не было ( $p=0,16$ ) (рисунок 26 А).

Средний возраст пациентов с генотипом  $(-31) T/T$  был равен 70,0 [67,0; 75,0] лет,  $(-31) T/C$  – 68,5 [65,0; 72,0] лет,  $(-31) T/T$  – 78 [64,0; 83,0] лет, достоверных различий не установлено (рисунок 26 Б).

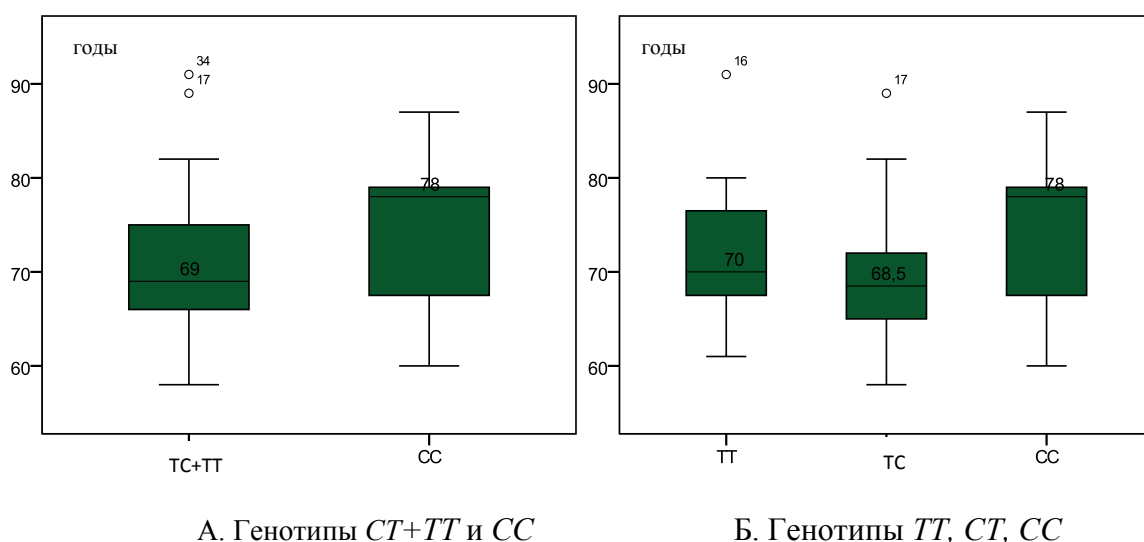
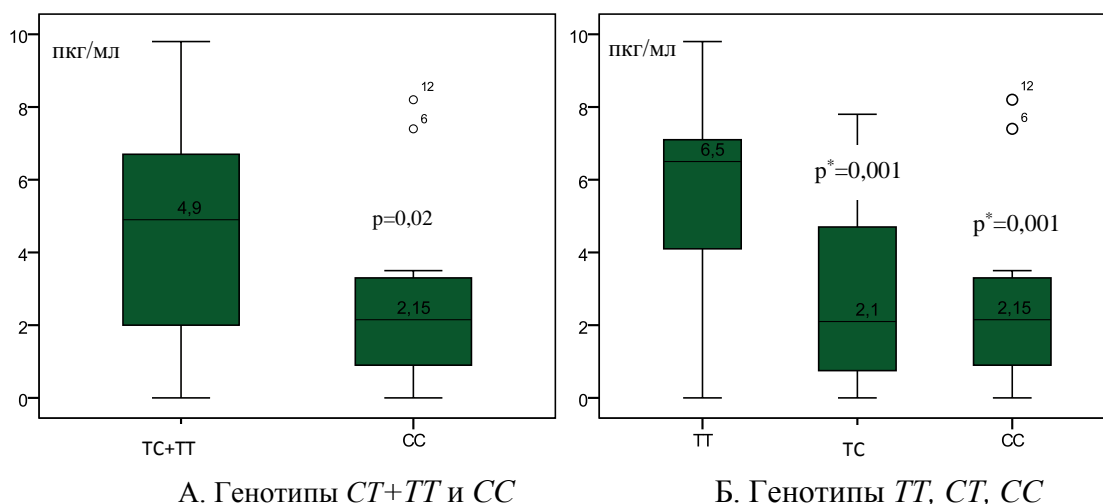


Рисунок 26 – Возраст пациентов с ПОУГ в зависимости от полиморфизма гена  $IL-1\beta (-31) T>C$

Показано влияние мажорного аллеля  $-31 T$  на показатели ИЛ-1 $\beta$  в слезной жидкости у пациентов с ПОУГ (рисунок 27).

У респондентов генотипа  $-31 C/C$  содержание ИЛ-1 $\beta$  было ниже – 2,15 [0,90; 3,30] пкг/мл, чем у обладателей аллеля  $-31 T$  и генотипов  $T/T+C/T$  – 4,90 [2,00; 6,70] пкг/мл,  $p=0,02$  (рисунок 27 А).

У пациентов с генотипом  $IL-1\beta (-31) T/T$  показатели ИЛ-1 $\beta$  были наиболее высокими – 6,50 [4,10; 7,00] пкг/мл, статистически значимые отличия определялись по отношению как к генотипу  $T/C$  2,10 [0,70; 4,20] пкг/мл,  $p=0,001$ , так и  $C/C$  2,15 [0,90; 3,30] пкг/мл,  $p=0,001$  (рисунок 27 Б).



Примечание:  $p$  – различия между группами с генотипами GG и GA+GA (критерий Манна – Уитни),  $p^*$  – различия по сравнению с группой TT (критерий Крускала-Уоллиса, Дана, Дункана)

Рисунок 27 – Влияние полиморфизма гена *ИЛ-1β* (-31)  $T>C$  на уровень ИЛ-1β у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой

При определении уровня внутриглазного давления у респондентов аллеля -31T и генотипов  $T/T+T/C$  в сравнении с -31C/C получены сопоставимые результаты (21 [21,5; 23,5] и 21,5 [20,0; 25,0] пкг/мл соответственно,  $p=0,47$ ) (рисунок 28 А).

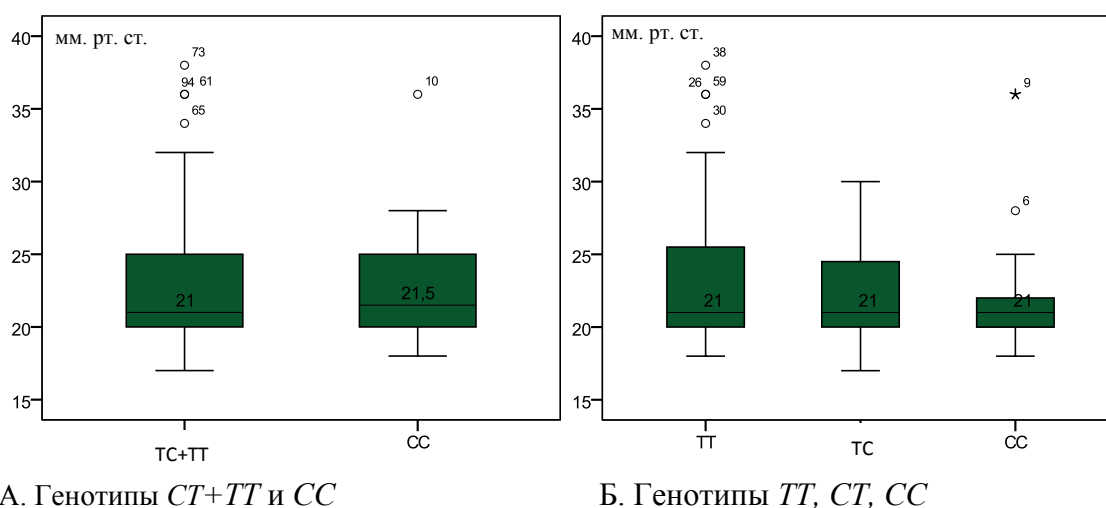
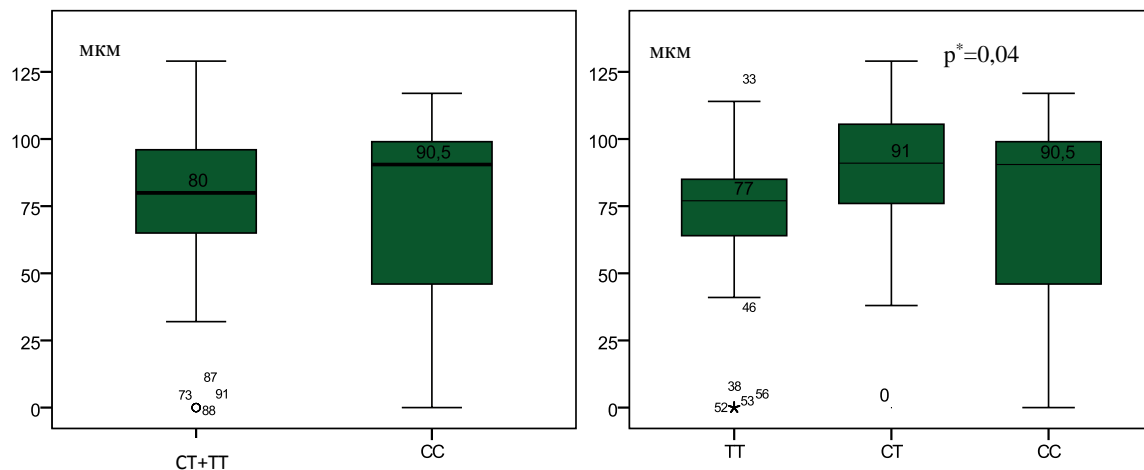


Рисунок 28 – Влияние полиморфизма гена *ИЛ-1β* (-31)  $T>C$  на уровень внутриглазного давления у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой

Не выявлено статистически значимых отличий в зависимости от генотипов -31T/T (28 [15,0; 40,0]), -31T/C (21 [20,0; 24,0]), -31C/C (21,5 [20,0; 25,0]) (рисунок 28

Б). Толщина слоя нервных волокон у резидентов  $TT+TC$  (rs1143627) составила 80 [65,0; 96,0] мкм, у обладателей  $CC$  (rs1143627) – 90,5 [46,0; 99,0] мкм, однако различия были статистически не значимы  $p=0,31$  (рисунок 29 А).



А. Генотипы  $CT+TT$  и  $CC$

Б. Генотипы  $TT$ ,  $CT$ ,  $CC$

Примечание:  $p^*$  – различия по сравнению с группой  $TT$  (критерий Крускала-Уоллиса, Дана, Дункана)

Рисунок 29 – Влияние полиморфизма гена  $IL-1\beta$  (-31)  $T>C$  на показатели толщины слоя нервных волокон у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой

Наименьшая толщина слоя нервных волокон определялась у респондентов  $TT$  (77 [64,0; 83,0] мкм), статистически значимые различия определялись по сравнению с генотипом  $CC$  (90,5 [46,0; 99,0] мкм),  $p=0,04$ , но не  $CT$  (87 [65,0; 100,0] мкм),  $p=0,62$  (рисунок 29 Б).

Объем нейроретинального пояса у обладателей аллеля  $-31T$  и генотипов  $TT$  +  $CT$  (0,42 [0,22; 0,53] мм<sup>3</sup>) не имел статистически значимых отличий от объема НРП у пациентов с генотипом  $C/C$  (0,46 [0,04; 0,71] мм<sup>3</sup>),  $p=0,37$  (рисунок 30 А).

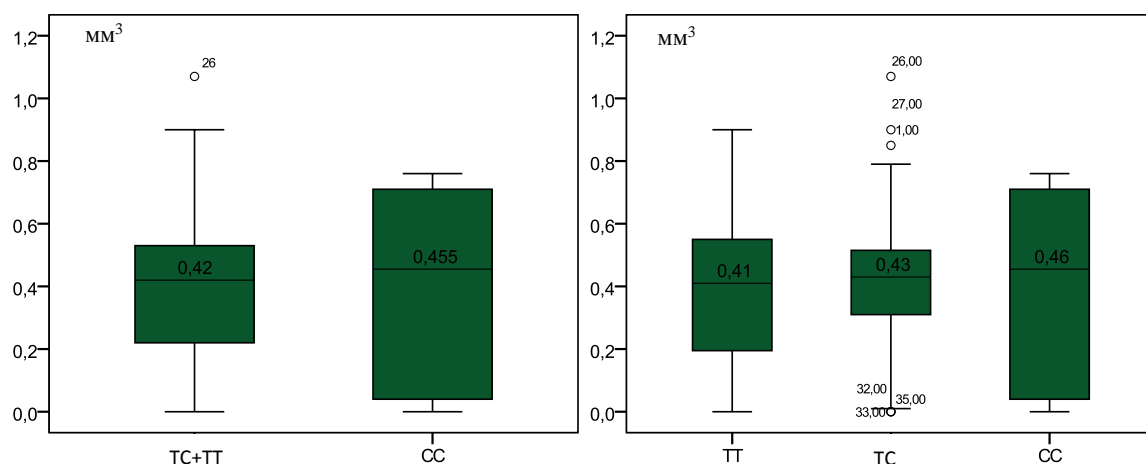
А. Генотипы *CT+TT* и *CC*Б. Генотипы *TT*, *TC*, *CC*

Рисунок 30 – Влияние полиморфизма гена *ИЛ-1β (-31) T>C* на показатели объема нейроретинального пояска у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой

Не выявлено достоверных различий объема НРП у больных, имеющих генотипы *TT* (0,41 [0,19; 0,53] мм<sup>3</sup>), *TC* (0,43 [0,31; 0,51] мм<sup>3</sup>), *CC* (0,46 [0,04; 0,71] мм<sup>3</sup>) (рисунок 30 Б).

Показатели площади нейроретинального пояска были сопоставимы у резидентов аллеля *T*, имеющих генотипы *-31T/T* и *-31T/C* (1,47 [1,22; 1,82]) и обладателей генотипа *-31C/C* (1,41[0,37; 1,76]),  $p=0,26$  (рисунок 31 А).

Площадь НРП имела наименьшие показатели у обладателей генотипа *-31T/T* (1,39 [1,05; 1,82] мм<sup>2</sup>), однако достоверных различий при сравнении с генотипом *31T/C* (1,59 [1,36; 1,76] мм<sup>2</sup>,  $p=0,23$ ) и *31C/C* (1,41 [0,37; 1,76] мм<sup>2</sup>,  $p=0,59$ ) получено не было (рисунок 31 Б).

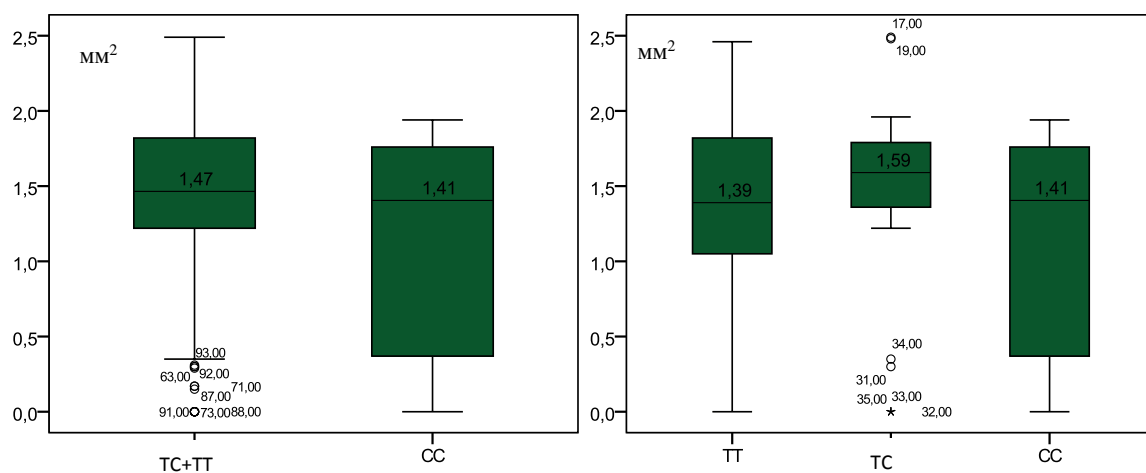
А. Генотипы *CT+TT* и *CC*Б. Генотипы *TT*, *CT*, *CC*

Рисунок 31 – Влияние полиморфизма гена *ИЛ-1β (-31) T>C* на показатели площади нейроретинального пояса у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой

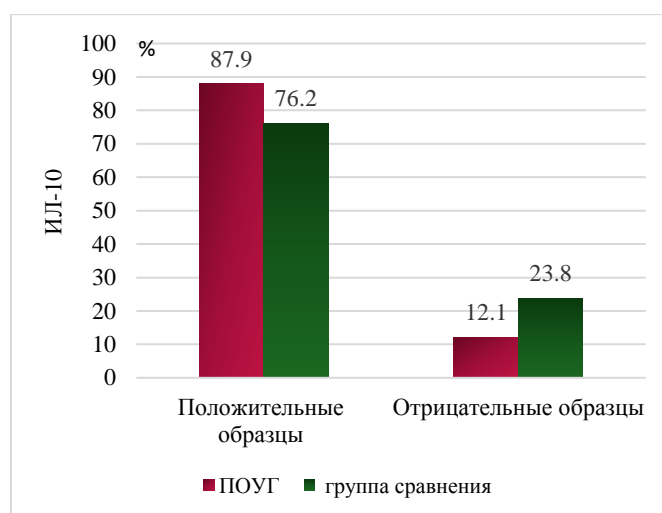
Таким образом, частота выявления ИЛ-1 $\beta$  и его содержание в слезной жидкости у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой были выше, чем в группе сравнения. Не установлено увеличения риска развития ПОУГ в зависимости от квартиля показателей ИЛ-1 $\beta$ .

Концентрация ИЛ-1 $\beta$  в слезной пленке не коррелировала с возрастом, уровнем внутриглазного давления, объемом и площадью нейроретинального пояса. Установлена умеренная отрицательная взаимосвязь между уровнем ИЛ-1 $\beta$  и средней толщиной слоя нервных волокон.

У пациентов с первичной открытоугольной глаукомой чаще, чем в группе сравнения встречался распространенный аллель *-31T* и гомозиготный по мажорному аллелю генотип *-31T/T*. Выявлено увеличение ИЛ-1 $\beta$  в слезной жидкости больных ПОУГ, являющихся носителями аллеля *-31T* и генотипа *-31T/T*. Наименьшая толщина слоя нервных волокон определялась у пациентов с генотипом *ИЛ-1β (-31) T/T*. Не установлено взаимосвязи между полиморфизмом *ИЛ-1β (-31) T>C* и уровнем внутриглазного давления, объемом и площадью нейроретинального пояса.

### 3.3. Интерлейкин-10 и полиморфизм гена *ИЛ-10* (592 C>A) при первичной открытоугольной глаукоме

Интерлейкин-10 был выше нижнего порога определения в 94 из 107 (87,9%) образцов слезной жидкости, что было сопоставимо с группой сравнения (76,2%) (32 из 42) (рисунок 32).



Примечание: ПОУГ – первичная открытоугольная глаукома, по оси абсцисс: положительные образцы – образцы слезной жидкости, в которых ФНО-α определялся, отрицательные образцы – образцы слезной жидкости, в которых ФНО-α был ниже определяемых значений; по оси ординат: частота (%)

Рисунок 32 – Частота выявления ИЛ-10 в слезной жидкости у больных с первичной открытоугольной глаукомой и в группе сравнения

У пациентов с развитой стадией первичной открытоугольной глаукомы ИЛ-10 был положительным в 83,8% образцов слезной жидкости, далекозашедшей – 90,0%, терминальной – 95,2% (таблица 13).

Таблица 13 – Частота выявления ИЛ-10 в образцах слезной жидкости у больных с различными стадиями первичной открытоугольной глаукомы

ПОУГ II стадия n= 56 глаз	ПОУГ III стадия n= 30 глаз	ПОУГ IV стадия n= 21 глаз	Группа сравнения n= 42 глаза
47/56 (83,9%)	27/30 (90,0%)	20/21 (95,2%)	32/42 (76,2%)

Средний уровень ИЛ-10 в образцах слезной жидкости пациентов с первичной открытоугольной глаукомой составил 7,60 [2,00; 11,30] пкг/л. Не выявлено статистически значимых различий по отношению к группе сравнения (5,60 [0,70; 11,40] пкг/л,  $p=0,10$ ) (рисунок 33).

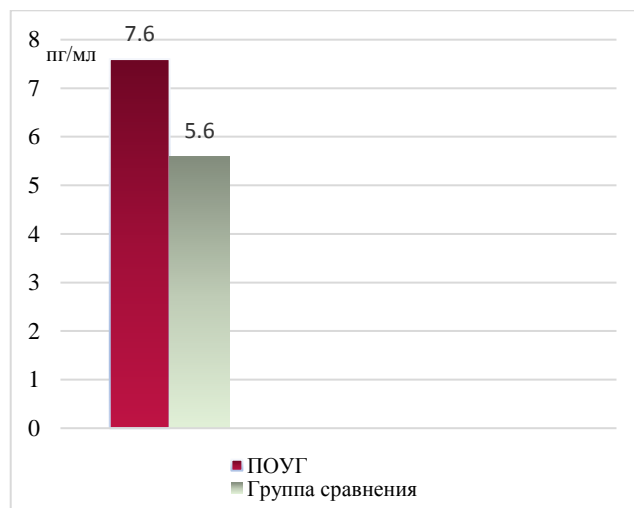


Рисунок 33 – Показатели ИЛ-10 в слезной жидкости у больных с первичной открытоугольной глаукомой и в группе сравнения

Медиана ИЛ-10 в группе с ПОУГ II (7,1 [2,0; 11,3] пкг/мл) была сопоставима с показателями в группах ПОУГ III (8,4 [3,4; 12,1] пкг/мл) и ПОУГ IV (7,3 [4,2; 13,4] пкг/мл), статистически значимых различий не установлено (таблица 14).

Таблица 14 – Показатели ИЛ-10 в слезной жидкости у больных с различными стадиями первичной открытоугольной глаукомы

Группа	Показатели, пкг/мл	P
ПОУГ II стадия (n=56) M <sub>e</sub> (25-75 перцентиль)	7,1 [2,0; 11,3]	p=0,44
ПОУГ III стадия (n=30) M <sub>e</sub> (25-75 перцентиль)	8,4 [3,4; 12,1]	p=0,41
ПОУГ IV стадия (n=21) M <sub>e</sub> (25-75 перцентиль)	7,3 [4,2; 13,4]	p=0,39
Группа сравнения (n=42) M <sub>e</sub> (25-75 перцентиль)	5,6 [0,7; 11,4]	
Примечание: p – достоверность различий с группой сравнения (критерий Крускала-Уоллиса, Дана, Дункана), n – число образцов слезной жидкости		

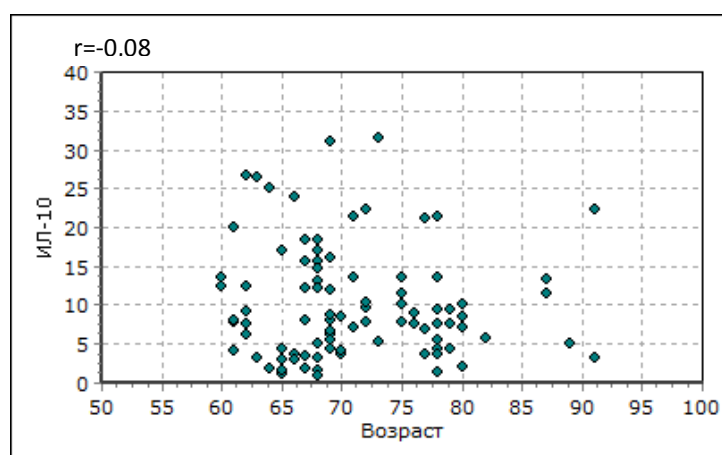
При разделении показателей ИЛ-10 на квартили (первый квартиль менее 3,25 пкг/мл, второй – 3,25-12,40 пкг/мл, третий – более 12,40 пкг/мл), риск развития заболевания у пациентов с низкими, средними и высокими показателями достоверно не возрастал (таблица 15).

Таблица 15 – Риск развития первичной открытоугольной глаукомы в зависимости от квартильного распределения показателей TNF $\alpha$  в слезной жидкости

TNF $\alpha$ (пкг/мл), распределение по квартилям	ПОУГ	Группа сравнения	OR (95% CI)	p ( $\chi^2$ )
<25-й квартиль (45 пкг/мл)	27/107 (25,2%)	15/42 (35,7%)	0,61 (0,28-1,31)	p=0,20
25-75-й квартиль (45-165 пкг/мл)	56/107 (52,3%)	18/42 (42,9%)	1,46 (0,71-3,0)	p=0,29
>75-й квартиль (165 пкг/мл)	24/107 (22,4%)	9/42 (21,4%)	1,06 (0,45-2,52)	p=0,89

Примечание: p – значимость различий между группами (критерий  $\chi^2$ ), OR – отношение шансов, CI – 95% доверительный интервал

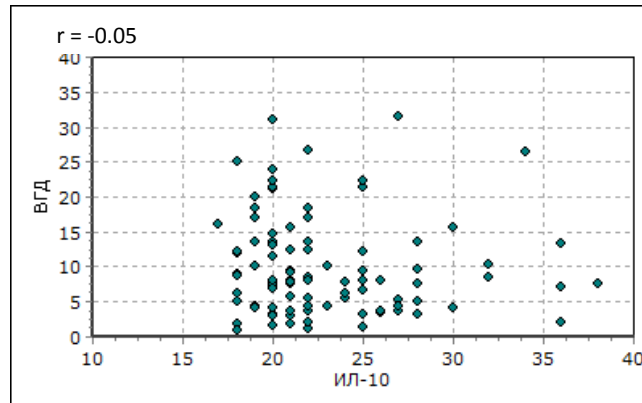
Не выявлено статистически значимой корреляционной взаимосвязи между уровнем ИЛ-10 и возрастом пациентов с ПОУГ, коэффициент корреляции Пирсона составил -0,08, p=0,46 (рисунок 34).



Примечание: r – коэффициент корреляции Пирсона

Рисунок 34 – Диаграмма рассеяния ИЛ-10 в слезной жидкости в зависимости от возраста у больных с первичной открытоугольной глаукомой

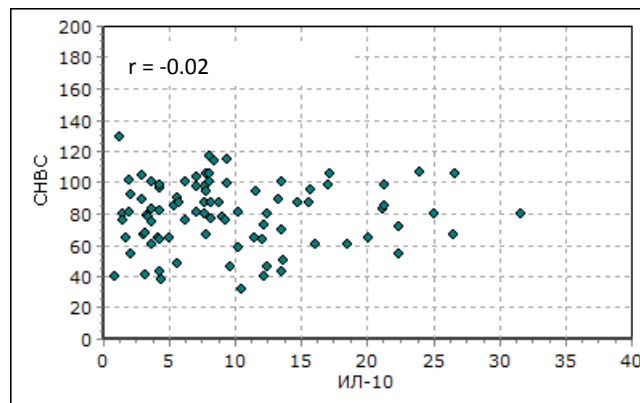
Показатели внутриглазного давления не коррелировали с уровнем ИЛ-10 в слезной жидкости ( $r=-0,05$ ,  $p=0,64$ ) (рисунок 35).



Примечание:  $r$  – коэффициент корреляции Пирсона

Рисунок 35 – Диаграмма рассеяния ВГД в зависимости от уровня ИЛ-10 в слезной жидкости у больных с первичной открытоугольной глаукомой

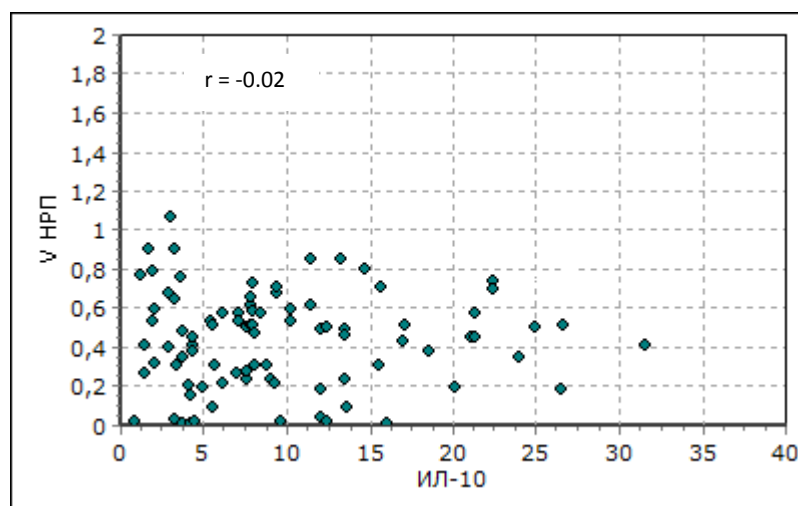
Не установлено достоверной взаимосвязи между толщиной слоя нервных волокон и показателями ИЛ-10 в слезной жидкости ( $r=-0,02$ ,  $p=0,82$ ) (рисунок 36).



Примечание:  $r$  – коэффициент корреляции Пирсона

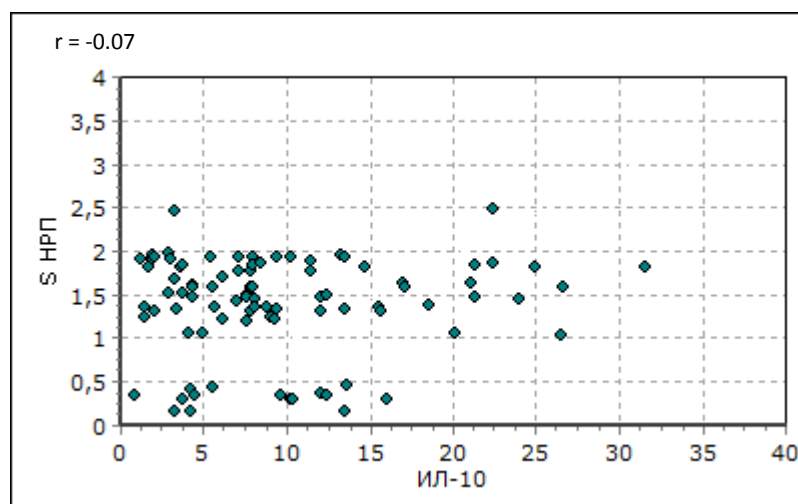
Рисунок 36 – Диаграмма рассеяния СНВС в зависимости от уровня ИЛ-10 в слезной жидкости у больных с первичной открытоугольной глаукомой

Аналогичные данные получены при определении корреляционной зависимости между объемом нейроретинального пояса ( $r=-0,02$ ,  $p=0,98$ ) и его площадью ( $r=-0,07$ ,  $p=0,51$ ), рисунки 37, 38.



Примечание: r – коэффициент корреляции Пирсона

Рисунок 37 – Диаграмма рассеяния объема НПП в зависимости от уровня ИЛ-10 в слезной жидкости у больных с первичной открытоугольной глаукомой



Примечание: r – коэффициент корреляции Пирсона

Рисунок 38 – Диаграмма рассеяния площади НПП в зависимости от уровня ИЛ-10 в слезной жидкости у больных с первичной открытоугольной глаукомой

В составе панели исследования генного полиморфизма проведено изучение SNP *ИЛ-10* 592 C/A (rs1800872) при первичной открытоугольной глаукоме. При распределении частот генотипов SNP *ИЛ-10* 592 C>A получено отклонение от равновесия Харди-Вайнберга ( $\chi^2=20,6$ ,  $p<0,01$ ) вследствие различий между регистрируемой и ожидаемой гетерозиготностью.

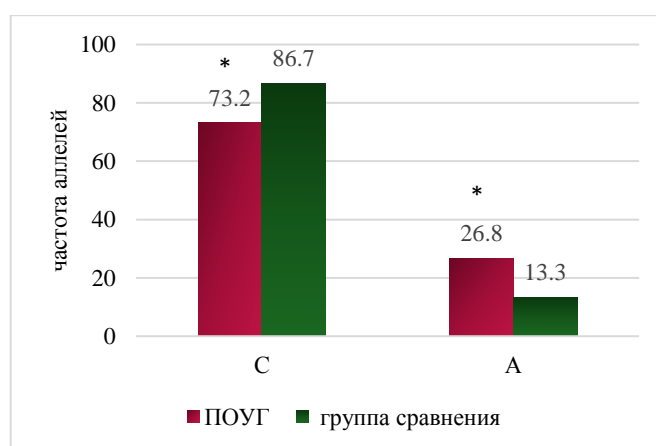
Анализ частот аллелей и генотипов SNP *ИЛ-10* 592 C/A представлен в таблице 16 и на рисунках 39, 40. Установлено преимущественное распространение

мажорного аллеля *592/C* как у пациентов с ПОУГ (73,2%), так и в группе сравнения (86,7%) (таблица 16, рисунок 39). Вместе с тем, его частота в группе ПОУГ была статистически значимо меньше ( $p=0,04$ ) в отличие от мутантного аллеля *592/A* (26,8% и 13,3%,  $p=0,04$ ), присутствие которого увеличивало риск диагноза ПОУГ – ОШ= 2,38 (95% CI: 1,01-5,59,  $p=0,04$ ).

Таблица 16 – Риск развития первичной открытоугольной глаукомы в зависимости от распределения аллелей и генотипов *ИЛ-10 (592) C>A*

	Аллели и генотипы					
	CC	CA	AA	CA+AA	C	A
ПОУГ (n=56)	30/56 (53,6%)	22/56 (39,3%)	4/56 7,1(%)	28/56 (50,0%)	82/112 (73,2%)	30/112 (26,8%)
Группа сравнения (n=30)	23/30 (76,7%)	6/30 (20,0%)	1/30 (3,3%)	7/30 (23,3%)	52/60 (86,7%)	8/60 (13,3%)
OR	0,35	2,44	2,23	3,29	0,42	2,38
95% CI	0,13-0,95	0,86-6,92	0,24-20,9	1,22-8,89	0,18-0,99	1,01-5,59
$\chi^2$	0,04	0,09	0,47	0,02	0,04	0,04

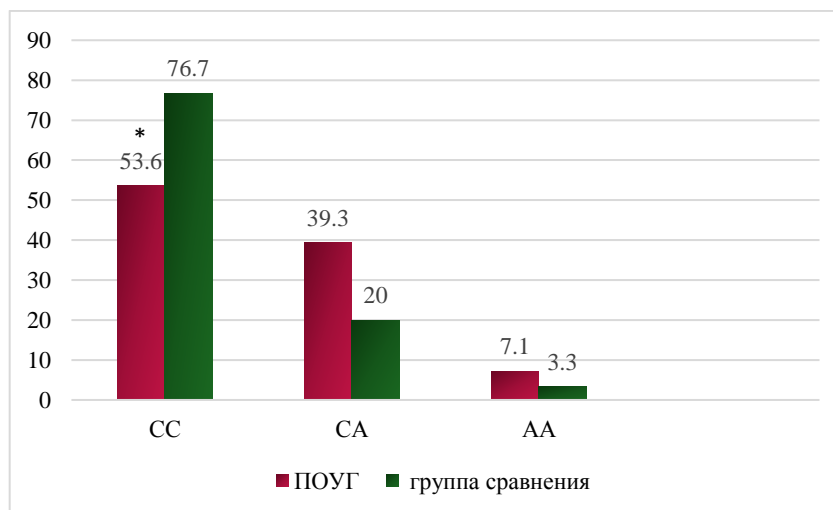
Примечание: n – число пациентов, p – значимость различий между группами (критерий  $\chi^2$ ), OR – отношение шансов, CI – 95% доверительный интервал



Примечание: ПОУГ – первичная открытоугольная глаукома, по оси абсцисс: аллели; по оси ординат: частота (%), (\* –  $p<0,05$ , значимость различий между группами (критерий  $\chi^2$ )).

Рисунок 39 – Распределение аллелей *ИЛ-10 C592A* у пациентов с ПОУГ и в группе сравнения

Гомозиготный по мажорному аллелю генотип *C592C* (rs1800872) встречался при ПОУГ в 1,4 раза реже ( $p=0,04$ ), чем в группе сравнения и может рассматриваться в роли протективного.



Примечание: ПОУГ – первичная открытоугольная глаукома, по оси абсцисс: генотипы; по оси ординат: частота (%), (\* –  $p < 0,05$ , значимость различий между группами (критерий  $\chi^2$ ))

Рисунок 40 – Распределение генотипов *ИЛ-10 C592A* у пациентов с ПОУГ и в группе сравнения

У пациентов с гетерозиготным генотипом *592 C/A* риск развития заболевания составил 2,44 (95% CI:0,86-6,92),  $p=0,09$ , у носителей гомозиготного по мутантному аллелю генотипа *592 A/A* – 2,23 (95% CI:0,24-20,9),  $p=0,47$ , однако межгрупповые различия распространенности указанных генотипов по отношению к группе сравнения не были статистически значимы (таблица 16).

При этом у обладателей редкого аллеля (генотипы *592C/A+592A/A*) вероятность возрастала до 3,29 (95% CI:1,22-8,89),  $p=0,02$ , что было статистически подтверждено в доминантной модели (OR=2,85, CI:1,05-7,71,  $p=0,04$ ) (таблица 17).

Таблица 17 – Доминантная и рецессивная модели распределения генотипов гена *ИЛ-10* (rs1800872) у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой

Модель	Генотип	ПОУГ (n=56)	Группа Сравнения (n=30)	OR	95% CI	$\chi^2$
rs1800872 ИЛ-10 C592A доминантная	CC	30/56 (53,6%)	23/30 (76,7%)	2,85	1,05-7,71	p=0,04
	CA+AA	26/56 (46,4%)	7/30 (23,3%)			
rs1800872 ИЛ-10 C592A рецессивная	CA+CC	52/56 (92,9%)	29/30 (96,7%)	2,23	0,24-20,9	p=0,47
	AA	4/56 (7,1%)	1/30 (3,3%)			

Примечание: n – число пациентов, p – значимость различий между группами (критерий  $\chi^2$ ), OR – отношение шансов, CI – 95% доверительный интервал

Проведено сравнение показателей ИЛ-10 в слезной жидкости, а также данных оптической когерентной томографии у пациентов с ПОУГ – респондентов мутантного аллеля *ИЛ-10* 592A (генотипы *C592A*+ *A592A*) и обладателей только распространенного аллеля *ИЛ-10* 592C (генотип *C592C*). Количество проб слезной жидкости пациентов с ПОУГ, имеющих генотип *ИЛ-10* *C592C* составило 56, *ИЛ-10* *C592A* – 43, *ИЛ-10* *A592A* – 8. Медиана возраста у обладателей аллеля 592A (*AA*+*CA*) была сопоставима с таковой у резидентов распространенного в популяции генотипа *C592C* – 69,5 [67,0; 75,0] лет и 69 [65,0; 77,5] лет соответственно (p=0,45) (рисунок 41).

Не удалось осуществить сопоставление показателей возраста в зависимости от генотипов *C592C*, *C592A* и *A592A* в связи с недостаточным количеством пациентов, имеющих гомозиготный по редкому аллелю генотип (4 пациента).

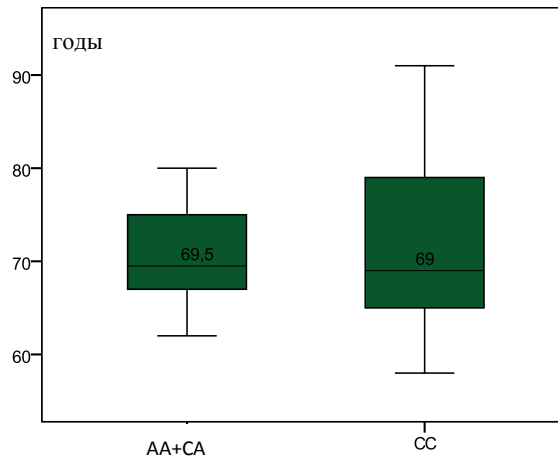
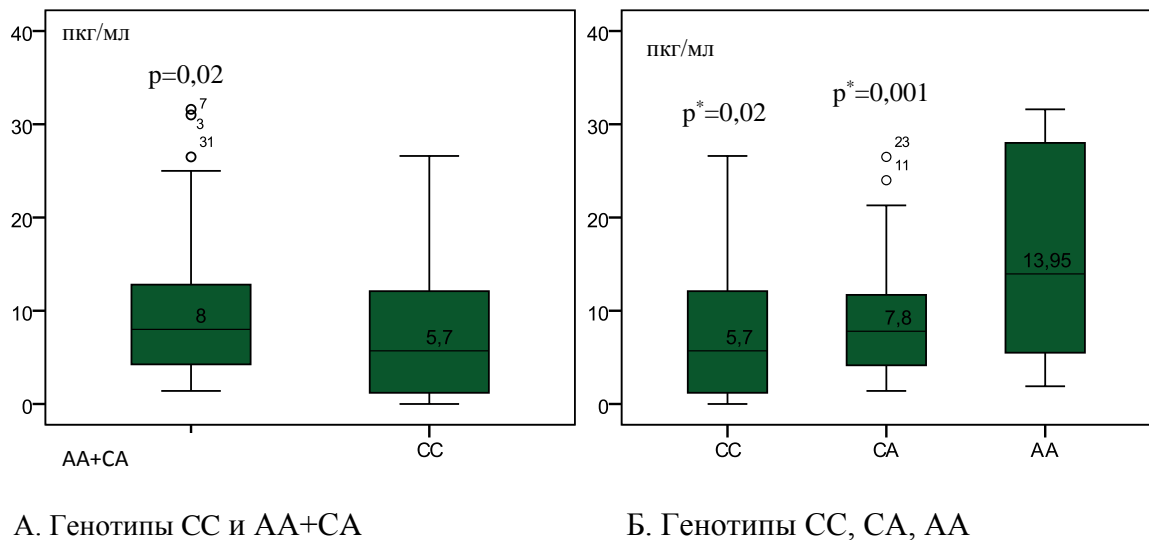


Рисунок 41 – Возраст пациентов с ПОУГ в зависимости от полиморфизма гена *ИЛ-10 (592) C>A*

У пациентов с ПОУГ, являющихся обладателями редкого аллеля *ИЛ-10 592A (AA+CA)*, выявлено увеличение уровня ИЛ-10 (8,0 [4,2; 12,1] пкг/л), по сравнению с больными, имеющими гомозиготный по доминантному аллелю генотип *592C/C* – (5,7 [1,05; 10,85] пкг/л),  $p=0,02$  (рисунок 42 А).



Примечание. Рисунок А:  $p$  – различия между группами с генотипами CC и CA+AA (критерий Манна – Уитни), рисунок Б:  $p^*$  – различия по сравнению с группой AA (критерии Краскела-Уоллиса, Данетта, Данна)

Рисунок 42 – Влияние полиморфизма гена *ИЛ-10 (592) C>A* на уровень ИЛ-10 у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой

Максимальные показатели определялись у носителей генотипа *592A/A* – 13,95 [5,5; 28,0] пкг/л, статистически значимые различия установлены по отношению к группе *592C/A* – 7,8 [4,1; 10,4] пкг/л,  $p=0,02$  и *592C/C* – 5,7 [1,05; 10,85] пкг/л,  $p=0,001$  (рисунок 42 Б).

При оценке влияния генотипических вариантов полиморфизма *ИЛ-10* на показатели внутриглазного давления у пациентов с ПОУГ статистически значимых различий выявлено не было (рисунок 43).

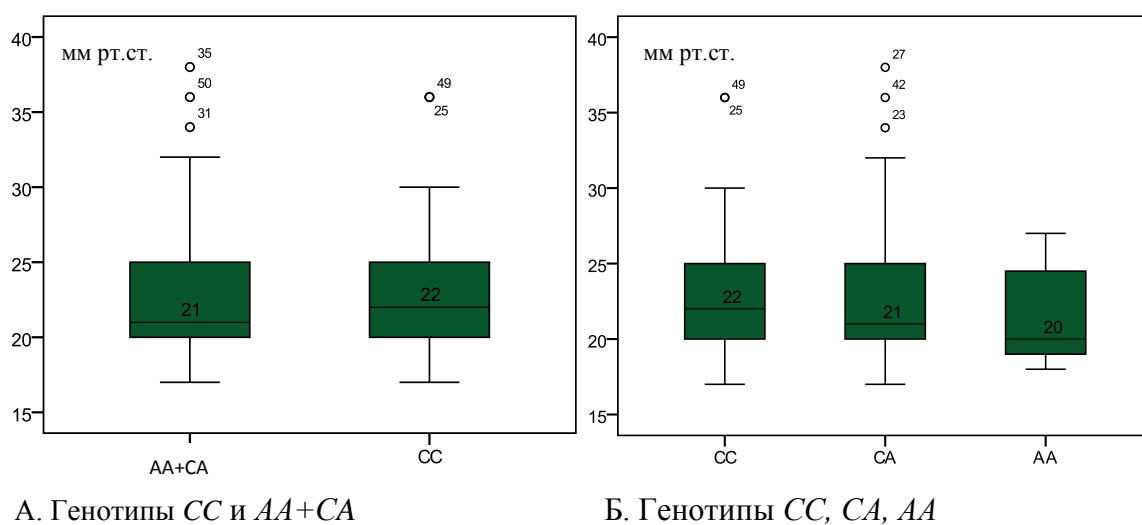
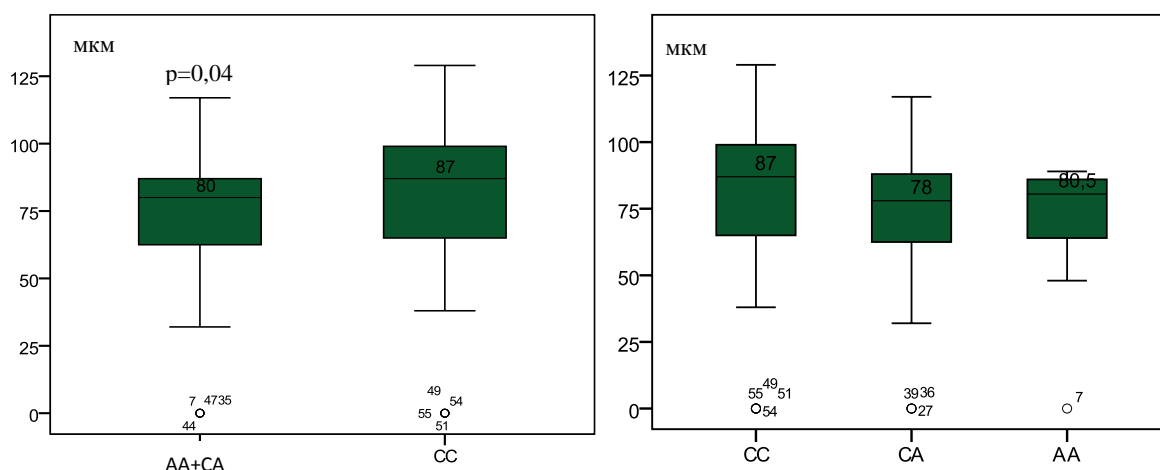


Рисунок 43 – Влияние полиморфизма гена *ИЛ-10* (*592*) *C>A* на уровень ВГД у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой

Показатели СНВС были ниже у резидентов мутантного аллеля *592A* – 80 [61; 85] мкм, чем у носителей гомозиготного по доминантному аллелю генотипа *C592C* – 87 [65; 98],  $p=0,04$  (рисунок 44 А). Статистически значимых различий между генотипами *A592A* – 80,5 [64; 86], *C592A* – 78 [61 – 85], *C592C* – 87 [65; 98] не установлено (рисунок 44 Б).

А. Генотипы *CC* и *AA+CA*Б. Генотипы *CC*, *CA*, *AA*

Примечание:  $p$  – различия между группами с генотипами *CC* и *AA+CA* (критерий Манна – Уитни)

Рисунок 44 – Влияние полиморфизма гена *ИЛ-10* (592) *C>A* на показатели СНВС у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой

Не выявлено различий объема нейроретинального пояска у резидентов мутантного аллеля 592А (*AA+CA*) – 0,41 [0,18; 0,53] мм<sup>3</sup>, по сравнению с генотипом *CC* – 0,47 [0,28; ,57] мм<sup>3</sup> (рисунок 45 А).

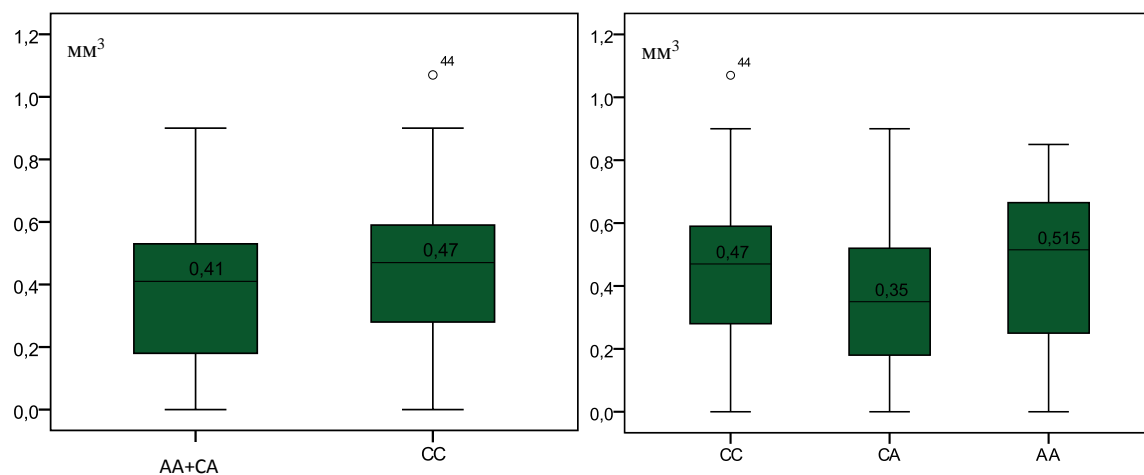
А. Генотипы *CC* и *AA+CA*Б. Генотипы *CC*, *CA*, *AA*

Рисунок 45 – Влияние полиморфизма гена *ИЛ-10* (592) *C>A* на показатели объема нейроретинального пояска у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой

Значения объема нейроретинального пояса у резидентов *A592A* составили 0,52 [0,25; 0,67] мм<sup>3</sup>, *C592A* – 0,35 [0,18; 0,50], *C308C* – 0,47 [0,28 – 0,57], различия были статистически не значимы (рисунок 45 Б).

Сходные закономерности установлены при сопоставлении показателей площади нейроретинального пояса в зависимости от генного полиморфизма *ИЛ10* (рисунок 46 А, рисунок 46 Б).

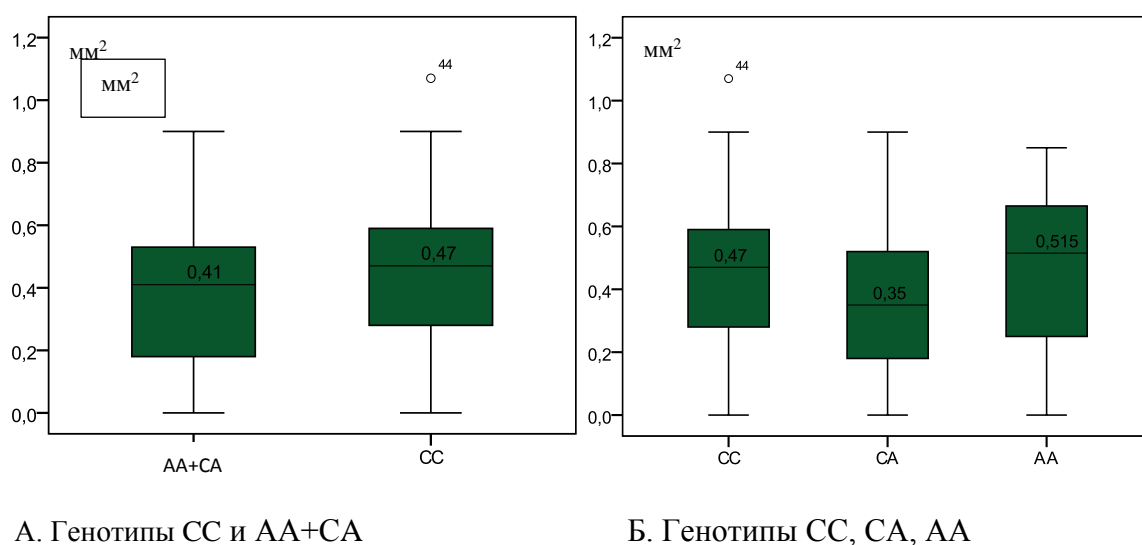
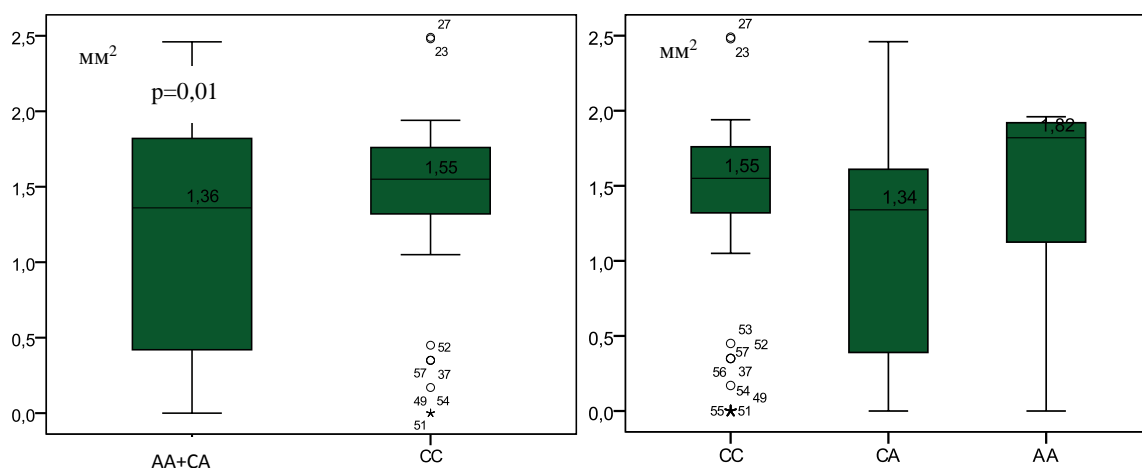


Рисунок 46 – Влияние полиморфизма гена ИЛ-10 (592) *C>A* на показатели объема нейроретинального пояса у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой

Медиана площади НРП у обладателей редкого аллеля 592A (*A/A+C/A*) составила 1,36 [0,41; 1,82] мм<sup>2</sup>, у резидентов доминантного генотипа *C592C* – 1,55 [1,82; 1,76] мм<sup>2</sup>,  $p=0,01$  (рисунок 47 А).

Показатели площади НРП были минимальными у пациентов с генотипом *C592A* – 1,34 [0,37; 1,52] мм<sup>2</sup>, при этом различия по сравнению с генотипами *C592C* – 1,55 [1,82; 1,76] мм<sup>2</sup>,  $p=0,14$  и *A592A* – 1,82 [1,13; 1,92] мм<sup>2</sup>,  $p=0,15$  были статистически не значимы (рисунок 47 Б).



А. Генотипы CC и AA+CA

Б. Генотипы CC, CA, AA

Примечание. Рисунок А:  $p$  – различия между группами с генотипами CC и CA+AA (критерий Манна – Уитни)

Рисунок 47 – Влияние полиморфизма гена *ИЛ-10* (592)  $C>A$  на показатели площади нейроретинального пояса у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой

Таким образом, Интерлейкин-10 в образцах слезной жидкости определялся с равной частотой у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой и в группе сравнения. Не выявлено возрастания риска развития первичной открытоугольной глаукомы в зависимости от показателей ИЛ-10. Не получено корреляционной взаимосвязи между уровнем ИЛ-10 и показателями внутриглазного давления, а также когерентной томографии (СНВС, VНRP, SHRP).

У пациентов с первичной открытоугольной глаукомой русской национальности выявлено преобладание мутантного аллеля 592A и увеличение риска развития заболевания у обладателей аллеля 592A и генотипов A592A + C592A. Установлена протективная роль генотипа C592C.

Показано увеличение ИЛ-10 у резидентов аллеля 592A и обладателей генотипов A592A и C592A. Наиболее низкие показатели средней толщины нервных волокон сетчатки определялись у респондентов генотипов A592A и C592A.

### 3.4. Прогнозирование первичной открытоугольной глаукомы (математическая модель)

Для построения прогностической модели развития глаукомы проведен анализ клинических и лабораторных переменных у пациентов с ПОУГ с помощью метода множественной логистической регрессии.

В анализ были включены: показатели внутриглазного давления, толщина слоя нервных волокон сетчатки, объем и площадь нейроретинального пояса, содержание ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-10 в слезной жидкости, полиморфизмы генов *TNF $\alpha$  308G/A*, *ИЛ-1 $\beta$  (-31 T>C)*, *IL10 592 C/A*.

По данным многофакторного анализа статистически значимыми для развития глаукомы оказались: уровень ВГД, содержание ФНО- $\alpha$  и ИЛ-1 $\beta$  в слезной жидкости, наличие генотипа *ИЛ-1 $\beta$  T-31T/T*. При построении прогностической модели первичной открытоугольной глаукомы методом логистической регрессии наличие глаукомы обозначалось значением 1, отсутствие глаукомы – значением 0.

Таблица 18 – Предикторы прогноза первичной открытоугольной глаукомы

Показатель	Коэффициент регрессии	Ошибка среднего	z – статистика	P	95% CI
ВГД	0,9991517	0,2443964	4,09	0,0001	0,5201436 – 1,47816
ФНО- $\alpha$	0,0233748	0,0067593	3,46	0,001	0,0101268 – 0,0366228
ИЛ-1 $\beta$	0,5651707	0,1543605	3,66	0,0001	0,2626297 – 0,8677117
<i>ИЛ-1<math>\beta</math> (-31) TT</i>	1,360855	0,6716352	2,03	0,044	0,0444745 – 2,677236

Получено уравнение логистической регрессии, определяющее вероятность диагноза первичной открытоугольной глаукомы:  $p=1/1+e^{-Y}$ , где

$e$  – основание натурального логорифма, равное 2,72;

$Y=23,29881$  (константа) +  $0,9991517X_1$  +  $0,0233748X_2$  +  $0,5651707X_3$  +  $1,360855X_4$ ;

$X_1$  – значение ВГД (мм.рт.ст.) – независимая переменная, предиктор прогноза ПОУГ;  $X_2$  – значение ФНО- $\alpha$  (пкг/л) – независимая переменная, предиктор прогноза ПОУГ;  $X_3$  – значение ИЛ-1 $\beta$  (пкг/л) – независимая переменная, предиктор прогноза ПОУГ;  $X_4$  – наличие генного полиморфизма *ИЛ-1 $\beta$  (-31) TT* – независимая переменная, предиктор прогноза ПОУГ (0 – отсутствие у пациента генотипа *ИЛ-1 $\beta$  (-31) TT*, 1 – наличие у пациента генотипа *ИЛ-1 $\beta$  (-31) TT*).

Чувствительность полученной прогностической модели – 90,7%, специфичность – 88,1%, положительная предсказательная ценность – 95%, отрицательная предсказательная ценность – 78%. Получено значение AUC=0,93, что свидетельствует об отличном качестве модели. Оптимальный порог 0,69. OR=71,78; CI: 2,57- 7,76, p=0,01.

Прогноз ПОУГ совпал с реальным диагнозом глаукомы в 89,7% случаев.

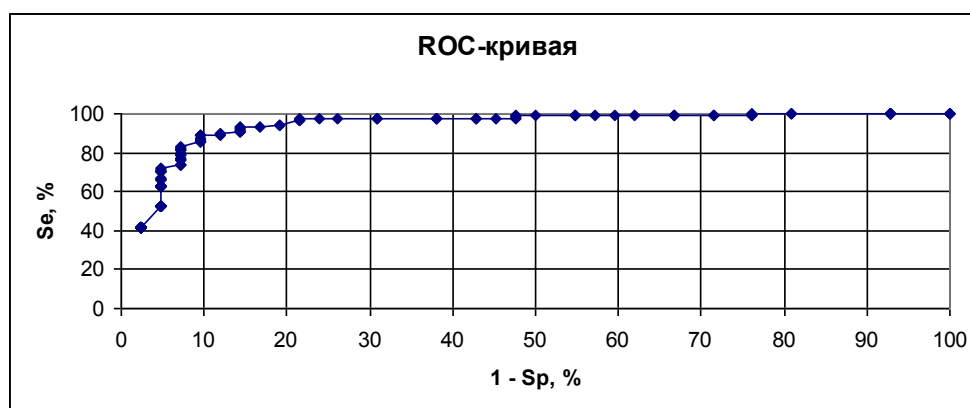


Рисунок 48 – ROC-кривые показателей логистической регрессии, как предикторов развития первичной открытоугольной глаукомы

В таблице 19 приведены примеры практического применения уравнения логистической регрессии с учетом данных обследования пациентов при подозрении на первичную открытоугольную глаукому.

Таблица 19 – Вероятность диагноза первичной открытоугольной глаукомы

Клинический случай	ВГД	ФНО- $\alpha$	ИЛ-1 $\beta$	<i>ИЛ-1<math>\beta</math></i> (-31) <i>ТТ</i>	Y	E <sup>-Y</sup>	P
1	18	168	7,4	1	4,16	0,016	98%
2	21	129	7,5	1	6,30	0,002	100%
3	20	14	3.1	0	-1,24	3,44	23%

В первых двух случаях, у пациентов с глаукомой 2 ст., обладателей гомозиготного генотипа *ИЛ-1 $\beta$*  (-31) *ТТ* и имеющих повышенные концентрации ФНО- $\alpha$  и ИЛ-1 $\beta$  в слезной жидкости, несмотря на нормальные уровни ВГД – вероятность диагноза первичной открытоугольной глаукомы составила 98% и 100% соответственно.

В третьем случае, у пациента из группы сравнения, носителя *ИЛ-1 $\beta$*  (-31) *СС* и имеющего нормальное содержание ФНО- $\alpha$  и ИЛ-1 $\beta$  в слезной пленке, несмотря на тенденцию к увеличению ВГД риск ПОУГ оказался равным 23%.

## ГЛАВА 4. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Первичная открытоугольная глаукома – хроническая дегенеративная нейропатия, характеризующаяся потерей ганглиозных клеток сетчатки и их аксонов, что приводит к снижению зрения и слепоте [72]. Глаукома является многофакторным заболеванием, в развитии которого участвуют факторы внешней среды, особенности образа жизни и такие индивидуальные характеристики как внутриглазное давление, возраст, употребление алкоголя, курение сигарет, высокий индекс массы тела, системная гипертензия [49, 185, 249]. Однако у ряда лиц, имеющих факторы риска ПОУГ, заболевание не развивается, что подтверждает роль генетической предрасположенности в развитии первичной открытоугольной глаукомы [40, 57, 185].

В настоящее время доказана роль полиморфизмов метилентетрагидрофолатредуктазы (MTHFR), играющей важную роль в метаболизме фолиевой кислоты [57], дефицита витамина Д и полиморфизма рецепторов витамина Д в развитии ПОУГ [65]. Выявлено значение полиморфных маркеров генов ферментов, участвующих в антиоксидантных процессах и устранении канцерогенов, токсинов и окислителей [119, 51], а также гена (OPA1), ответственного за синтез гуанозинтрифосфатазы, митохондриального биогенеза и целостности мембран и антиоксидантных ферментов SOD [119]

В экспериментальных и клинических исследованиях доказана роль нейровоспаления и гиперпродукции интерлейкинов в патогенезе первичной открытоугольной глаукомы [12, 15, 16, 19, 28, 40, 45, 72, 82, 224, 226]. Наличие реактивных астроцитов, активация микроглии и высвобождение медиаторов воспаления, таких как провоспалительные интерлейкины, активные радикалы кислорода, фактор некроза опухоли-альфа способствуют развитию хронического воспаления и реализации нейротоксического действия в отношении ганглиозных клеток сетчатки [28, 51, 77, 223].

Индивидуальная способность к продукции интерлейкинов, хемокинов и ростовых факторов, участвующих в репарации, вероятно, обусловлена

полиморфизмом регуляторных сегментов кодирующих генов [40, 45, 50, 227]. В последние годы инициированы исследования, посвященные взаимосвязи развития глаукомы и генетического полиморфизма генов интерлейкинов [209]. Подтверждена роль отдельных однонуклеотидных полиморфизмов (SNP), влияющих на синтез медиаторов воспаления и окислительного стресса при ПОУГ, однако в ряде исследований получены противоречивые результаты [40, 52].

Дальнейшие исследования сигнальных путей и применение генетических биомаркеров имеют большое значение для выявления пациентов с высоким риском развития ПОУГ и будут способствовать появлению новых стратегий лечения и профилактики глаукомы [40, 185].

В исследование включены 56 пациентов русской национальности Юга России с первичной открытоугольной глаукомой (ПОУГ), проживающие на территории Ставропольского края. В 28 случаях верифицирована развитая, 16 – далекозашедшая, 12 – терминальная стадии первичной открытоугольной глаукомы. В группу сравнения включены 30 человек, сопоставимых по возрасту и полу. Экспериментальное исследование выполнялось в течение двух лет.

Содержание интерлейкинов в слезной жидкости определяли с помощью тевдофазного ИФА с учетом всех образцов, включая отрицательные. Исследовано 107 образцов слезной жидкости пациентов с ПОУГ, в том числе со стадией II – 56, III – 30, IV – 21. В течение двух недель до получения образцов слезной жидкости пациентам отменяли препараты топических простагландинов и глюкокортикоидов.

В процессе диагностического поиска молекулярно-биологических предикторов развития глаукомы были отобраны гены-кандидаты, непосредственно участвующие в развитии нейровоспаления при ПОУГ. Исследовались полиморфизмы *ФНО- $\alpha$*  308G>A (rs1800629), *ИЛ-1 $\beta$*  -31 T>C (rs1143627) и *ИЛ-10* 592 C>A (rs1800872) в лейкоцитах периферической крови 56 пациентов с ПОУГ. Изучался характер влияния генных полиморфизмов на уровень экспрессии ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-10 в слезной жидкости, а также морфометрические показатели, полученные при выполнении оптической когерентной томографии.

Фактор некроза опухолей альфа определялся в 95,4% образцов слезной жидкости пациентов с ПОУГ и только в 85,7% – в группе сравнения ( $p=0,01$ ). Выявлено статистически значимое увеличение показателей ФНО- $\alpha$  до 94 [45; 165] пкг/мл у больных с глаукомой по отношению к группе сравнения – 32 [14; 66] пкг/мл ( $p=0,001$ ). Не установлено достоверных различий показателей ФНО- $\alpha$  в зависимости от степени тяжести глаукомы.

При проведении анализа шансов увеличение риска развития первичной открытоугольной глаукомы отмечено у пациентов, имеющих среднее (45-165 пкг/мл) и высокое (более 165 пкг/мл) содержание ФНО- $\alpha$  в слезной жидкости. Однако статистически значимые различия получены только для пациентов с высоким уровнем содержания ФНО- $\alpha$  в слезной жидкости, риск развития глаукомы для которых составил – 7,09 (СІ 1,61-3,27),  $p=0,004$ . Не определялось статистически значимой зависимости увеличения уровня ФНО- $\alpha$  в зависимости от возраста больных ( $r=0,05$ ,  $p=0,60$ ). Слабая корреляционная взаимосвязь выявлена между уровнем внутриглазного давления и ФНО- $\alpha$  ( $r=0,19$ ,  $p=0,04$ )

Показано, что уменьшение толщины слоя нервных волокон коррелировало с нарастанием уровня ФНО- $\alpha$  в слезной жидкости ( $r=-0,48$ ,  $p=0,0001$ ) и в меньшей степени – с объемом нейроретинального пояска ( $r=-0,21$ ,  $p=0,03$ ), но не с его площадью ( $r=-0,1$ ,  $p=0,13$ ). Подтверждено, что ФНО- $\alpha$  является ключевым медиатором, инициирующим клеточную смерть ткани сетчатки при первичной открытоугольной глаукоме [106] и участвующим в глаукомной дегенерации. Оказалось, что высокая продукция мРНК TNF $\alpha$  тесно коррелирует с утратой ганглиозных клеток сетчатки и прогрессированием оптической атрофии [55, 215]. Введение экзогенного TNF $\alpha$  способствовало потере ГКС, в то время как генетическое или фармакологическое истощение фактора некроза опухолей или его рецепторов стимулировало их выживание [215].

Фактор некроза опухолей альфа синтезируется активированными макрофагами, астроцитами и микроглиальными клетками в ответ на увеличение внутриглазного давления и/или ишемию, что приводит к клеточному апоптозу [106, 226, 238]. Повышенная передача сигналов потенцирует нейровоспаление

различными путями, такими как повышение экспрессии кальций-зависимых рецепторов альфа-амино-3-гидрокси-5-метилизоксазолпропионовой кислоты и рецепторов N-метил-D-аспартата, а также снижение экспрессии ингибирующих ГАМК-рецепторов, что усиливает нейрональную цитотоксичность [106, 238].

В экспериментальных исследованиях выявлено, что повышение внутриглазного давления вызывает гиперпродукцию ФНО- $\alpha$ , активацию микроглии и последовательную гибель ганглиозных клеток сетчатки [215]. Уровни ФНО- $\alpha$  были повышены в зрительном нерве и сетчатке глаукоматозных глаз [215]. Сообщалось об увеличении экспрессии гена ФНО- $\alpha$  в глиальных клетках и рецептора ФНО- $\alpha$  в ганглиозных клетках сетчатки при глаукоме [106]. Высокие уровни ФНО- $\alpha$  во внутриглазной жидкости подтверждены в нескольких исследованиях [132, 214, 235, 236].

Полученные в работе данные согласуются с результатами других исследовательских центров об увеличении ФНО- $\alpha$  в слезной жидкости у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой [2, 5, 8, 82, 88, 89, 97, 164, 210]. Вместе с тем существуют данные о статистически не значимом увеличении ФНО- $\alpha$  в слезной жидкости при более существенном его увеличении в сетчатке, зрительном нерве, а также в плазме пациентов с ПОУГ [55], что позволяет предполагать участие ФНО- $\alpha$  в апоптозе ганглиозных клеток сетчатке, а не в повышении сопротивления оттоку [45, 140, 148].

Ранее показано, что уровень ФНО- $\alpha$  взаимосвязан с высокими показателями внутриглазного и артериального давления [88, 106], хорошо известными факторами риска прогрессирования глаукомы [141, 142]. Установлено, что у пациентов с увеличением ФНО- $\alpha$  чаще обнаруживается центральная скотома [106], что связано с сосудистой нестабильностью при гиперпродукции ФНО- $\alpha$  и повышением риска прогрессирования заболевания [46, 68, 174, 191]. Однако, есть и противоположные данные [236]. Установлена взаимосвязь между уровнем экспрессии ФНО- $\alpha$  в слезной жидкости у больных с далекозашедшей первичной открытоугольной глаукомой и толщиной СНВС, что свидетельствует о важной роли этого цитокина в развитии ПОУГ [12, 150].

Наряду с исследованием уровня ФНО- $\alpha$  в слезной жидкости при ПОУГ в работе проведено определение полиморфизма гена *ФНО- $\alpha$  G308A* в позиции rs1800629. У пациентов с первичной открытоугольной глаукомой чаще, чем в группе сравнения определялся редкий аллель *308A* (32,1% и 8,3%,  $p < 0,001$ ), вероятность развития ПОУГ у обладателей которого возрастала более, чем в 5 раз, показатель отношения шансов составил 5,21 (95% CI: 1,92-14,1;  $p = 0,001$ ).

Распространенный в популяции гомозиготный по доминантному аллелю генотип *G308G*, у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой выявлялся реже, чем в группе сравнения (53,5% и 86,7% соответственно,  $p = 0,003$ ). Увеличение риска развития ПОУГ отмечалось у обладателей мутантного аллеля, носителей генотипов *AA+GA* – 5,85 (95% CI: 1,81-18,9;  $p = 0,003$ ).

В настоящее время изучено несколько функциональных полиморфизмов в промоторной части гена *ФНО- $\alpha$*  у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой. Полиморфизм rs1800629 характеризуется заменой G→A в положении -308, что может увеличивать транскрипцию гена в 6-7 раз. В ряде исследований показано, что аллель *-308A* был в значительной степени связан с увеличением риска ПОУГ [59, 190, 61, 196]. В то время как другие авторы не подтвердили значимой связи [229, 230, 239, 246] или констатировали снижение риска заболевания у респондентов *-308A* [58, 234].

Ранее сообщалось о высокой распространенности мутантного аллеля *308A* в когортах пациентов с ПОУГ в Китае [62], Турции [63], Пакистане [61], Швейцарии [190]. В метаанализе Q.Q. Yu с соавт. показано, что полиморфизмы *TNF-308 G/A* в отличие от *-238G/A*, *-863C/A* и *-857C/T* в значительной степени связаны с первичной открытоугольной глаукомой высокого давления [246]. В исследовании Е. Тикуновой с соавт. на когорте пациентов Центральной России, связь полиморфизма *G308A* (rs1800629) с ПОУГ не была подтверждена [111, 228].

Нами выявлено увеличение показателей ФНО- $\alpha$  в слезной жидкости у респондентов аллеля *308A* (*AA+GA*) по сравнению с распространенным генотипом *GG*. Показатели составили 165 [112,5 – 193,5] и 49 [14,0 – 90,0] пкг/мл,  $p = 0,001$  соответственно. Максимальные уровни определялись в группе *A308A* (190 [153,0 –

220,0] пкг/мл). Установлены статистически значимые различия по сравнению с группами *G308A* (132 [98,0 – 180,0] пкг/мл),  $p=0,01$  и *G308G* (49 [14,0 – 90,0] пкг/мл),  $p=0,001$ . Полученные данные согласуются с мнением о том, что SNP 308G/A способствует увеличению ФНО- $\alpha$  в экспериментальных и клинических условиях [44, 63].

При установлении взаимосвязи полиморфизма ФНО- $\alpha$  *G308A* с клинико-инструментальными характеристиками при ПОУГ выявлено повышение внутриглазного давления у носителей гомозиготного по мутантному аллелю генотипа *A308A* – 25,0 [20,0 – 27,0] мм. рт. ст. по сравнению с генотипом *G308G* – 21,0 [20,0 – 22,] мм. рт. ст.,  $p=0,02$ . Показатели СНВС у резидентов аллеля *308A* (*GA* + *AA*) были существенно хуже, чем у обладателей генотипа *GG* – 67 [43,0 – 80,0] и 96 [81,0 – 101,0] мкм соответственно,  $p=0,001$ .

Статистически значимые различия по сравнению с генотипом *GG* установлены для генотипа *G308A* – 59,5 [40,0 – 78,0],  $p=0,03$  и *A308A* – 79,0 [65,0 – 80,0],  $p=0,001$ . У резидентов мутантного аллеля *308A* и генотипов *GA+AA* определялось уменьшение объема НРП – 0,27 [0,02 – 0,50] мм<sup>3</sup> по сравнению с гомозиготами по доминантному аллелю *308G* – 0,51 [0,31 – 0,66] мм<sup>3</sup>,  $p=0,01$ ). Установлено также уменьшение площади НРП у носителей генотипов *GA+AA* – 1,22 [0,33 – 1,61] мм<sup>2</sup> по отношению к обладателям распространенного генотипа *GG* – 1,59 [1,36 – 1,82] мм<sup>2</sup>  $p=0,01$ .

Интерлейкин - 1 $\beta$  выявлялся в 94,4% образцов слезной жидкости больных первичной открытоугольной глаукомой и в 73,8% – в группе сравнения,  $p<0,001$  с более высокими показателями в группе ПОУГ – 4,30 [1,85; 6,70] пкг/л и 2,15 [0; 3,70] пкг/л, соответственно,  $p=0,001$ . При разделении показателей ИЛ-1 $\beta$  на квартили увеличение риска развития глаукомы определялось у индивидуумов со средними (OR = 1,64, CI= 0,80-3,37) и высокими показателями ИЛ-1 $\beta$  (OR=1,81, CI=0,63-5,16). Однако различия оказались статистически не значимы.

Не выявлено корреляционных взаимосвязей между уровнем ИЛ-1 $\beta$  в слезной жидкости и клинико-инструментальными показателями – возрастом больных ПОУГ и уровнем внутриглазного давления. Показатели толщины слоя СНВС

имели отрицательную зависимость средней силы от уровня ИЛ-1 $\beta$  ( $r=-0,36$ ,  $p=0,0001$ ) и уменьшались при нарастании ИЛ-1 $\beta$  в слезной жидкости больных с глаукомой. Не получено статистически значимой корреляционной взаимосвязи между уровнем ИЛ-1 $\beta$  в слезной жидкости, объемом ( $r=-0,06$ ,  $p=0,51$ ) и площадью ( $r=-0,18$ ,  $p=0,06$ ) нейроретинального пояса.

Известно, что интерлейкин-1 $\beta$  является ключевым микроглиальным фактором прогрессирования глаукомы, участвующим в ишемическом и эксайтотоксическом повреждении сетчатки путем стимуляции продукции матриксной металлопротеиназы-9, оксида азота и активных форм кислорода [41, 124]. Ранее было показано увеличение экспрессии уровня ИЛ-1 $\beta$  во внутриглазной [43] и слезной жидкости [90, 6, 2, 21, 29, 30], что согласуется с полученными нами данными. По результатам других исследователей содержание ИЛ-1 $\beta$  в слезах при ПОУГ было ниже пределов обнаружения [153] или не отличалось от группы сравнения [89, 98, 205].

При изучении полиморфных маркеров *ИЛ-1 $\beta$  (-31 T>C)* (rs1143627) у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой чаще, чем в группе сравнения определялся распространенный в популяции аллель *-31 T* (72,3% и 56,7%,  $p=0,04$ ) с увеличением показателей отношения шансов до 1,99 (1,04-3,86). Обладание мутантным аллелем *-31 T* имело протективный эффект (OR= 0,50; 95% CI: 0,26–0,97;  $p=0,04$ ).

При анализе гаплотипов *ИЛ-1 $\beta$  (-31 T>C)* у пациентов с ПОУГ преобладающим был гомозиготный по дикому аллелю генотип *-31 T/T* (57,1% и 33,3%,  $p=0,04$ ) с увеличением риска заболевания (OR=2,67; CI:1,06-6,72). Распространенность гомозиготного по мутантному аллелю *-31 C/C* и гетерозиготного *-31 T/C* генотипов была ниже по сравнению с контролем, однако различия не были статистически значимы.

Определено влияние полиморфизма *ИЛ-1 $\beta$  (-31 T>C)* на лабораторные и инструментальные показатели. Не выявлено взаимосвязи аллелей и гаплотипов *ИЛ-1 $\beta$*  (rs1143627) и возраста пациентов с первичной открытоугольной глаукомой. Установлена зависимость показателей ИЛ-1 $\beta$  в слезной жидкости от мажорного

аллеля  $-31 T$ . У респондентов генотипов  $T/T+C/T$  уровень ИЛ-1 $\beta$  составил 4,90 [2,00 – 6,70] пкг/мл, что было достоверно выше, чем у обладателей рецессивного генотипа  $-31 C/C$  – 2,15 [0,90 – 3,30] пкг/мл,  $p=0,02$ . Максимальные показатели определялись у гомозигот по мажорному аллелю ( $-31$ )  $T/T$  – 6,50 [4,10 – 7,00] пкг/мл, статистически значимые различия установлены при сравнении с генотипом  $T/C$  2,10 [0,70 – 4,20] пкг/мл,  $p=0,001$  и  $C/C$  2,15 [0,90 – 3,30] пкг/мл,  $p=0,001$ .

Показатели ВГД не имели статистически значимых различий у респондентов мажорного аллеля  $T/T+T/C$  по сравнению с гомозиготами по минорному аллелю  $-31C/C$ , а также в зависимости от гаплотипов  $-31T/T$ ,  $31T/C$  и  $-31C/C$ . Минимальные значения СНВС выявлены у резидентов  $TT$  (77 [64,0 – 83,0] мкм), статистически значимые различия определялись по сравнению с гомозиготным  $CC$  (90,5 [46,0 – 99,0] мкм),  $p=0,04$ , но не с гетерозиготным генотипом  $CT$  (87 [65,0 – 100,0] мкм),  $p=0,62$ . Не выявлено статистически значимых корреляций между полиморфизмом ИЛ-1 $\beta$  ( $-31$ )  $T>C$ , объемом и площадью нейроретинального пояса. Анализ функциональных полиморфизмов в гене ИЛ-1 $\beta$  показал, что SNP  $-31(rs1143627; C\rightarrow T)$  влияет на продукцию ИЛ-1 $\beta$  [220].

Ранее установлено, что SNP ИЛ-1 $\beta$   $-31C/T$  локализован в промоторной области и замена  $C\rightarrow T$  приводит к аллель-специфическому изменению экспрессии гена [48]. Экспериментальные исследования подтвердили, что аллель  $-31T$  обладает более высокой промоторной активностью, чем аллель  $-31C$  в связи с высоким связыванием ядерных белков [124, 182]. Установлена повышенная продукция ИЛ-1 $\beta$  в присутствии аллеля  $-31T$  [124, 204]. Полученные данные согласуются с результатами других исследователей о том, что SNP ИЛ-1 $\beta$  ( $-31 T>C$ ) ( $rs1143627$ ) увеличивает риск развития первичной открытоугольной глаукомы [48, 54].

Интерлейкин-10 определялся в 87,8% образцов слезной жидкости, что не отличалось от группы сравнения (76,2%). Не получено статистически значимых различий при анализе средних показателей ИЛ-10 в группах ПОУГ – 7,60 [2,00; 11,30] и сравнения – 5,60 [0,70; 11,40] пкг/л. Не установлено увеличения риска развития заболевания у пациентов с низким (менее 3,25 пкг/мл), средним (3,25-

12,40 пкг/мл) и высоким (более 12,40 пкг/мл) уровнем ИЛ-10. Показатели ИЛ-10 не коррелировали с возрастом пациентов, уровнем внутриглазного давления, толщиной нервных волокон сетчатки, объемом и площадью нейроретинального пояса. Известно, что ИЛ-10 играет ключевую роль в иммунорегулирующих и противовоспалительных реакциях [53]. В ряде исследований показано увеличение ИЛ-10 в слезной и внутриглазной жидкостях у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой [67, 71, 82, 91, 105], что связано с активацией моноцитов, макрофагов и дендритных клеток в глаукоматозных глазах [105]. В других исследованиях не выявлено статистически значимых различий при ПОУГ [88, 209] или установлено его снижение [2, 23]. Разница в результатах, вероятно, обусловлена вариабельностью стадий заболевания у пациентов с ПОУГ, различиями в возрасте, чувствительностью аналитических тест-систем [83, 164, 209, 210].

При изучении генного полиморфизма *ИЛ-10 592 C/A* (rs1800872) установлено статистически значимое уменьшение распространенности преобладающего в популяции мажорного аллеля *592/C* у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой (26,8% и 13,3%,  $p=0,04$ ), обладание которым увеличивало вероятность развития ПОУГ – 2,38 (95% CI: 1,01-5,59;  $p=0,04$ ). Гомозиготный по мажорному аллелю генотип *C592C* встречался при ПОУГ в 1,4 раза реже, чем в группе сравнения ( $p=0,04$ ) и может использоваться в качестве протективного. У респондентов гомозиготного по редкому аллелю генотипа *592 A/A* риск развития заболевания достигал 2,23 (95% CI:0,24-20,9), однако различия не были статистически значимы ( $p=0,47$ ). У пациентов с генотипами *592C/A+592A/A*, носителей редкого аллеля *592 A/A* вероятность развития ПОУГ составила 3,29 (95% CI:1,22-8,89),  $p=0,02$ , что подтверждалось в доминантной модели (OR=2,85, CI:1,05-7,71,  $p=0,04$ ).

В соответствии с задачами исследования проведено сравнение показателей ИЛ-10 в слезной жидкости с лабораторными и инструментальными показателями. Не выявлено различий в возрасте у пациентов, обладателей аллеля *592A* (генотипы *AA+CA*) по сравнению с генотипом *592 C/C*. У респондентов генотипов *AA+CA*

выявлено статистически значимое увеличение ИЛ-10 по сравнению с обладателями генотипа *592C/C* (8,0 [4,2 – 12,1] и 5,7 [1,05 – 10,85] пкг/л,  $p=0,02$ ). Максимальные показатели определялись у носителей генотипа *592A/A* – 13,95 [5,5 – 28,0] пкг/л, статистически значимые различия установлены по отношению к группе *592C/A* – 7,8 [4,1 – 10,4] пкг/л,  $p=0,02$  и *592C/C* – 5,7 [1,05 – 10,85] пкг/л,  $p=0,001$ .

Показатели внутриглазного давления не зависели от аллелей и генотипов *592C/A*. Средняя толщина нервных волокон сетчатки уменьшалась у респондентов аллеля *592A* (генотипы *AA+CA*) по сравнению с носителями гомозиготного по распространенному аллелю генотипа *C592C* 80 [61 – 85] и 87 [65 – 98],  $p=0,04$ . Показатели объема и площади нейроретинального пояса были сопоставимы у пациентов с различными аллелями и генотипами. Ранее было установлено, что SNP промотора *IL10* могут влиять на экспрессию мРНК и продукцию *IL10* [135]. В единичных исследованиях показано, что носители аллеля *592A* (*AA+CA*) имеют повышенный риск развития первичной открытоугольной глаукомы [49, 53], что согласуется с полученными нами данными.

Нами получена уравнение логистической регрессии, позволяющее прогнозировать первичную открытоугольную глаукому на приеме:  $p=1/1+e^{-Y}$ , где  $e$  – основание натурального логорифма, равное 2,72;  $Y=23,29881$ (константа) + 0,9991517 x ВГД + 0,0233748 x ФНО- $\alpha$  + 0,5651707 x ИЛ-1 $\beta$  + 1,360855 (при наличии *ИЛ-1 $\beta$  (-31) TT*). Полученное значение AUC, равное 0,93 свидетельствует об отличном качестве модели. Оптимальный порог 0,69. OR=71,78 [2,57; 7,76],  $p=0,001$ . Чувствительность полученной прогностической модели – 90,7%, специфичность – 88,1%, положительная предсказательная ценность – 95%, отрицательная предсказательная ценность – 78%. Прогноз ПОУГ совпал с реальным диагнозом глаукомы в 89,7% случаев.

Резюмируя полученные данные следует отметить, в слезной жидкости пациентов с первичной открытоугольной глаукомой определяются высокие концентрации провоспалительных интерлейкинов ФНО- $\alpha$  и ИЛ-1 $\beta$ . Статистически значимое увеличение риска развития ПОУГ наблюдается у больных с уровнем ФНО- $\alpha$ , более 165 пкг/мл. Выявлена отрицательная корреляционная взаимосвязь

средней силы между показателями ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$  и толщиной нервных волокон сетчатки.

У пациентов с первичной открытоугольной глаукомой русской национальности показано преобладание распространенного аллеля *ИЛ-1 $\beta$  -31T* и мутантных аллелей *ФНО- $\alpha$  308A (GA+AA)* и *ИЛ-10 592A*. Установлены высокая продукция ФНО- $\alpha$ , а также низкие показатели толщины слоя нервных волокон, объем и площадь нейроретинального пояса у респондентов аллеля *ФНО- $\alpha$  308A A (GA+AA)*. Наиболее высокие показатели ФНО- $\alpha$  и уровня внутриглазного давления определяются у пациентов с гомозиготным генотипом по редкому аллелю *A308A*, наиболее низкие показатели средней толщины нервных волокон – в группах с гомозиготным *A308A* и гетерозиготным *A308G* по редкому аллелю генотипом. Выявлено увеличение ИЛ-1 $\beta$  в слезной жидкости больных ПОУГ, являющихся носителями аллеля *ИЛ-1 $\beta$  -31T* и генотипа *-31T/T*. Наименьшая толщина слоя нервных волокон определялась у пациентов с генотипом *ИЛ-1 $\beta$  (-31) T/T*. Установлено увеличение ИЛ-10 у резидентов аллеля *ИЛ-10 592A* и обладателей генотипов *A592A* и *C592A*. Наиболее низкие показатели средней толщины нервных волокон сетчатки определяются у респондентов генотипов *A592A* и *C592A*.

Таким образом, генетически детерминированные различия продукции цитокинов могут влиять на предрасположенность к развитию нейровоспаления и глаукоматозной нейропатии. На кагорте пациентов русской национальности Юга России выявлено, что полиморфизмы генов *ФНО- $\alpha$  308 G/A (rs1800629)*, *ИЛ-1 $\beta$  -31T/C (rs1143627)*, *ИЛ-10 ИЛ-10 592 C/A (rs1800872)* взаимосвязаны с развитием первичной открытоугольной глаукомы. Факторами риска ПОУГ являются мутантные аллели *ФНО- $\alpha$  308A*, *ИЛ-10 592A*, дикий аллель – *ИЛ-1 $\beta$  -31T*, а также генотипы *308 G/A*, *308 A/A*, *-31T/T*.

## ВЫВОДЫ

1. У пациентов с первичной открытоугольной глаукомой наблюдается увеличение ФНО- $\alpha$  и ИЛ-1 $\beta$  в слезной жидкости. Вероятность наличия глаукомы возрастает при уровне ФНО- $\alpha$  более 165 пкг/мл.

2. Показатели ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$  и ИЛ-10 не зависят от стадии глаукомы, не коррелируют с возрастом пациентов, уровнем внутриглазного давления, объемом и площадью нейроретинального пояска. Установлена умеренная отрицательная взаимосвязь между содержанием ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$  и толщиной слоя нервных волокон сетчатки.

3. Полиморфизмы генов цитокинов *ФНО- $\alpha$  308 G/A* (rs1800629), *ИЛ-1 $\beta$  -31T/C* (rs1143627); *ИЛ-10 592 C/A* (rs1800872) взаимосвязаны с развитием первичной открытоугольной глаукомы.

4. Факторами риска первичной открытоугольной глаукомы у пациентов русской национальности Юга России являются мутантные аллели *ФНО- $\alpha$  308A*, *ИЛ-10 592A*, дикий аллель – *ИЛ-1 $\beta$  -31T*, а также генотипы *ФНО- $\alpha$  308 G/A*, *308 A/A*, *ИЛ-1 $\beta$  -31T/T*.

5. Протективными полиморфными маркерами, уменьшающими риск развития ПОУГ можно считать дикие аллели *ФНО- $\alpha$  308G*, *ИЛ-10 592C*, мутантный аллель – *ИЛ-1 $\beta$  -31C* и генотипы *ФНО- $\alpha$  308 G/G*, *ИЛ-10 592 C/C*.

6. Высокая продукция ФНО- $\alpha$  в слезной жидкости при первичной открытоугольной глаукоме выявляется у резидентов аллеля *308A*, ИЛ-10 – *592A*, ИЛ-1 $\beta$  – генотипа *-31 T/T*.

7. Наименьшая толщина слоя нервных волокон сетчатки определяется у обладателей аллелей *ФНО- $\alpha$  308A*, *ИЛ-10 592A* и генотипа *ИЛ-1 $\beta$  -31T/T*, минимальные объем и площадь нейроретинального пояска – резидентов аллеля *ФНО- $\alpha$  308A*.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Использовать показатели ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$ , а также носительство аллелей *ФНО- $\alpha$  308A*, *ИЛ-10 592A*, *ИЛ-1 $\beta$  -31T* и генотипов *ФНО- $\alpha$  308 G/A*, *308 A/A*, *ИЛ-1 $\beta$  -31T/T* для ранней диагностики первичной открытоугольной глаукомы
2. Для прогнозирования развития глаукомы применять математическую модель, включающую показатели внутриглазного давления, уровни ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$  и носительство генотипа *ИЛ-1 $\beta$  -31T/T*.
3. У пациентов с индексом выше 0,69, полученном в уравнении логистической регрессии, целесообразно выполнять оптическую когерентную томографию.
4. У пациентов с подозрением на глаукому, использовать активную стратегию профилактики прогрессирующих форм заболевания.

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ**

- ВГД – внутриглазное давление
- ДЗН – диск зрительного нерва
- ГАМК – гамма-аминомасляная кислота
- ГКС – ганглиозные клетки сетчатки
- ИЛ-1,4,8,1 $\beta$ ... – интерлейкин-1,4,8,1 $\beta$  ...
- ИФ- $\gamma$  – интерферон-гамма
- мРНК – матричная рибонуклеиновая кислота
- НРП – нейро-ретикулярный пояс
- ОСТ – оптическая когерентная томография
- ПОУГ – первичная открытоугольная глаукома
- СЖ – слезная жидкость
- СНВС – слой нервных волокон сетчатки
- ФНО- $\alpha$  – фактор некроза опухолей-альфа
- ЦНС – центральная нервная система
- ЦТР – центральная толщина роговицы
- BDNF – нейротрофический фактор головного мозга
- bFGF – фактор роста фибробластов
- CDH1 – кадгерин 1
- CDKN1A – ингибитор циклинзависимой киназы 1A
- CYP1B1 – цитохром P450, семейство 1, подсемейство B, полипептид 1
- CNTF – цилиарный нейротрофический фактор
- CCL2/MCP1, CXCL1 – хемокины
- CDKN1A – ингибитор циклинзависимой киназы 1A
- GSTM1 – глутатион-S-трансфераза
- IFN- $\gamma$  – интерферон-гамма
- IL-1,2,4,... – интерлейкин-1,2,4...
- ICAM-1 – молекулы межклеточной адгезии-1
- GDNF – фактор глиальной клеточной линии

MCP1/CCL2 – моноцитарный хемотаксический фактор

MTHFR – 5,10-метилентетрагидрофолатредуктаза

MMP2 – матриксная металлопротеиназа 2

NGF – фактор роста нервов

NMDA – N-метил-D-аспартат

NOS3 – синтаза оксида азота

NT3 – нейротрофин

NK – натуральные киллеры

OPA1 – белок OPA1

SAA – сывороточный амилоид

T353 – белок опухоли p53

TGF $\beta$ 1 – трансформирующий фактор роста  $\beta$ 1

TNF- $\alpha$  – фактор некроза опухолей-альфа

Th-1 – хелперы 1 типа

Th-2 – хелперы 2 типа

VCAM-1 – васкулярная молекула клеточной адгезии 1

VEGF – фактор роста эндотелия сосудов

NPV – отрицательная предсказательная ценность

PPV – положительная предсказательная ценность

Se – чувствительность

Sp – специфичность

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Авагян, А. С. Роль полиморфизма гена ENOS в развитии первичной открытоугольной глаукомы / А. С. Авагян, А. Р. Кинкулькина, О. А. Свитич // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – 2022. – Т. 21. – № S2. – С. 108. – EDN GUWTLV.
2. Агарков, Н. М. Диагностика и прогнозирование первичной открытоугольной глаукомы по уровню местных цитокинов / Н. М. Агарков, А. М. Чухраёв, Н. В. Яблокова // Медицинская иммунология. – 2019. – Т. 21. – № 6. – С. 1163-1168. DOI: 10.15789/1563-0625-2019-6-1163-1168.
3. Ассоциация полиморфных маркеров в гене eNOS с риском развития первичной открытоугольной глаукомы у жителей пермского края / Т. В. Гаврилова, А. Р. Кинкулькина, А. С. Авагян, О. А. Свитич // Российский иммунологический журнал. – 2022. – Т. 25. – № 1. – С. 83-92. – DOI: 10.46235/1028-7221-1081-ABP. – EDN STEKTV.
4. Ассоциация промоторного полиморфизма гена TNF- $\alpha$  с первичной открытоугольной глаукомой / А. В. Шевченко, В. Ф. Прокофьев, В. И. Коненков [и др.] // РМЖ. Клиническая офтальмология. – 2022. – Т. 22. – № 1. – С. 11-15. – DOI: 10.32364/2311-7729-2022-22-1-11-15. – EDN AISTGB.
5. Баранов, В. И. Определение маркеров сосудистой эндотелиальной дисфункции в слезной жидкости при псевдоэкссфолиативной глаукоме / В. И. Баранов, Е. В. Маркова // Медицинский вестник Башкортостана. – 2018. – Т. 13. – № 1. – С. 58-61.
6. Диагностика и прогнозирование первичной открытоугольной глаукомы по уровню местных цитокинов / Н. М. Агарков, А. М. Чухраев, Д. А. Коняев, Е. В. Попова // Вестник офтальмологии. – 2020. – Т. 136. – № 4. – С. 94-98. DOI: 10.17116/oftalma202013604194.
7. Дисбаланс содержания цитокинов и факторов роста во внутриглазной жидкости при первичной открытоугольной глаукоме / О. В. Ермакова, Н. Б. Орлов,

А. Н. Трунов [и др.] // Российский иммунологический журнал. – 2019. – Т. 13. – № 2-2(22). – С. 769-771. – DOI: 10.31857/S102872210006704-9. – EDN XJWNUG.

8. Изменение некоторых иммунологических показателей слезной жидкости при избыточном рубцевании после антиглаукоматозных операций у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой / В. П. Еричев, Л. В. Ганковская, Л. В. Ковальчук [и др.] // Вестник офтальмологии. – 2010. – Т. 126. – № 3. – С. 25-29.

9. Иммуно-гемостатические взаимосвязанные механизмы при первичной глаукоме преимущественно у пожилых пациентов / Л. М. Балашова, Н. А. Бакунина, В. Л. Гришин [и др.] // Клиническая геронтология. – 2021. – Т. 27. – № 1-2. – С. 37-45. – DOI: 10.26347/1607-2499202101-02037-045. – EDN PYCUSQ.

10. Какулия, Д. М. Роль TNF $\alpha$  в развитии первичной открытоугольной глаукомы / Д. М. Какулия Л. Ю. Барычева, В. В. Кузнецова // Флагман науки: научный журнал. Июнь 2023. – СПб., изд. ГНИИ "Нацразвитие" – 2023. – №5 (5). – С.179-183.

11. Клинико-патогенетическое значение про- и противовоспалительных цитокинов в развитии первичной открытоугольной глаукомы / Л. Ю. Барычева, Г. Я. Хайт, М. Г. Какулия, А. А. Берновская, Д. М. Какулия // Современные проблемы науки и образования. – 2017. – № 2; URL: <http://www.science-education.ru/article/view?id=26250> (дата обращения: 30.03.2017).

12. Корреляционный анализ морфофункциональных и иммунологических параметров у пациентов с продвинутыми стадиями первичной открытоугольной глаукомы / В. И. Котелин, М. В. Зуева, Н. В. Балацкая, С. В. Петров [и др.] // Национальный журнал глаукома. – 2022. –Т. 21. – № 4. – С. 3-12. DOI: 10.53432/2078-4104-2022-21-4-3-12.

13. Локальная и системная продукция 47 цитокинов у пациентов с продвинутыми стадиями первичной открытоугольной глаукомы / Н. В. Балацкая, С. Ю. Петров, В. И. Котелин, И. Г. Куликова // Современные проблемы науки и образования. – 2021. – № 3. – С. 159. – DOI: 10.17513/spno.30906. – EDN GZQNOP.

14. Патогенетическая роль про- и противовоспалительных цитокинов в развитии первичной открытоугольной глаукомы / Л. Ю. Барычева, Г. Я. Хайт, М. Г. Какулия, А. М. Берновская, Д. М. Какулия, Л. С. Хачирова // Российский Аллергологический Журнал. - 2017. - №1. - С.179-181.

15. Полиморфизм генов провоспалительных интерлейкинов при первичной открытоугольной глаукоме / Л.Ю. Барычева, Д.М. Какулия, М.М. Минасян, В.В. Кузнецова, Н.А. Козьмова // Медицинская иммунология. 2024. – Т.26. – №2. – С. 303-312. <https://doi.org/10.15789/1563-0625-POP-2878>.

16. Роль медиаторов врожденного иммунитета в индукции нейродегенерации сетчатки при сахарном диабете 2-го типа / М. П. Ручкин, Е. В. Маркелова, Г. А. Федяшев, В. Е. Красников // Российский офтальмологический журнал. – 2022. – Т.4. – №15. – С. 72-76. DOI: 10.21516/2072-0076-2022-15-4-72-76.-EDN: YQOMKO.

17. Роль полиморфизма гена eNOS в иммунопатогенезе первичной открытоугольной глаукомы / О. А. Свитич, А. Р. Кинкулькина, А. С. Авагян, Т. В. Гаврилова // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2022. – Т. 99. – № 1. – С. 54-62. DOI: 10.36233/0372-9311-221. – EDN PMMWGJ.

18. Роль цитокинов в патогенезе открытоугольной глаукомы / В. В. Рахманов, Д. И. Соколов, С. А. Сельков [и др.] // Вестник РАМН. – 2020. – Т. 75. – № 6. – С. 609-616. DOI: <https://DOI.org/10.15690/vramn1289>.

19. Роль цитокинов, нейропептидов и матриксных металлопротеиназ в иммунопатогенезе нейродегенерации сетчатки при диабетической ретинопатии / М. П. Ручкин, Е. В. Маркелова, Г. А. Федяшев, В. Н. Ющук // Российский иммунологический журнал. – 2022. – Т. 25. – №4. – С. 515-520. – DOI: 10.46235/1028-7221-1157-ROC. - EDN DNOXUW.

20. Свинаярева, Д. И. Вклад ген-генных взаимодействий полиморфных локусов матриксных металлопротеиназ в подверженность к первичной открытоугольной глаукоме у мужчин / Д. И. Свинаярева / Научные результаты биомедицинских исследований. – 2020. – Т. 6. – № 1. С. 63-77. DOI: 10.18413/2658-6533-2020-6-1-0-6.

21. Слепова, О. С. Особенности местного и системного цитокинового статуса у здоровых разного возраста и пациентов с начальной стадией первичной открытоугольной глаукомы / О. С. Слепова, М. У. Арапиев, Д. Н. Ловпаче // Национальный журнал глаукома. – 2016. – Т. 15. – № 1. – С. 3-12 DOI: 10.1097/00004647-199605000-00004.
22. Содержание матриксных металлопротеиназ во внутриглазной жидкости пациентов с первичной открытоугольной глаукомой / В. В. Черных, В. И. Коненков, Н. Б. Орлов [и др.] // Сибирский научный медицинский журнал. – 2020. – Т. 40. – № 5. – С. 73-78. – DOI: 10.15372/SSMJ20200508. – EDN TTINSK.
23. Содержание цитокинов и факторов роста во внутриглазной жидкости у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой / В. В. Черных, В. И. Коненков, О. В. Ермакова [и др.] // Бюллетень сибирской медицины. – 2019. – Т. 18. – № 1. – С. 257-265. – DOI: 10.20538/1682-0363-2019-1-257-265. – EDN WCXVYA.
24. Содержание цитокинов и факторов роста во внутриглазной жидкости у пациентов с первич Association between interleukin-10 genetic polymorphisms and risk of primary open angle glaucoma in a Chinese Han population ной открытоугольной глаукомой / В. В. Черных, В. И. Коненков, О. В. Ермакова [и др.] // Бюллетень сибирской медицины. – 2019. – Т. 18. – № 1. – С. 257–265.
25. Соломатина, М. В. Иммунологические аспекты глаукомы / М. В. Соломатина, В. Г. Лихванцева, А. В. Колесникова // Практическая медицина. – 2017, № 3. – С. 16-21.
26. Сравнительный анализ полиморфизма генов цитокинов IL1B (rs1143627), IL4 (rs2243250), IL6 (rs1800795), IL8 (rs4073), IL10 (rs1800896, rs1800872), IL17A (rs227593) и их комплексов у пациентов с первичной открытоугольной формой глаукомы относительно здоровых лиц европеоидного населения Западной Сибири / А. В. Шевченко, В. Ф. Прокофьев, В. И. Коненков [и др.] // Иммунология. – 2021. – Т. 42. – № 3. – С. 211-221. DOI: <https://DOI.org/10.33029/0206-4952-2021-42-3-211-221>.

27. Старикова, Д. И. Современные представления о молекулярных основах этиопатогенеза первичной открытоугольной глаукомы / Д. И. Старикова, М. И. Чурносков // Офтальмохирургия. – 2017. – № 3. – С. 80-83. – EDN ZQLJPD.
28. Факторы врожденного иммунитета в патогенезе глаукомы и оптической нейропатии / Н. В. Балацкая, С. Ю. Петров, В. И. Котелин // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2021. – № 1. – С. 29-38. – DOI 10.14427/jipai.2021.1.29. – EDN SUNHXE.
29. Цитокины слезной жидкости как потенциальные биомаркеры первичной открытоугольной глаукомы / Л.Ю. Барычева, Д.М. Какулия, М.М. Минасян // Медицинский вестник Северного Кавказа. 2023. – Т.18. – №3. – С.303-305. DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2023.18071>.
30. Чередниченко, Л. П. Определение провоспалительных цитокинов в ранней диагностике первичной открытоугольной глаукомы / Л. П. Чередниченко, Л. Ю. Барычева, А. А. Берновская // Российский офтальмологический журнал. – 2013. – №2. – С. 82-85.
31. Черных, В. В. Цитокины и факторы роста в патогенезе первичной открытоугольной глаукомы / В. В. Черных, А. Н. Трунов // Офтальмохирургия. – 2020. – № 3. – С. 80-84. – DOI 10.25276/0235-4160-2020-3-80-84. – EDN HJURSV.
32. Шаммадаев, А. Ш. Ассоциация полиморфизма С174G гена интерлейкина-6 с риском развития первичной открытоугольной глаукомы / А. Ш. Шаммадаев // Colloquium-Journal. – 2019. – № 16-5(40). – С. 81-82. – EDN QYSVDH.
33. A meta-analysis of randomized, double-blind, placebo-controlled trials for the effects of garlic on serum lipid profiles / T. Zeng, F. F. Guo, C. L. Zhang [et al.] // J. Sci. Food. Agric. – 2012. – Vol. 92. – № 9. – P. 1892-1902. DOI: 10.1002/jsfa.5557.
34. A Perspective Review on the Role of Nanomedicine in the Modulation of TNF-TNFR2 Axis in Breast Cancer Immunotherapy / M. Al-Hatamleh, S. Ahmad, J. C. Boer [et al.] // J. Oncol. – 2019. – P. 6313242. DOI: 10.1155/2019/6313242.
35. A pilot study on ocular safety and efficacy of infliximab as an antifibrotic agent after experimental glaucoma filtration surgery / E. Nikita, A. Moulin, I. Vergados

[et al.] // *Ophthalmol. Ther.* – 2017. – Vol. 6. – № 2. – P. 323-334. DOI: 10.1007/s40123-017-0096-4.

36. A small peptide antagonist of the Fas receptor inhibits neuroinflammation and prevents axon degeneration and retinal ganglion cell death in an inducible mouse model of glaucoma / A. Krishnan, A. J. Kocab, D. N. Zacks [et al.] // *J. Neuroinflammation.* – 2019. – Vol. 16. – № 1. – P. 184. DOI: 10.1186/s12974-019-1576-3.

37. Abu-Amero, K. An Updated Review on the Genetics of Primary Open Angle Glaucoma / K. Abu-Amero, A. A. Kondkar, K.V. Chalam // *Int. J. Mol. Sci.* – 2015. – Vol. 16. – № 6. – P. 28886-28911. DOI: 10.3390/ijms161226135.

38. Aboobakar, I. F. The genetics of glaucoma: Disease associations, personalised risk assessment and therapeutic opportunities-A review / I. F. Aboobakar, J. L. Wiggs // *Clin. Exp. Ophthalmol.* – 2022. – Vol. 50, № 2. – P. 143-162. DOI: 10.1111/ceo.14035.

39. Activation of a tissue-specific stress response in the aqueous outflow pathway of the eye defines the glaucoma disease phenotype / N. Wang, S. K. Chintala, M. E. Fini, J. S. Schuman // *Nat. Med.* – 2001. – Vol 7. – № 3. – P. 304-309. DOI: 10.1038/85446.

40. Activation of retinal glial cells contributes to the degeneration of ganglion cells in experimental glaucoma / Y. Miao, G. L. Zhao, S. Cheng [et al.] // *Prog. Retin. Eye Res.* – 2023. – Vol. 93. – P. 101169. DOI: 10.1016/j.preteyeres.2023.101169.

41. Adornetto, A. Neuroinflammation as a target for glaucoma therapy / A. Adornetto, R. Russo, V. Parisi // *Neural. Regen. Res.* – 2019. – Vol. 14. – № 3. – P. 391-394. DOI: 10.4103/1673-5374.245465.

42. Aggarwal, B. B. Signalling pathways of the TNF superfamily: a double-edged sword / B. B. Aggarwal // *Nat. Rev. Immunol.* – 2003. – Vol. 3. – № 9. – P. 745-756. DOI: 10.1038/nri1184.

43. Altered Expression Levels of MMP1, MMP9, MMP12, TIMP1, and IL-1 $\beta$  as a Risk Factor for the Elevated IOP and Optic Nerve Head Damage in the Primary

Open-Angle Glaucoma Patients / L. Markiewicz, D. Pytel, B. Mucha [et al.] // *Biomed. Res. Int.* – 2015. – Vol. 2015. – P. 812503. DOI: 10.1155/2015/812503.

44. Analysis of COCH and TNFA variants in East Indian primary open-angle glaucoma patients / S. Chakraborty, S. Mookherjee, A. Sen, K. Ray // *Biomed. Res. Int.* – 2013. – Vol. 2013. – P. 937870. DOI: 10.1155/2013/937870.

45. Analyzing cytokines as biomarkers to evaluate severity of glaucoma / Y. Tong, Y-L. Zhou, Y. Zheng [et al.] // *Int. J. Ophthalmol.* – 2017. – Vol. 10. – № 6. – P. 925-930. DOI: 10.18240/ijo.2017.06.15.

46. Angiotensin II related glial cell activation and necroptosis of retinal ganglion cells after systemic hypotension in glaucoma / S. J. Jeon, J. Huh, E. Jeong [et al.] // *Cell. Death. Dis.* – 2022. – Vol. 13. – № 4. – P. 323. DOI: 10.1038/s41419-022-04762-4.

47. Asian Race and Primary Open-Angle Glaucoma: Where Do We Stand? / A. Belamkar, A. Harris, F. Oddone [et al.] // *J. Clin. Med.* – 2022. – Vol. 11. – № 9. – P. 2486. DOI: 10.3390/jcm11092486.

48. Association between IL1A and IL1B polymorphisms and primary open angle glaucoma in a Brazilian population / M. B. Oliveira, J. P. C. de Vasconcellos, G. Ananina [ et el.] // *Exp. Biol. Med. (Maywood).* – 2018. – Vol. 243. – № 13. – P. 1083-1091. DOI: 10.1177/1535370218809709.

49. Association between interleukin-10 genetic polymorphisms and risk of primary open angle glaucoma in a Chinese Han population: a case-control study / Y. H. Zhang, Y. Q. Xing, Z. Chen [et al.] // *Int. J. Ophthalmol.* – 2019. – Vol. 12. – № 10. – P. 1605-1611. DOI: 10.18240/ijo.2019.10.13.

50. Association of Gene Polymorphisms With Primary Open Angle Glaucoma: A Systematic Review and Meta-Analysis / M. Chen, X. Yu, J. Xu [et al.] // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 2019. – Vol. 60. – № 4. – P. 1105-1121. DOI: 10.1167/iovs.18-25922.

51. Association of Genetic Polymorphisms in Oxidative Stress and Inflammation Pathways with Glaucoma Risk and Phenotype / M. A. Velkovska, K. Goričar, T. Blagus [et al.] // *J. Clin. Med.* – 2021. – Vol. 10. – № 5. – P. 1148. DOI: 10.3390/jcm10051148.

52. Association of glutathione S-transferase polymorphisms (GSTM1 and GSTT1) with primary open-angle glaucoma: an evidence-based meta-analysis / W. Huang, W. Wang, M. Zhou [et al.] // *Gene*. – 2013. – Vol. 526. – № 2. – P. 80-86. DOI: 10.1016/j.gene.2013.05.032.
53. Association of IL-10 gene promoter polymorphisms with susceptibility to pseudoexfoliation syndrome, pseudoexfoliative and primary open-angle glaucoma / G. Fakhraie, F. Parvini, J. Ghanavi [et al.] // *BMC Med. Genet.* – 2020. – Vol. 21. – № 1. – P. 32. DOI: 10.1186/s12881-020-0969-6.
54. Association of IL1A and IL1B loci with primary open angle glaucoma / S. Mookherjee, D. Banerjee, S. Chakraborty [et al.] // *BMC Med. Genet.* – 2010. – Vol. 11. – P. 99. DOI: 10.1186/1471-2350-11-99.
55. Association of increased levels of plasma tumor necrosis factor  $\alpha$  with primary open-angle glaucoma / A. A. Kondkar, T. Sultan, F. A. Almobarak [et al.] // *Clin. Ophthalmol.* – 2018. – Vol. 12. – P. 701-706. DOI: 10.2147/OPHTH.S162999.
56. Association of Interleukin-1 gene clusters polymorphisms with primary open-angle glaucoma: a meta-analysis / J. Li, Y. Feng, M. S. Sung [et al.] // *BMC Ophthalmol.* – 2017. – Vol. 17. – № 1. – P. 218. DOI: 10.1186/s12886-017-0616-y.
57. Association of MTHFR C677T polymorphism with primary open angle glaucoma: a Meta-analysis based on 18 case-control studies / Y. M. Yang, Y. P. Liu, D. Y. Li [et al.] // *Int. J. Ophthalmol.* – 2021. – Vol. 14. – № 6. – P. 896-902. DOI: 10.18240/ijo.2021.06.16.
58. Association of polymorphisms of tumor necrosis factor and tumor protein p53 with primary open-angle glaucoma / B. J. Fan, K. Liu, D. Y. Wang [et al.] // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 2010. – 2010. – Vol. 51. – № 8. – P. 4110-4116. DOI: 10.1167/iovs.09-4974.
59. Association of TNF- $\alpha$  and TNF- $\beta$  Gene Polymorphisms with Primary Open Angle and Primary Angle Closure Glaucoma / N. M. Al-Dabbagh, N. Al-Dohayan, A. Al-Asmari [et al.] // *The Mystery of Glaucoma*. – 2011. – P. 229-256.
60. Association of TNF- $\alpha$  gene alterations (c.-238G>A, c.-308G>A, c.-857C>T, c.-863C>A) with primary glaucoma in north Indian cohort / S. Passan, S. Goyal, M. A.

Bhat [et al.] // *Gene*. – Vol. 2019. – Vol. 709. – P. 25-35. DOI: 10.1016/j.gene.2019.05.035.

61. Association of tumor necrosis factor alpha gene polymorphism G-308A with pseudoexfoliative glaucoma in the Pakistani population / M. I. Khan, S. Micheal, N. Rana [et al.] // *Mol. Vis.* – 2009. – Vol. 15. – P. 2861-2867.

62. Association of tumour necrosis factor alpha –308 gene polymorphism with primary open-angle glaucoma in Chinese / H. J. Lin, F. J. Tsai, W. C. Chen [et al.] // *Eye*. (Lond). – 2003. – Vol. 17. – № 1. – P. 31-34. DOI: 10.1038/sj.eye.6700227.

63. Association of tumour necrosis factor-alpha –308 G/A polymorphism with primary open-angle glaucoma / B. Bozkurt, L. Mesci, M. Irkec [et al.] // *Clin. Exp. Ophthalmol.* – 2012. – Vol. 40. – № 4. – P. e156-e162. DOI: 10.1111/j.1442-9071.2011.02595.x.

64. Association study of multiple gene polymorphisms with the risk of adult-onset primary open-angle glaucoma in a Mexican population / B. Buentello-Volante, C. Elizondo-Olascoaga, A. Miranda-Duarte [et al.] // *Exp. Eye. Res.* – 2013. – Vol. 107. – P. 59-64.n. DOI: 10.1016/j.exer.2012.11.013.

65. Associations of vitamin D deficiency and vitamin D receptor (Cdx-2, Fok I, Bsm I and Taq I) polymorphisms with the risk of primary open-angle glaucoma / Y. Lv, Q. Yao, W. Ma [et al.] // *BMC Ophthalmol.* – 2016. – Vol. 16. – P. 116. DOI: 10.1186/s12886-016-0289-y.

66. Astrocyte and oligodendrocyte cross-talk in the central nervous system / E. Nutma, D. van Gent, S. Amor, L.A.N. Peferoen // *Cells*. – 2020. – Vol. 9, № 3. – P. 600. DOI: 10.3390/cells9030600.

67. Babizhayev, M. A. Biomarkers and special features of oxidative stress in the anterior segment of the eye linked to lens cataract and the trabecular meshwork injury in primary open-angle glaucoma: challenges of dual combination therapy with N-acetylcarnosine lubricant eye drops and oral formulation of nonhydrolyzed carnosine / M. A. Babizhayev // *Fundam. Clin. Pharmacol.* – 2012. – Vol. 26. – № 1. – P. 86-117. DOI: 10.1111/j.1472-8206.2011.00969.x.

68. Baseline Central Visual Field Defect as a Risk Factor for NTG Progression: A 5-Year Prospective Study / P. Raman, N. B. Suliman, M. Zahari [et al.] // *J. Glaucoma.* – 2019. – Vol. 28. – № 11. – P. 952-957. DOI: 10.1097/IJG.0000000000001359.
69. Beykin, G. Molecular Biomarkers for Glaucoma // G. Beykin, J. L. Goldberg et al. // *Curr. Ophthalmol. Rep.* – 2019. – Vol. 7. – № 3. – P. 171-176. DOI: 10.1007/s40135-019-00213-0.
70. Bilateral neuroinflammatory processes in visual pathways induced by unilateral ocular hypertension in the rat / A. Sapienza, A. L. Raveu, E. Reboussin [et al.] // *J. Neuroinflammation.* – 2016. – Vol. 13. – № 1. – P. 44. DOI:10.1186/s12974-016-0509-7.
71. Biomarkers in primary open angle glaucoma / H. Kokotas, C. Kroupis, D. Chiras [et al.] // *Clin. Chem. Lab. Med.* – 2012. – Vol. 50. – № 12. – P. 2107-2119. DOI: 10.1515/cclm-2012-0048.
72. Candidate Glaucoma Biomarkers: From Proteins to Metabolites, and the Pitfalls to Clinical Applications / A. Fernández-Vega Cueto, L. Álvarez, M. García [et al.] // *Biology (Basel).* – 2021. – Vol. 10, № 8. – P. 763. DOI: 10.3390/biology10080763.
73. Cellular and molecular mechanisms of retinal ganglion cell death in hypoxic-ischemic injuries / C. Kaur, G. Rathnasamy, W. S. Foulds, E. A. Ling // *J. Neurol. Exp. Neurosci.* – 2015. – Vol. 1. – № 1. – P. 10-19.
74. Cellular senescence and the senescent secretory phenotype: therapeutic opportunities / T. Tchkonja, Y. Zhu, J. van Deursen [et al.] // *J. Clin. Invest.* – 2013. – Vol. 123. – № 3. – P. 966-972. DOI: 10.1172/JCI64098
75. Characteristic Profiles of Inflammatory Cytokines in the Aqueous Humor of Glaucomatous Eyes / T. Kokubun, S. Tsuda, H. Kunikata [et al.] // *Ocul. Immunol. Inflamm.* – 2018. – Vol. 26. – № 8. – P. 1177-1188. DOI: 10.1080/09273948.2017.1327605.
76. Chen, M. Parainflammation, chronic inflammation, and age-related macular degeneration / M. Chen, H. Xu // *J. Leukoc. Biol.* – 2015. – Vol. 98. – № 5. – P. 713-725. DOI: <https://DOI.org/10.1189/jlb.3RI0615-239R>.

77. Cherry, J. D. Neuroinflammation and M2 microglia: the good, the bad, and the inflamed / J. D. Cherry, J. A. Olschowka, M. K. O'Banion // *J. Neuroinflammation*. – 2014. – Vol. 11. – P. 98. DOI: 10.1186/1742-2094-11-98.
78. Chidlow, G. Investigations into hypoxia and oxidative Stress at the optic nerve head in a rat model of glaucoma / G. Chidlow, J. P. M. Wood, R. J. Casson // *Front. Neurosci.* – 2017. – Vol. 11. – P. 478. DOI: 10.3389/fnins.2017.00478.
79. Clark, I. A. Excess cerebral TNF causing glutamate excitotoxicity rationalizes treatment of neurodegenerative diseases and neurogenic pain by anti-TNF agents / I. A. Clark, B. J. Vissel // *Neuroinflamm.* – 2016. – Vol. 13. – P. 236.
80. Clark, I. A. Neurodegenerative Disease Treatments by Direct TNF Reduction, SB623 Cells, Maraviroc and Irisin and MCC950, From an Inflammatory Perspective – a Commentary / I. A. Clark, B. Vissel // *Expert. Rev. Neurother.* – 2019. – Vol. 19. – № 6. – P. 535-543. DOI: 10.1080/14737175.2019.1618710.
81. Clinical Tear Fluid Proteomics—A Novel Tool in Glaucoma Research / J. Nättinen, U. Aapola, P. Nukareddy, H. Uusitalo // *Int. J. Mol. Sci.* – 2022. – Vol. 23. – № 15. – P. 8136. DOI: 10.3390/ijms23158136.
82. Comparative analysis of cytokine profiles of glaucomatous tears and aqueous humour reveals potential biomarkers for trabeculectomy complications / É. Csósz, N. Deák, N. Tóth [et al.] // *FEBS Open Bio.* – 2019. – Vol. 9. – № 5. – P. 1020-1028. DOI: 10.1002/2211-5463.12637.
83. Comparison of cytokine profiles in the aqueous humor of eyes with pseudoexfoliation syndrome and glaucoma / J. G. Garweg, S. Zandi, I. B. Pfister [et al.] // *PLoS ONE*. – 2017. – Vol. 12. – № 8. – P. e0182571. DOI: 10.1371/journal.pone.0182571.
84. Comparison study for identifying promoter allelic polymorphism in interleukin 10 and tumor necrosis factor alpha genes / P. Agarwal, M. C. Oldenburg, J. E. Czarneski, [et al.] // *Diagn. Mol. Pathol.* – 2000. – Vol. 9. – № 3. – P. 158-164. DOI: 10.1097/00019606-200009000-00006.
85. Content of mediators of innate immunity in the tears of patients with vascular and neurodegenerative manifestations of diabetic retinopathy / M. P. Ruchkin, E. B.

Markelova, G. A. Fedyashev // *Medical Immunology (Russia)*. – 2023. – T. 25. – № 5. – P.1007-1012. DOI: 10.15789/1563-Q625- COM-2671.

86. Critical Role of Mass Spectrometry Proteomics in Tear Biomarker Discovery for Multifactorial Ocular Diseases (Review) / J. Y. W. Ma, Y. H. Sze, J. F. Bian, T. C. Lam // *Int. J. Mol. Med.* – 2021. – Vol. 47. – № 5. – P. 83. DOI: 10.3892/ijmm.2021.4916.

87. Cueva, Vargas J. L. The glial cell modulator ibudilast attenuates neuroinflammation and enhances retinal ganglion cell viability in glaucoma through protein kinase A signaling / J. L. Cueva Vargas, N. Belforte, A. Di Polo // *Neurobiol. Dis.* – 2016. – Vol. 93. – P. 156-171. DOI: 10.1016/j.nbd.2016.05.002.

88. Cytokine biomarkers in tear film for primary open-angle glaucoma /D. Gupta, J. C. Wen, J. L. Huebner [et al.] // *Clin. Ophthalmol.* – 2017. – Vol. 11. – P. 411-416. DOI: 10.2147/OPHTH.S125364.

89. Cytokine expression in tears of patients with glaucoma or dry eye disease: a prospective, observational cohort study / J. Benitez-Del-Castillo, J. Cantu-Dibildox, S. M. Sanz-Gonzalez [et al.] // *Eur. J. Ophthalmol.* – 2019. – Vol. 29. – № 4. – P. 437-443. DOI: 10.1177/1120672118795399.

90. Determination of immune response and inflammation mediators in tears: Changes in dry eye and glaucoma as compared to healthy controls / J. Benitez-Del-Castillo Sánchez, M. D. Morillo-Rojas, C. Galbis-Estrada, M. D. Pinazo-Duran // *Arch. Soc. Esp. Oftalmol.* – 2017. – Vol. 92. – № 5. – P. 210-217. DOI: 10.1016/j.ofal.2016.12.009.

91. Differential protein expression profiles in glaucomatous trabecular meshwork: an evaluation study on a small primary open angle glaucoma population / A. Micera, L. Quaranta, G. Esposito [et al.] // *Adv. Ther.* – 2016. – Vol. 33. – № 2. – P. 252-267. DOI: <https://DOI.org/10.1007/s12325-016-0285-x>.

92. Discovery and clinical translation of novel glaucoma biomarkers / G. Beykin, M. N. Anthony, V. J. Srinivasan [et al.] // *Prog. Retin. Eye Res.* – 2021. – Vol.80. – P. 100875. DOI: 10.1016/j.preteyeres.2020.100875.

93. Early optic nerve head glial proliferation and Jak-Stat pathway activation in chronic experimental glaucoma / D. C. Lozano, T. E. Choe, W. O. Cepurna [et al.] // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 2019. – Vol. 60. – № 4. – P. 921-932. DOI: 10.1167/iovs.18-25700.
94. Eells, J.T. Mitochondrial dysfunction in the aging retina / J.T. Eells // *Biology (Basel)*. – 2019. – Vol. 8. – № 2. – P. 31. DOI: 10.3390/biology8020031.
95. Effects of donor age on proteasome activity and senescence in trabecular meshwork cells / M. Caballero, P. B. Liton, P. Challa [et al.] // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2004. – Vol. 323. – № 3. – P. 1048-1054. DOI: 10.1016/j.bbrc.2004.08.195.
96. Effects of TNF $\alpha$  Receptor TNF-Rp55-Or TNF-Rp75-Deficiency on Corneal Neovascularization and Lymphangiogenesis in the Mouse / A-K. B. Maier, N. Reichhart, J. Gonnermann [et al.] // *PloS One*. – 2021. – Vol. 16. – № 4. – P. e0245143. DOI: 10.1371/journal.pone.0245143.
97. Elevated dimethylarginine, ATP, cytokines, metabolic remodeling involving tryptophan metabolism and potential microglial inflammation characterize primary open angle glaucoma / S. K. Pulukool, S. K. S. Bhagavatham, V. Kannan [et al.] // *Sci. Rep.* – 2021. – Vol. 11, № 1. – P. 17903. DOI: 10.1038/s41598-021-97509-8.
98. Elevated IL1- $\beta$  level in Plasma is associated with Primary Open angle Glaucoma in a Brazilian population / M. B. Oliveira, J. P. C. Vasconcellos, V. P. Costa, M. B. Melo // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 2015. – Vol. 56. – № 7. – P. 1975.
99. Elevated Levels of Plasma Tumor Necrosis Factor Alpha in Patients With Pseudoexfoliation Glaucoma / A. A. Kondkar, T. A. Azad, F. A. Almobarak [et al.] // *Clin. Ophthalmol. (Auckland NZ)*. – 2018. – Vol. 12. – P. 153-159. DOI: 10.2147/OPHTH.S155168.
100. Enhanced insight into the autoimmune component of glaucoma: IgG autoantibody accumulation and pro-inflammatory conditions in human glaucomatous retina / O. W. Gramlich, S. Beck, N. von Thun Und Hohenstein-Blaul [et al.] // *PloS One*. – 2013. – Vol. 8. – № 2. – P. e57557. DOI: 10.1371/journal.pone.0057557.

101. Esporcatte, B. L. Normal-tension glaucoma: an update / B. L. Esporcatte, I. M. Tavares // *Arq. Bras. Oftalmol.* – 2016. – Vol. 79. – № 4. – P. 270-276. DOI: 10.5935/0004-2749.20160077.
102. Etanercept, a widely used inhibitor of tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), prevents retinal ganglion cell loss in a rat model of glaucoma / M. Roh, Y. Zhang, Y. Murakami [et al.] // *PloS One.* – 2012. – Vol. 7, №7. – P. e40065. DOI: 10.1371/journal.pone.0040065.
103. Evaluating TNF- $\alpha$  and Interleukin-2 (IL-2) Levels in African American Primary Open-Angle Glaucoma Patients / T. Alapati, K. M. Sagal, H. V. Gudiseva [et al.] // *Genes (Basel).* – 2021. – Vol. 13. – № 1. – P. 54. DOI: 10.3390/genes13010054.
104. Evaluation of the IL1 gene cluster single nucleotide polymorphisms in primary open-angle glaucoma pathogenesis / S. Mookherjee, D. Banerjee, S. Chakraborty [et al.] // *Genet. Test. Mol. Biomarkers.* – 2016. – Vol. 20. – № 10. – P. 633-636. DOI: 10.1089/gtmb.2015.0344.
105. Expression profile and TNF- $\alpha$  gene polymorphism in primary open-angle glaucoma / D. M. Kakulia, L. Yu. Barycheva, A. B. Khodzhayan, M. M. Minasyan // *Медицинский вестник Северного Кавказа.* 2023. – Т.18. – №2. – С.186-188. DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2023.18042>.
106. Factors Associated with Elevated Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  in Aqueous Humor of Patients with Open-Angle Glaucoma / Y. Jung, K. Ohn, H. Shin [et al.] // *J. Clin. Med.* – 2022. – Vol. 11. – № 17. – P. 5232. DOI: 10.3390/jcm11175232.
107. Factors influencing aqueous proinflammatory cytokines and growth factors in uveitic glaucoma / S. Ohira, T. Inoue, K. Iwao [et al.] // *PLoS One.* – 2016. – Vol. 11. – № 1. – P. e0147080. DOI: 10.1371/journal.pone.0147080.
108. Franceschi, C. Chronic inflammation (inflammaging) and its potential contribution to age-associated diseases / C. Franceschi, J. Campisi // *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.* – 2014. – Vol. 69 (Suppl 1). – P. S4-S9. DOI: 10.1093/gerona/glu057.
109. Freedman, J. Pro-inflammatory cytokines in glaucomatous aqueous and encysted Molteno implant blebs and their relationship to pressure / J.

Freedman, P. Iserovich // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 2013. – Vol. 54. – № 7. – P. 4851-4855. DOI: 10.1167/iovs.13-12274.

110. Gene Expression–Based predictive models of graft versus host Disease–Associated dry eye / L. Cocho, I. Fernández, M. Calonge [et al.] // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* –2015. – Vol. 56. – № 8. – P. 4570.

111. Genes of tumor necrosis factors and their receptors and the primary open angle glaucoma in the population of Central Russia / E. Tikunova, V. Ovtcharova, E. Reshetnikov [et al.] // *Int. J. Ophthalmol.* – 2017. – Vol. 10. – №.10. – P. 1490-1494. DOI: 10.18240/ijo.2017.10.02.

112. Genes, pathways, and animal models in primary open-angle glaucoma / A. I. Iglesias, H. S. Springelkamp, W. D. Ramdas // *Eye (Lond.)*. – 2015. – Vol. 29. – № 10. – P. 1285-1298. DOI: 10.1038/eye.2015.160.

113. Ghanem, A. A. Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  and Interleukin-6 Levels in patients with primary open-angle Glaucoma / A. A.Ghanem, L. F. Arafa, A. M. Elewa // *J. Clinic. Experiment. Ophthalmol.* – 2011. – Vol. 2. – № 1. DOI:10.4172/2155-9570.1000118.

114. Glaucoma-associated corneal endothelial cell damage: a review / B. J. Janson, W. L. Alward, Y. H. Kwon [et al.] // *Surv. Ophthalmol.* – 2018. – Vol. 63. – № 4. – P. 500-506. DOI: 10.1016/j.survophthal.2017.11.002.

115. Glinská, G. Diagnostic potential of tears in ophthalmology / G. Glinská, K. Krajčíková, V. Tomečková // *Cesk. Slov. Oftalmol.* – 2017. – Vol. 73, № 3. – P. 101-108. PMID: 29394076.

116. Global changes in optic nerve head gene expression after exposure to elevated intraocular pressure in a rat glaucoma model / E. C. Johnson, L. Jia, W. O. Cepurna [et al.] // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 2007. – Vol. 48. – № 7. – P. 3161-3177. DOI: 10.1167/iovs.06-1282.

117. Global prevalence of glaucoma and projections of glaucoma burden through 2040: a systematic review and meta-analysis / Y. C. Tham, X. Li, T. Y. Wong [et al.] // *Ophthalmology.* – 2014. – Vol. 121. – № 11. – P. 2081-2090. DOI: 10.1016/j.opthta.2014.05.013.

118. GlyCAM1 negatively regulates monocyte entry into the optic nerve head and contributes to radiation-based protection in glaucoma / P. A. Williams, C. E. Braine, N. E. Foxworth [et al.] // *J. Neuroinflammation*. – 2017. – Vol. 14. – № 1. – P. 93. DOI: 10.1186/s12974-017-0868-8.
119. GSTM1-null and GSTT1-active genotypes as risk determinants of primary open angle glaucoma among smokers / M. Stamenkovic, V. Lukic, S. Suvakov [et al.] // *Int. J. Ophthalmol.* – 2018. – Vol. 11. – № 9. – P. 1514-1520. DOI: 10.18240/ijo.2018.09.14.
120. Hajeer, A. H. Influence of TNFalpha gene polymorphisms on TNFalpha production and disease / A. H. Hajeer, I. V. Hutchinson // *Hum. Immunol.* – 2001. – Vol. 62. – № 11. – P. 1191-1199. DOI: 10.1016/s0198-8859(01)00322-6.
121. Haplotypes of IL-10 promoter variants are associated with susceptibility to severe malarial Anemia and functional changes in IL-10 production / C. Ouma, G. C. Davenport, T. Were [et al.] // *Hum. Genet.* – 2008. – Vol. 124. – № 5. – P. 515-524. DOI: 10.1007/s00439-008-0578-5.
122. Harbord, R. M. A modified test for small-study effects in meta-analyses of controlled trials with binary endpoints / R. M. Harbord, M. Egger, J. A. Sterne // *Stat. Med.* – 2006. – Vol. 25. – № 20. – P. 3443-3457. DOI: 10.1002/sim.2380. PMID: 16345038.
123. High interleukin-8 level in aqueous humor is associated with poor prognosis in eyes with open angle glaucoma and neovascular glaucoma / I. Chono, D. Miyazaki, H. Miyake [et al.] // *Sci Rep.* – 2018. – Vol. 8. – № 1. – P. 14533. DOI: 10.1038/s41598-018-32725-3.
124. IL-1 Family Members Mediate Cell Death, Inflammation and Angiogenesis in Retinal Degenerative Diseases / Y. Wooff, S. M. Man, R. Aggio-Bruce [et al.] // *Front. Immunol.* – 2019. – Vol. 10. – P. 1618. DOI: 10.3389/fimmu.2019.01618.
125. IL10-driven STAT3 signalling in senescent macrophages promotes pathological eye angiogenesis / R. Nakamura, A. Sene, A. Santeford [et al.] // *Nat. Commun.* – 2015. – Vol. 6. – P. 7847. DOI: 10.1038/ncomms8847.

126. IL-10-mediated suppression of TNF-alpha production is independent of its ability to inhibit NF kappa B activity / C. J. Clarke, A. Hales, A. Hunt, B. M. Foxwell // *Eur. J. Immunol.* – 1998. – Vol. 28. – № 5. – P. 1719-1726. DOI: 10.1002/(SICI)1521-4141(199805)28:05<1719::AID-IMMU1719>3.0.CO;2-Q.

127. IL-2 may possess neuroprotective properties in glaucomatous optic neuropathy / N. Hautala, V. Glumoff, T. Hautala, O. Vainio // *Acta. Ophthalmol.* – 2012. – Vol. 90. – № 3. – P. e246-247. DOI: 10.1111/j.1755-3768.2011.02219.x.

128. Immune regulation in the aging retina / M. Chen, C. Luo, J. Zhao [et al.] // *Prog. Retin. Eye Res.* – 2019. – Vol. 69. – P. 159-172. DOI: 10.1016/J.Preteyeres.2018.10.003.

129. Inflammation in Glaucoma: From the back to the front of the eye, and beyond / C. Baudouin, M. Kolko, S. Melik-Parsadaniantz, E. M. Messmer // *Prog. Retin. Eye Res.* – 2021. – Vol. 83. – P. 100916. DOI: 10.1016/j.preteyeres.2020.100916.

130. Inflammation-related cytokines of aqueous humor in acute primary angle-closure eyes / W. Huang, S. Chen, X. Gao [et al.] // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 2014. – Vol. 55. – № 2. – P. 1088-1094. DOI: 10.1167/iovs.13-13591.

131. Inflammatory Cytokines in Aqueous Humor and Plasma are associated with Primary Open angle Glaucoma in a Brazilian population / M. B. Oliveira, J. P. C. Vasconcellos, V. P. Costa, M. B. Melo // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 2014. – Vol. 55, № 13. – P. 5711.

132. Inflammatory model in patients with primary open angle glaucoma and diabetes / A. Pantaloni, O. Obada, D. Constantinescu [et al.] // *Int. J. Ophthalmol.* – 2019. – Vol. 12. – № 5. – P. 795-801. DOI: 10.18240/iJo.2019.05.15.

133. Interleukin 1 gene polymorphism and susceptibility to disease / K. Khazim, E. E. Azulay, B. Kristal, I. Cohen // *Immunol. Rev.* – 2018. – Vol. 281. – № 1. – P. 40-56. DOI: 10.1111/imr.12620.

134. Interleukin-1 attenuates normal tension glaucoma-like retinal degeneration in EAAC1-deficient mice / K. Namekata, Harada, X. Guo [et al.] // *Neurosci. Lett.* – 2009. – Vol. 465. – № 2. – P. 160-164. DOI: 10.1016/j.neulet.2009.09.029.

135. Interleukin-10 (IL-10) polymorphisms are associated with IL-10 production and clinical malaria in young children / G. Zhang, M. N. Manaca, M. McNamara-Smith [et al.] // *Infect. Immun.* – 2012. – Vol. 80. – № 7. – P. 2316-2322. DOI: 10.1128/IAI.00261-12.
136. Interleukin-10 and interleukin-6 in aqueous humor during treatment of vitreoretinal lymphoma with intravitreally injected methotrexate / H. Kawamura, N. Yasuda, M. Kakinoki [et al.] // *Ophthalmic. Res.* – 2009. – Vol. 42. – № 3. – P. 172-174. DOI: 10.1159/000230879.
137. Interleukin-1beta tear concentration in glaucomatous and ocular hypertensive patients treated with preservative-free nonselective beta-blockers / G. Manni, M. Centofanti, F. Oddone [et al.] // *Am. J. Ophthalmol.* – 2005. – Vol. 139. – № 1. – P. 72-77. DOI: 10.1016/j.ajo.2004.08.028.
138. Interleukin-1 $\beta$  level is increased in vitreous of patients with neovascular age-related macular degeneration (nAMD) and polypoidal choroidal vasculopathy (PCV) / M. Zhao, Y. Bai, W. Xie [et al.] // *PLoS ONE.* – 2015. – Vol. 10. – № 5. – P. e0125150. DOI: 10.1371/journal.pone.012 5150.
139. Interleukin-4 promotes microglial polarization toward a neuroprotective phenotype after retinal ischemia/reperfusion injury / D. Chen, C. Peng, X. M. Ding, Y. Wu [et al.] // *Neural. Regen. Res.* – 2022. – Vol. 17. – № 12. – P. 2755-2760. DOI: 10.4103/1673-5374.339500.
140. Intraocular cytokine profile and autoimmune reactions in retinitis pigmentosa, age-related macular degeneration, glaucoma and cataract / J. C. Ten Berge, Z. Fazil, I. van den Born [et al.] // *Acta. Ophthalmol.* – 2019. – Vol. 97. – № 2. – P. 185-192. DOI: 10.1111/aos.13899.
141. Intraocular pressure fluctuation and glaucoma progression: what do we know? / M. C. Leidl, C. J. Choi, Z. A. Syed, S. A. Melki // *Br. J. Ophthalmol.* – 2014. – Vol. 98. – № 10. – P. 1315-1319. DOI: 10.1136/bjophthalmol-2013-303980.
142. Investigation of intraocular pressure fluctuation as a risk factor of glaucoma progression / J. Matlach, S. Bender, J. König [et al.] // *Clin. Ophthalmol.* – 2018. – Vol. 13. – P. 9-16. DOI: 10.2147/OPTH.S186526.

143. Investigation of the association between interleukin-1beta polymorphism and normal tension glaucoma / C. Y. Wang, Y. C. Shen, C. H. Su [et al.] // *Mol. Vis.* – 2007. – Vol. 13. – P. 719-723.
144. Investigation of the Global Protein Content from Healthy Human Tears / M. Dor, S. Eperon, P.H. Lalive [et al.] // *Exp. Eye Res.* – 2019. – Vol. 179. – P. 64-74.
145. Jiang, S. Adaptive immunity: new aspects of pathogenesis underlying neurodegeneration in glaucoma and optic neuropathy / S. Jiang, M. Kametani, D. F. Chen // *Front. Immunol.* – 2020. – Vol. 11. – P. 65. DOI: 10.3389/fimmu.2020.00065.
146. Ko, K. W. SARM1 acts downstream of neuroinflammatory and necroptotic signaling to induce axon degeneration / K. W. Ko, J. Milbrandt, A. DiAntonio / *J. Cell Biol.* – 2020. – Vol. 219. – № 8. – P. e201912047. DOI: 10.1083/jcb.201912047.
147. Lack of Association between Interleukin-1 Gene Cluster Polymorphisms and Glaucoma in Chinese Subjects / A. C. S. How, T. Aung, X. Chew [et al.] // *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 2007. – Vol. 48. – № 5. – P. 2123-2126. DOI: 10.1167/iovs.06-1213.
148. Levels of cytokines in the aqueous humor of eyes with primary open angle glaucoma, pseudoexfoliation glaucoma and cataract / N. Khalef, H. Labib, H. Helmy [et al.] // *Electron. Physician.* – 2017. – Vol. 9, № 2. – P. 3833-3837. DOI: 10.19082/3833.
149. Liu, Y. X. Astrocyte polarization in glaucoma: a new opportunity / Y. X. Liu, H. Sun, W. Y. Guo // *Neural. Regen. Res.* – 2022. – Vol. 17. – № 12. – P. 2582-2588. DOI: 10.4103/1673-5374.339470.
150. Local and systemic production of 47 cytokines in patients with advanced openangle glaucoma / N. V. Balatskaya, S. Yu. Petrov, V. I. Kotelin, I. G. Kulikova // *Modern Problems of Science and Education.* – 2021. – № 3. – P. 158-158. DOI: 10.17513/spno.30906.
151. Markelova, E. V. Serum levels of cytokines in patients with retinal neurodegeneration in diabetic retinopathy on the background of type 2 diabetes mellitus / E. V. Markelova, M. P. Ruchkin, G. A. Fedyashev // *Cytokines and Inflammation.* – 2022. – Vol. 19. – № 1-4. – P. 34-37. DOI: 10.17816/ci2022221-4-6. - EDN HFPJTA.

152. Measurement of inflammatory cytokines by multicytokine assay in tears of patients with glaucoma topically treated with chronic drugs / L. Malvitte, T. Montange, A. Vejux [et al.] // *Br. J. Ophthalmol.* – 2007. – Vol. 91. – № 1. – P. 29-32. DOI: 10.1136/bjo.2006.101485.
153. Measurement of tumor necrosis factor-alpha, interleukin-6, Fas ligand, interleukin-1alpha, and interleukin-1beta in the aqueous humor of patients with open angle glaucoma using multiplex bead analysis / A. Borkenstein, C. Faschinger, R. Maier [et al.] // *Mol. Vis.* – 2013. – Vol. 19. – P. 2306-2311.
154. Medical management of glaucoma in the 21st century from a Canadian perspective / P. Harasymowycz, C. Birt, P. Gooi [et al.] // *J. Ophthalmol.* – 2016. – Vol. 2016. – P. 6509809. DOI: 10.1155/2016/6509809.
155. Medzhitov, R. Origin and physiological roles of inflammation / R. Medzhitov // *Nature.* –2008. – Vol. 454. – № 7203. – P. 428-435. DOI: 10.1038/nature07201.
156. Metabolomic Profiling of Aqueous Humor and Plasma in Primary Open Angle Glaucoma Patients Points Towards Novel Diagnostic and Therapeutic Strategy / Y. Tang, Y. Pan, Y. Chen [et al.] // *Front. Pharmacol.* – 2021. – Vol. 12. – P. 621146. DOI: 10.3389/fphar.2021.621146.
157. Microglia-derived IL-1 $\beta$  promotes chemokine expression by Müller cells and RPE in focal retinal degeneration / R. Natoli, N. Fernando, M. Madigan [et al.] // *Mol. Neurodegenerat.* – 2017. – Vol. 12. – № 1. – P. 31. DOI: 10.1186/s13024-017-0175-y.
158. Microglial phagocytosis of living photoreceptors contributes to inherited retinal degeneration. / L. Zhao, M. K. Zabel, X. Wang [et al.] // *EMBO Mol. Med.* – 2015. – Vol. 7. – № 9. – P. 1179-1197. DOI: 10.15252/emmm.201505298.
159. Minocycline Increases in-vitro Cortical Neuronal Cell Survival after Laser Induced Axotomy / B. Yulug, M. Ozansoy, M. Alokten [et al.] // *Curr. Clin. Pharmacol.* – 2020. – Vol. 15. – № 2. – P. 105-109. DOI: 10.2174/1574884714666190226093119.
160. MiRNAs and Genes Involved in the Interplay between Ocular Hypertension and Primary Open-Angle Glaucoma. Oxidative Stress, Inflammation, and Apoptosis

Networks / J. Raga-Cervera, J. M. Bolarin, J. M. Millan [et al.] // *J. Clin. Med.* – 2021. – Vol. 10. – P. 2227. DOI: 10.3390/jcm10112227.

161. Morphological analyses on retinal glial responses to glaucomatous injury evoked by venous cauterization / J. Y. Lee, J. M. Shin, M. H. Chun, S. J. Oh // *Appl. Microsc.* – 2014. – Vol. 44. – P. 21-29.

162. Muhammad, M. Tumour Necrosis Factor Alpha: A Major Cytokine of Brain Neuroinflammation / M. Muhammad // *Cytokines.* – 2019. – P. 1-14. DOI: 10.5772/intechopen.85476.

163. Multifunctional Protein Alpha2-Macroglobulin in Tear Fluid and Blood Serum of Patients with Glaucoma / N. B. Chesnokova, T. A. Pavlenko, O. V. Beznos [et al.] // *Ophthalmology in Russia.* – 2022. – Vol. 19. – № 4. – P. 835-840. DOI: 10.18008/1816-5095-2022-4-835-840.

164. Multiplex cytokine analysis of aqueous humor from the patients with chronic primary angle closure glaucoma / R. Duvesh, G. Puthuran, K. Srinivasan [et al.] // *Curr. Eye. Res.* – 2017. – Vol. 42. – № 12. – P. 1608-1613. DOI: 10.1080/02713683.2017.1362003.

165. Multiplex cytokine analysis reveals elevated concentration of interleukin-8 in glaucomatous aqueous humor / J. Kuchtey, K. A. Rezaei, P. Jaru-Ampornpan [et al.] // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 2010. – Vol. 51. – № 12. – P. 6441-6447. DOI: 10.1167/iovs.10-5216.

166. Nakazawa, T. What is glaucomatous optic neuropathy? / T. Nakazawa, T. Fukuchi // *Jpn. J. Ophthalmol.* – 2020. – C. Vol. 64, № 3. – P. 243-249. DOI: 10.1007/s10384-020-00736-1.

167. Nanoparticles for the treatment of glaucoma-associated neuroinflammation / L. Lambuk, N. A. Suhaimi, M. Z. Sadikan [et al.] // *Eye. Vis. (Lond).* – 2022. – Vol. 9. – № 1. – P. 26. DOI: 10.1186/s40662-022-00298-y.

168. Neurodegenerative and Neuroprotective Effects of Tumor Necrosis Factor (TNF) in Retinal Ischemia: Opposite Roles of TNF Receptor 1 and TNF Receptor 2 / V. Fontaine, S. Mohand-Said, N. Hanoteau [et al.] // *J. Neurosci.* – 2002. – Vol. 22. – № 7. – P. RC216. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.22-07-j0001.2002.

169. Neuroinflammation and microglia in glaucoma: time for a paradigm shift / X. Wei, K. S. Cho, E. F. Thee [et al.] // *J. Neurosci. Res.* – 2019. – Vol. 97. – № 1. – P. 70-76. DOI: 10.1002/jnr.24256.
170. Neuroinflammation in Glaucoma: A New Opportunity / P. A. Williams, N. Marsh-Armstrong, G. R. Howell [et al.] // *Exp. Eye. Res.* – 2017. – Vol. 157. – P. 20-27. DOI: 10.1016/j.exer.2017.02.014.
171. Nicotinamide deficiency in primary open-angle glaucoma / K. J. Nzouhget, J. M. Chao de la Barca, K. Guehlouz [et al.] // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 2019. – Vol. 60. – № 7. – P. 2509-2514. DOI: 10.1167/iovs.19-27099.
172. Normal Tension Glaucoma is not Associated with the Interleukin -1 $\alpha$  (-889) Genetic Polymorphism / C. Y. Wang, Y. C. Shen, F. Y. Lo [et al.] // *J. Glaucoma.* – 2007. – Vol. 16. – P. 230-233. DOI: 10.1097/IJG.0b013e3180300818.
173. Novel data about association of the functionally significant polymorphisms of the MMP-9 gene with exfoliation glaucoma in the Caucasian population of Central Russia / D. Starikova, I. Ponomarenko, E. Reshetnikov [et al.] // *Ophthalmic. Res.* – 2020. – Vol. 64. – № 3. – P. 458-464. DOI: 10.1159/000512507..
174. Ocular and Hemodynamic Factors Contributing to the Central Visual Function in Glaucoma Patients With Myopia / K. E. Hong, S. A. Kim, D. Y. Shin [et al.] // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 2022. – Vol. 63. – № 5. – P. 26. DOI: 10.1167/iovs.63.5.26.
175. Ocular biomarkers in diseases and toxicities / G. Kontadakis, D. Fragou, A. Plaka [et al.] // *Biomarkers in Toxicology.* – 2019. – P. 375-383. DOI:10.1016/B978-0-12-814655-2.00021-9.
176. Oxidative stress-induced dysfunction of Müller cells during starvation / A. K. Toft-Kehler, I. S. Gurubaran, C. Desler [et al.] // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 2016. – Vol. 57. – № 6. – P. 2721-2728.
177. Pathophysiology of primary open-angle glaucoma from a neuroinflammatory and neurotoxicity perspective: a review of the literature / K. Evangelho, M. Mogilevskaya, M. Losada-Barragan, J. K. Vargas-Sanchez // *Int. Ophthalmol.* – 2019. – Vol. 39. – № 1. – P. 259-271. DOI: 10.1007/s10792-017-0795-9.

178. Patient Stratification in Clinical Glaucoma Trials Using the Individual Tear Proteome / J. Nättinen, A. Jylhä, U. Aapola [et al.] // *Sci. Rep.* – 2018. – Vol. 8. – № 1. – P. 12038. DOI: 10.1038/s41598-018-30369-x.
179. Pekny, M. Astrocyte reactivity and reactive astrogliosis: costs and benefits / M. Pekny, M. Pekna // *Physiol. Rev.* – 2014. – Vol. 94. – № 4. – P. 1077-1098. DOI: 10.1152/physrev.00041.2013.
180. Polymorphism in the IL-1alpha (-889) locus associated with elevated risk of primary open angle glaucoma / C. Y. Wang, Y. C. Shen, F. Y. Lo [et al.] // *Mol. Vis.* – 2006. – Vol. 12. – P. 1380-1385.
181. Polymorphism in the TNF- $\alpha$ (-863) Locus Associated With Reduced Risk of Primary Open Angle Glaucoma / C. Wang, Y. Shen, L. Wei [et al.] // *Mol. Vis.* – 2012. – Vol. 18. – P. 779-785.
182. Polymorphisms in interleukin-1B and its receptor antagonist genes and the risk of chronic obstructive pulmonary disease in a Korean population: a case-control study / J. M. Lee, Y. R. Kang, S. H. Park [et al.] // *Respir. Med.* – 2008. – Vol. 102. – № 9. – P. 1311-1320. DOI: 10.1016/j.rmed.2008.03.026.
183. Potential metabolic markers in glaucoma and their regulation in response to hypoxia / R. Vohra, L. M. Dalgaard, J. Vibaek [et al.] // *Acta. Ophthalmol.* – 2019. – Vol. 97. – № 6. – P. 567-576. DOI: 10.1111/aos.14021.
184. Potential regulatory molecules in the human trabecular meshwork of patients with glaucoma: immunohistochemical profile of a number of inflammatory cytokines / S. Taurone, G. Ripandelli, E. Pacella [et al.] // *Mol. Med. Rep.* – 2015. – Vol. 11. – № 2. – P. 1384-1390. DOI: 10.3892/mmr.2014.2772.
185. Prevalence Rates and Risk Factors for Primary Open Angle Glaucoma in the Middle East / R. Torabi, A. Harris, B. Siesky [et al.] // *J. Ophthalmic. Vis. Res.* – 2021. – Vol. 16. – № 4. – P. 644-656. DOI: 10.18502/jovr.v16i4.9755.
186. Primary open angle glaucoma and vascular risk factors: a review of population based studies from 1990 to 2019 / A. Grzybowski, M. Och, P. Kanclerz [et al.] // *J. Clin. Med.* – 2020. – Vol. 9. – № 3. – P. 761. DOI: 10.3390/jcm9030761.

187. Proinflammatory Cytokine Profile Differences between Primary Open-Angle and Pseudoexfoliative Glaucoma / B. Vidal-Villegas, B. Burgos-Blasco, J. Santiago Alvarez [et al.] // *Ophthalmic. Res.* – 2022. – Vol. 65. – № 1. – P. 111-120. DOI: 10.1159/000519816.

188. Proinflammatory cytokines are involved in the initiation of the abnormal matrix process in pseudoexfoliation syndrome/glaucoma / M. Zenkel, P. Lewczuk, A. Junemann [et al.] // *Am. J. Pathol.* – 2010. – Vol. 176. – № 6. – P. 2868-2879. DOI: 10.2353/ajpath.2010.090914.

189. Proteasome inhibition by chronic oxidative stress in human trabecular meshwork cells / M. Caballero, P. B. Liton, D. L. Epstein, P. Gonzalez // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2003. – Vol. 308. – № 2. – P. 346-352. DOI: 10.1016/s0006-291x(03)01385-8.

190. Razeghinejad, M. R. Association of TNFA -308 G/A and TNFRI +36 A/G gene polymorphisms with glaucoma / M. R. Razeghinejad, F. Rahat, E. Kamali-Sarvestani // *Ophthalmic. Res.* – 2009. – Vol. 42. – № 3. – P. 118-124. DOI: 10.1159/000226108.

191. Relationship between macular intercapillary area measured by optical coherence tomography angiography and central visual field sensitivity in normal tension glaucoma / R. Shen, Y. M. Wang, C. Y. Cheung [et al.] // *Br. J. Ophthalmol.* – 2022. – Vol. 107. – № 6. – P. 816-822. DOI: 10.1136/bjophthalmol-2021-319923.

192. Relationship between the rate of change in lamina cribrosa depth and the rate of retinal nerve fiber layer thinning following glaucoma surgery / P. Krzyżanowska-Berkowska, K. Czajor, I. Helemejko, D. R. Iskander // *PLoS One.* – 2018. Vol. 13. – № 11. – P. e0206040. DOI: 10.1371/journal.pone.0206040.

193. Risk of open angle glaucoma due to tumor necrosis factor alpha gene polymorphisms. / M. A. Hamid, L. Moemen, H. Labib [et al.] // *Electron. Physician.* – 2016, Vol. 8. – № 2. – P. 1978-1983. DOI: 10.19082/1978.

194. Role of TNF–TNF Receptor 2 Signal in Regulatory T Cells and Its Therapeutic Implications / S. Yang, J. Wang, D. D. Brand, S. G. Zheng // *Front. Immunol.* – 2018. – Vol. 9. – P. 784. DOI: 10.3389/fimmu.2018.00784.

195. Role of Tumor Necrosis Factor Receptor-1 in the Death of Retinal Ganglion Cells Following Optic Nerve Crush Injury in Mice / G. Tezel, X. Yang, J. Yang, M. B. Wax // *Brain. Res.* – 2004. – Vol. 996. – № 2. – P. 202-212. DOI: 10.1016/j.brainres.2003.10.029.
196. Roles of tumor necrosis factor alpha gene polymorphisms, tumor necrosis factor alpha level in aqueous humor, and the risks of open angle glaucoma: a meta-analysis / X. Xin, L. Gao, T. Wu, F. Sun // *Mol. Vis.* – 2013. – Vol. 19. – P. 526-535.
197. Shen, W. C. Regulatory mechanisms of retinal ganglion cell death in normal tension glaucoma and potential therapies / W. C. Shen, B. Q. Huang, J. Yang // *Neural. Regen. Res.* – 2023. – Vol. 18. – № 1. – P. 87-93. DOI: 10.4103/1673-5374.344831.
198. Shotgun proteomics reveals specific modulated protein patterns in tears of patients with primary open angle glaucoma naïve to therapy / D. Pieragostino, L. Agnifili, V. Fasanella [et al.] // *Mol. BioSyst.* – 2013. – Vol. 9. – № 6. – P. 1108-1116. DOI: 10.1039/c3mb25463a.
199. Simultaneous increase in multiple proinflammatory cytokines in the aqueous humor in neovascular glaucoma with and without intravitreal bevacizumab injection / S. Ohira, T. Inoue, K. Shobayashi [et al.] // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 2015. – Vol. 56. – № 6. – P. 3541-3548. DOI: 10.1167/iovs.14-15918.
200. Soluble Tumor Necrosis Factor Receptors are Present in Human Vitreous and Shed by Retinal Pigment Epithelial Cells / B. D. Sippy, F. M. Hofman, A. D. Wright [et al.] // *Exp. Eye Res.* . – 1996. – Vol. 63. – № 3. – P. 311-317. DOI: 10.1006/exer.1996.0120.
201. Sreekumar, P. G. The emerging role of senescence in ocular disease / P. G. Sreekumar, D. R. Hinton, R. Kannan // *Oxid. Med. Cell. Longev.* – 2020. – Vol. 2020. – P. 2583601. DOI: 10.1155/2020/2583601.
202. Sub-region-specific optic nerve head glial activation in glaucoma / K. Oikawa, J. N. Ver Hoeve, L. B. C. Teixeira [et al.] // *Mol. Neurobiol.* – 2020. – Vol. 57. – № 6. – P. 2620-2638. DOI: 10.1007/s12035-020-01910-9.

203. Subretinal mononuclear phagocytes induce cone segment loss via IL-1 $\beta$  / C. M. Eandi, Charles H. Messance, S. Augustin [et al.] // *eLife*. – 2016. – Vol. 5. – P. e16490. DOI: 10.7554/eLife.16490.
204. Systematic review and meta-analysis on the association between IL-1B polymorphisms and cancer risk / J. Xu, Z. Yin, S. Cao [et al.] // *PLoS One*. – 2013. – Vol. 8. – № 5. – P. e63654. DOI: 10.1371/journal.pone.0063654.
205. Takai, Y. Multiplex cytokine analysis of aqueous humor in eyes with primary open-angle glaucoma, exfoliation glaucoma, and cataract / Y. Takai, M. Tanito, A. Ohira // *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 2012. – Vol. 53. – № 1. – P. 241-247. DOI: 10.1167/iovs.11-8434.
206. Targeting Differential Roles of Tumor Necrosis Factor Receptors as a Therapeutic Strategy for Glaucoma / L. Lambuk, S. Ahmad, M. Z. Sadikan [et al.] // *Front. Immunol.* – 2022. – Vol. 13. – P. 857812. DOI: 10.3389/fimmu.2022.857812.
207. Targeting TNFR2 as a novel therapeutic strategy for Alzheimer's disease / N. Ortí-Casañ, Y. Wu, P. J. W. Naudé [et al.] // *Front. Neurosci.* – 2019. – Vol. 13. – P. 49. DOI: 10.3389/fnins.2019.00049.
208. Tazel, G. Mechanisms of Immune system activation in glaucoma: oxidative stress stimulated antigen presentation by the retina and optic nerve head glia / G. Tazel, X. Yang // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 2007. – Vol. 48. – № 2. – P. 705-714. DOI: 10.1167/IOVS.06-0810.
209. Tear and aqueous humour cytokine profile in primary open-angle glaucoma / B. Burgos-Blasco, B. Vidal-Villegas, F. Saenz-Frances [et al.] // *Acta. Ophthalmol.* – 2020. – Vol. 98. – № 6. – P. e768-e772. DOI: 10.1111/aos.14374.
210. Tear cytokine profile of glaucoma patients treated with preservative free or preserved latanoprost / J. M. Martinez-de-la-Casa, F. Perez-Bartolome, E. Urcelay [et al.] // *Ocul. Surf.* – 2017. – Vol. 15. – № 4. – P. 723-729. DOI: 10.1016/j.jtos.2017.03.004.
211. Teresa, R. The Role of Neuroinflammation in Glaucoma: An Update on Molecular Mechanisms and New Therapeutic Options / R. Teresa, A. Ponzetto, L. Malinverni // *Front. Neurol.* – 2021. – Vol. 11. – P. 612422. DOI: 10.3389/fneur.2020.612422.

212. Tezel, G. Increased Production of Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  by Glial Cells Exposed to Simulated Ischemia or Elevated Hydrostatic Pressure Induces Apoptosis in Cocultured Retinal Ganglion Cells / G. Tezel, M. B. Wax // *J. Neurosci.* – 2000. – Vol. 20. – № 23. – P. 8693-8700. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.20-23-08693.2000.

213. Tezel, G. Molecular regulation of neuroinflammation in glaucoma: Current knowledge and the ongoing search for new treatment targets / G. Tezel // *Prog. Retin. Eye Res.* – 2022. – Vol. 87. – P. 100998. DOI: 10.1016/j.preteyeres.2021.100998.

214. Tezel, G. Multiplex protein analysis for the study of glaucoma / G. Tezel // *Expert. Rev. Proteomics.* – 2021. – Vol. 18. – № 10. – P. 911-924. DOI: 10.1080/14789450.2021.1996232.

215. Tezel, G. TNF-alpha signaling in glaucomatous neurodegeneration / G. Tezel // *Prog. Brain Res.* – 2008. – Vol. 173. – P. 409-421. DOI: 10.1016/S0079-6123(08)01128-X.

216. The complement cascade: Yin-Yang in neuroinflammation–neuro-protection and –degeneration / J. J. Alexander, A. J. Anderson, S. R. Barnum [et al.] // *J. Neurochem.* – 2008. – Vol. 107. – № 5. – P. 1169-1187. DOI: 10.1111/j.1471-4159.2008.05668.x.

217. The effect of previous surgery and topical eye drops for primary open-angle glaucoma on cytokine expression in aqueous humor / L. A. Engel, P. S. Muether, S. Fauser, A. Hueber // *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* – 2014. – Vol. 252. – № 5. – P. 791-799. DOI: 10.1007/s00417-014-2607-5.

218. The functional polymorphism -863 C/A in the TNF- $\alpha$  gene is associated with primary open-angle glaucoma development in Iraqi patients, 2022, *Gene Reports*.

219. The IL-1B gene polymorphisms rs16944 and rs1143627 contribute to an increased risk of coronary artery lesions in Southern Chinese Children with Kawasaki disease / L. Y. Fu, X. Qiu, Q. L. Deng [et al.] // *J. Immunol. Res.* – 2019. – Vol. 2019. – P. 4730507. DOI: 10.1155/2019/4730507.4730507.

220. The Interleukin-1 (IL-1) Superfamily Cytokines and Their Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs) / P. Behzadi, A. S. Sameer, S. Nissar [et al.] // *J. Immunol. Res.* – 2022. – P. 2054431. DOI: 10.1155/2022/2054431.

221. The Key Role of TNF-TNFR2 Interactions in the Modulation of Allergic Inflammation: A Review / S. Ahmad, N. A. Azid, J. C. Boer [et al.] // *Front. Immunol.* – 2018. – Vol. 9. – P. 2572. DOI: 10.3389/fimmu.2018.02572.
222. The outflow pathway: a tissue with morphological and functional unity / S. C. Saccà, S. Gandolfi, A. Bagnis [et al.] // *J. Cell. Physiol.* – 2016. – Vol. 231. – № 9. – P. 1876-1893. DOI:10.1002/jcp.25305.
223. The role of microglia in retinal neurodegeneration: Alzheimer's Disease, Parkinson, and Glaucoma / A. I. Ramirez, R. de Hoz, E. Salobar-Garcia [et al.] // *Front. Aging. Neurosci.* – 2017. – Vol. 9. – P. 214. DOI: 10.3389/fnagi.2017.00214.
224. The role of neuroinflammation in the pathogenesis of glaucoma neurodegeneration / M. D. Pinazo-Duranab, F. J. Munoz-Negretebc, S. M. Sanz-Gonzalez [et al.] // *Prog. Brain Res.* – 2020. – Vol. 256. – № 1. – P. 99-124. DOI: 10.1016/bs.pbr.2020.07.004.
225. The role of optic nerve blood flow in the pathogenesis of glaucoma / A. Harris, E. Rechtman, B. Siesky // *Ophthalmol. Times. Clin. North. Am.* – 2005. – Vol. 18. – № 3. – P. 345-353. DOI: 10.1016/j.ohc.2005.04.001.
226. The role of the adaptive immune system and T cell dysfunction in neurodegenerative diseases / A. DeMaio, S. Mehrotra, K. Sambamurti, S. Husain // *J. Neuroinflammation.* – 2022. – Vol. 19. – № 1. – P. 251. DOI: 10.1186/s12974-022-02605-9.
227. T-helper1/T-helper2 cytokine imbalance in the iris of patients with glaucoma / M. Wong, P. Huang, W. Li [et al.] // *PLoS. One.* – 2015. – Vol. 10. – № 3. – P. e0122184. DOI: 10.1371/journal.pone.0122184.
228. Tikunova, E. V. Genetic studies of primary open-angle glaucoma / E. V. Tikunova, M. I. Churnosov // *Vestn. Oftalmol.* – 2014. – Vol.130. – № 5. – P. 96-99.
229. TNF-alpha -308 G>A and -238 G>A polymorphisms are not major risk factors in Caucasian patients with exfoliation glaucoma / G. Mossböck, W. Renner, Y. El-Shabrawi [et al.] // *Mol. Vis.* – 2009. – Vol. 15. – P. 518-522.

230. TNF-alpha promoter polymorphisms and primary open-angle glaucoma / G. Mossbock, M. Weger, M. Moray [et al.] // *Eye (Lond)*. – 2006. – Vol. 20. – № 9. – P. 1040-1043. DOI: 10.1038/sj.eye.6702078.
231. TNF- $\alpha$  and TNF- $\alpha$  receptor-1 in the retina of normal and glaucomatous eyes / G. Tezel, L.Y. Li, R.V. Patil, M.B. Wax // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 2001. – Vol. 42. – № 8. – P. 1787-1794.
232. TNF- $\alpha$  in Uveitis: From Bench to Clinic / Q. Jiang, Z. Li, T. Tao [et al.] // *Front. Pharmacol.* – 2021. – Vol. 12. – P. 740057. DOI: 10.3389/fphar.2021.740057.
233. TNF- $\alpha$ , TNF Receptors and Their Complex Implications in Therapy / B. M. Churchill, P. Patri, R. Cama, J. K. Inrig // *Asian J. Immunol.* – 2020. – Vol. 4. – P. 36-50.
234. Tumor necrosis factor alpha-308 gene polymorphism and pseudoexfoliation glaucoma / O. Tekeli, M. E. Turacli, Y. Egin [et al.] // *Mol. Vis.* – 2008. – Vol. 14. – P. 1815-1818.
235. Tumor necrosis factor-alpha (TNF- $\alpha$ ) levels in aqueous humor of primary open angle glaucoma / S. Balaiya, J. Edwards, T. Tillis [et al.] // *Clin. Ophthalmol.* – 2011. – Vol. 5. – P. 553-556. DOI: 10.2147/OPHTH.S19453.
236. Tumor necrosis factor-alpha concentrations in the aqueous humor of patients with glaucoma / H. Sawada, T. Fukuchi, T. Tanaka, H. Abe // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 2010. – Vol. 51. – № 2. – P. 903-906. DOI: 10.1167/iovs.09-4247.
237. Tumor necrosis factor- $\alpha$  mediates oligodendrocyte death and delayed retinal ganglion cell loss in a mouse model of glaucoma / T. Nakazawa, C. Nakazawa, A. Matsubara [et al.] // *J. Neurosci.* – 2006. – Vol. 26. – № 49. – P. 12633-12641. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.2801-06.2006.
238. Vargas, J. L. Neuroinflammation in glaucoma: soluble tumor necrosis factor alpha and the connection with excitotoxic damage / J. L. Vargas, A. Di Polo // *Neural Regen. Res.* – 2016. – Vol. 11. – № 3. – P. 424-426. DOI: 10.4103/1673-5374.179053.
239. Variants in optineurin gene and their association with tumor necrosis factor-alpha polymorphisms in Japanese patients with glaucoma / T. Funayama, K. Ishikawa, Y.

Ohtake [et al.] // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. – 2004. – Vol. 45. – № 12. – P. 4359-4367.  
DOI: 10.1167/iovs.03-1403.

240. Visual light effects on mitochondria: the potential implications in relation to glaucoma / N. N. Osborne, C. Núñez-Álvarez, S. Del Olmo-Aguado, J. Merrayo-Lloves // Mitochondrion. – 2017. – Vol. 36. – P. 29-35. DOI: 10.1016/j.mito.2016.11.009.

241. Wajant, H. TNFR1 and TNFR2 in the Control of the Life and Death Balance of Macrophages / H. Wajant, D. Siegmund // Front. Cell. Dev. Biol. – 2019. – Vol. 7. – P. 91. DOI: 10.3389/fcell.2019.00091.

242. Weinreb, R. N. The pathophysiology and treatment of glaucoma: a review / R. N. Weinreb, T. Aung, F. A. Medeiros // J. Am. Med. Assoc. – 2014. – Vol. 311. – № 18. – P. 1901-1911. DOI: 10.1001/jama.2014.3192.

243. Winiarczyk D, Mackiewicz J. Changes in Tear Proteomic Profile in Ocular Diseases / M. Winiarczyk, K. Biela, K. Michalak [et al.] // Int. J. Environ. Res. Public. Health. – 2022. – Vol.19. – № 20. – P. 13341. DOI: 10.3390/ijerph192013341.

244. Yang, Z. Changes in gene expression in experimental glaucoma and optic nerve transection: the equilibrium between protective and detrimental mechanisms / Z. Yang, H. Quigley // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. – 2007. – Vol. 48. – № 12. – P. 5539-5548. DOI: 10.1167/iovs.07-0542.

245. Yang, X. Regulation of distinct caspase-8 functions in retinal ganglion cells and astroglia in experimental glaucoma / X. Yang, Q. Zeng, G. Tezel // Neurobiol. Dis. – 2021. – Vol. 150. – P. 105258. DOI: 10.1016/j.nbd.2021.105258.

246. Yu, Q. Q. A detailed meta-analysis shows no association between TNF- $\alpha$  -308G/A polymorphism and different forms of glaucoma / Q. Q. Yu, Y. Yao // Ophthalmic. Res. – 2012. – Vol. 47. – № 1. – P. 47-51. DOI: 10.1159/000328631.

247. Yuan, L. Tumor necrosis factor-alpha: a potentially neurodestructive cytokine produced by glia in the human glaucomatous optic nerve head / L. Yuan, A. H. Neufeld // Glia. – 2000. – Vol. 32. – № 1. – P. 42-50.

248. Zeng, H. L. The role of microglia in the progression of glaucomatous neurodegeneration- a review / H. L. Zeng, J. M. Shi // Int. J. Ophthalmol. – 2018. – Vol. 11. – № 1. – P. 143-149. DOI: 10.18240/ijo.2018.01.22.

249. Zhang, L. Risk factors and the progress of primary open-angle glaucoma / L. Zhang, L. Xu, H. Yang // *Zhonghua. Yan. Ke. Za. Zhi.* – 2009. – Vol. 45. – № 4. – P. 380-384.