

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ  
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ ПЕРВЫЙ МОСКОВСКИЙ  
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ  
И.М. СЕЧЕНОВА МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ  
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ (СЕЧЕНОВСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ)

*На правах рукописи*



Кинкулькина Алия Ряшидовна

**Исследование молекулярно-генетических особенностей врожденного  
иммунного ответа при первичной открытоугольной глаукоме**

3.2.7. Иммунология

3.1.5. Офтальмология

Диссертация

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

**Научные руководители:**

доктор медицинских наук, профессор,

член-корреспондент РАН

Свитич Оксана Анатольевна

доктор медицинских наук, профессор,

член-корреспондент РАН

Гаврилова Татьяна Валерьевна

Москва – 2024

**ОГЛАВЛЕНИЕ**

ВВЕДЕНИЕ .....	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ .....	13
1.1 Эпидемиология, основные понятия и классификация глаукомы.....	13
1.2.1 Система иммунной регуляции в глазу в норме.....	19
1.2.2 Механизмы иммунопатогенеза глаукомы .....	27
1.2.2.1 Нейровоспаление при глаукоме.....	30
1.2.2.2 Роль окислительного стресса при первичной открытоугольной глаукоме .....	33
1.2.2.3 Роль эндотелиальной дисфункции при первичной открытоугольной глаукоме .....	35
1.3 Генетические аспекты глаукомы .....	36
1.4 Выводы по главе 1 .....	38
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ .....	40
2.1 Характеристика клинических групп .....	40
2.2 Материалы.....	43
2.3 Методы .....	45
2.3.1 Выделение нуклеиновых кислот .....	45
2.3.2 Реакция обратной транскрипции .....	46
2.3.3 Полимеразная цепная реакция в режиме реального времени .....	46
2.4 Статистическая обработка полученных результатов .....	49
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ.....	51
3.1 Оценка экспрессии генов инфламмосомного комплекса NLRP3 и CASP1 в экспериментальных модели кролика с дегенерацией сетчатки .....	52
3.2 Исследование ассоциации полиморфных маркеров генов белков инфламмосомного комплекса NLRP3 (NLRP3, CASP1) с риском развития первичной открытоугольной глаукомы .....	54

3.3 Распределение частот генотипов и аллелей по полиморфным маркерам <i>T786C</i> , <i>C774T</i> , <i>Glu298Asp</i> гена <i>eNOS</i> среди пациентов с первичной открытоугольной глаукомой.....	63
3.4 Распределение частот гаплотипов по полиморфным локусам гена <i>eNOS</i> среди пациентов с первичной открытоугольной глаукомой.....	71
3.5 Распределение частот генотипов и аллелей по полиморфному маркеру <i>rs5351</i> гена <i>EDNRB</i> среди пациентов с первичной открытоугольной глаукомой.....	78
ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....	85
ВЫВОДЫ .....	91
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	92
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	93
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	96
ПРИЛОЖЕНИЕ А .....	116
ПРИЛОЖЕНИЕ Б.....	117
ПРИЛОЖЕНИЕ В .....	121
ПРИЛОЖЕНИЕ Г .....	122
ПРИЛОЖЕНИЕ Д .....	123
ПРИЛОЖЕНИЕ Е.....	124
ПРИЛОЖЕНИЕ Ж.....	125

## ВВЕДЕНИЕ

### Актуальность темы исследования

Глаукома является нейродегенеративным заболеванием и ведущей причиной необратимой слепоты во всем мире. По данным официальной Федеральной статистики в Российской Федерации в 2022 году зарегистрировано 1 миллион 249 тысяч 617 пациентов с глаукомой, в 2023 г. численность пациентов с глаукомой составила 1,3 миллиона человек. В течение длительного периода глаукома стабильно занимает лидирующее место среди причин инвалидности по зрению [25, 35]. По мнению некоторых авторов, ожидаемая распространенность глаукомы в Российской Федерации к 2025 гг. составит от 1202,1 до 1408,5 тыс. (минимальный и максимальный прогнозы) на 100 тысяч взрослого населения [23, 24, 30]. При этом во всем мире глаукомой страдают более 70 миллионов человек. По оценкам Всемирной организации здравоохранения, к 2040 году распространенность глаукомы в мире увеличится до 111,8 миллионов [87]. Наиболее распространенным типом глаукомы является первичная открытоугольная глаукома (ПОУГ), в основе патогенеза которой лежит повышение внутриглазного давления (ВГД) [13]. В последние годы обсуждается роль особенностей иммунной защиты глаза при данном заболевании [97].

Орган зрения обладает иммунной привилегированностью, которая представляет собой комплекс механизмов, направленных на предотвращение повреждающего действия воспаления с целью защиты и сохранения функции. Иммунная привилегированность глаза имеет три уровня защиты: гематоофтальмологический барьер, наличие иммуносупрессивной среды, иммунное отклонение, связанное с передней камерой глаза [96, 108, 189].

Хотя повышенное ВГД, пожилой возраст, наследственность является главными причинами возникновения и развития ПОУГ, точные механизмы, с помощью которых аксоны ганглиозных клеток сетчатки повреждаются и

дегенерируют неизвестны, и все большее количество авторов указывает на решающую роль нейровоспаления при глаукоме [33, 164].

В сетчатке и зрительном нерве выделяют три типа резидентных глиальных клеток (астроциты, клетки Мюллера и микроглия), которые участвуют в развитии воспалительной реакции [148, 162, 191]. На сегодняшний день активно обсуждаются особенности рецепторного аппарата и сигнальные пути при глаукоме. Наиболее изученными паттерн-распознающими рецепторами (PRR) при глаукоме являются рецепторы конечных белков гликирования (RAGE) и семейство Toll-подобных рецепторов (TLR), среди которых наиболее распространенными считаются TLR2 и TLR4 [53, 80, 100, 136, 184]. В результате хронического компрессионного стресса, вызванного повышенным уровнем ВГД, ишемии и других механизмов, PRRs идентифицируют молекулярные структуры, связанные с повреждением – DAMPs (Damage-associated molecular patterns) [155], среди которых наиболее изученными при глаукоме на сегодняшний день являются белки теплового шока (HSP), алармин – HMGB1 (от англ. high-mobility group protein B1), окислительно-модифицированные молекулы (белки) [90, 93, 170, 191]. После чего запускается провоспалительный ответ через индукцию сигнального каскада с участием нуклеарного фактора транскрипции (NF- $\kappa$ B), что ведет к усиленной экспрессии TNF $\alpha$ , про-IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-12, про-IL-18 [194].

В последние годы уделяется внимание патогенетической роли инфламмасом при глаукоме, поскольку последовательная активация и олигомеризация инфламмасомного комплекса ведет к процессингу провоспалительных цитокинов и продукции зрелых форм медиаторов воспаления [68, 193]. Однако, точных данных о влиянии инфламмасы NLRP3 на патогенез глаукомы недостаточно.

Появляются работы о том, что оксид азота (NO) и эндотелин играют важную роль в регуляции кровообращения микроциркуляторного русла внутренних оболочек глаза и диска зрительного нерва (ДЗН) [108, 154, 179, 181]. По данным литературы у больных с ПОУГ наблюдается дисрегуляция и нарушение синтеза оксида азота и эндотелина [9, 91, 148, 164].

Несмотря на большой интерес, проявляемый к данной проблеме, на текущий момент представлены исследования, направленные в основном на один из вышеупомянутых аспектов, в то время как взаимное их влияние при ПОУГ практически не изучено, мало данных о связи с прогрессированием заболевания. В связи с этим становится целесообразным изучение взаимного влияния факторов врожденного иммунитета, белковые молекулы которых участвуют в реакциях локального воспаления, окислительного стресса и эндотелиальной дисфункции, с риском развития первичной открытоугольной глаукомы в зависимости от стадии исследуемой патологии.

### **Степень разработанности темы исследования**

Доказанным фактором риска при глаукоме является повышенное ВГД. В последние годы появляется все больше работ о связи нейродегенеративных изменений при ПОУГ с локальным воспалением. В единичных экспериментальных исследованиях получены данные об активации инфламмасом NLRP1, NLRP3 при глаукоме. Отдельно разрабатывается тема влияния оксид азота и эндотелина на регуляцию кровообращения микроциркуляторного русла внутренних оболочек глаза.

Поскольку продукты, образующиеся в результате эндотелиальной дисфункции и окислительного стресса, могут действовать как медиаторы воспаления, активируя факторы врожденного иммунного ответа, в том числе инфламмасомного комплекса NLRP3, актуально проведение комплексного исследования роли взаимного влияния данных факторов.

### **Цель и задачи исследования**

Исследование ассоциации экспрессионных и полиморфных маркеров в генах факторов, белковые молекулы которых участвуют в активации инфламмасомного

комплекса, окислительного стресса и эндотелиальной дисфункции, с риском развития первичной открытоугольной глаукомы.

Для реализации поставленной цели сформулированы следующие задачи исследования:

1. Изучить локальную экспрессию генов, кодирующих белки инфламмосомного комплекса NLRP3 (NLRP3, CASP-1) в экспериментальной модели дегенерации сетчатки на кроликах.
2. Исследовать ассоциацию полиморфных маркеров *rs7525979* гена *NLRP3*, *rs 530537* в гене *CASP1* с риском возникновения ПОУГ.
3. Оценить связь полиморфных маркеров *T786C (rs2070744)*, *C774T (rs1549758)*, *Glu 298Asp (rs1799983)* гена *eNOS* с риском возникновения ПОУГ.
4. Исследовать ассоциацию полиморфного маркера *rs 5351* гена рецептора эндотелина-1 В-типа (*EDNRB*) с риском развития ПОУГ.
5. Разработать прогностическую панель маркеров при первичной открытоугольной глаукоме.

### Научная новизна

Впервые показано, что увеличение экспрессии маркеров инфламмосомного комплекса NLRP3 (NLRP3 и CASP1) связано с дегенерацией сетчатки на модели *in vivo*.

Впервые проведена комплексная оценка факторов врожденного иммунитета и показано взаимообуславливающее влияние при ПОУГ инфламмосомного комплекса NLRP3, как медиатора воспаления в иммунной системе глаза, и факторов, участвующих в процессе окислительного стресса и эндотелиальной дисфункции.

Впервые определены прогностические и протективные маркеры *rs 7525979* в гене *NLRP3*, *rs 530537* в гене *CASP1*, *T786C (rs2070744)*, *C774T (rs1549758)*, *Glu 298Asp (rs1799983)* в гене *eNOS* и *rs 5351* в гене *EDNRB*, ассоциированные с развитием различных стадий ПОУГ.

## Личный вклад автора

Автору принадлежит ведущая роль в получении исходных данных и проведении научных экспериментов, личное участие в апробации результатов исследования, обобщении данных литературы, обработке полученных результатов и написании основных публикаций по выполненной работе. Личный вклад автора состоит в самостоятельном дизайне диссертационного исследования и выполнении всех лабораторных исследований, обработке и статистическом анализе полученных результатов, а также непосредственном написании самой работы. Проведён подбор мРНК для определения экспрессии генов *NLRP3*, *CASP1* у кроликов и полиморфизма генов *NLRP3*, *CASP1*, *eNOS*, *EDNRB*. Подобраны условия для выделения нуклеиновых кислот из биологического материала и проведения ПЦР-РВ. Выполнена оценка уровня экспрессии генов *NLRP3*, *CASP1* на модели *in vivo* (кролики с дегенерацией сетчатки). Полученные результаты сопоставлены с данными полиморфизма тех же генов у пациентов с ПОУГ. Также изучены ассоциативные связи полиморфизма генов *eNOS*, *EDNRB* у пациентов с ПОУГ.

## Теоретическая и практическая значимость работы

В результате проведенного анализа определены новые возможные молекулярные механизмы патогенеза ПОУГ, которые могут найти применение при поиске новых предикторов других нейродегенеративных заболеваний глаз.

Полученные данные о связи полиморфизма генов *NLRP3*, *CASP-1*, *eNOS*, *EDNRB* на развитие глаукомного процесса могут быть использованы в качестве прогностических маркеров, ассоциированных с данным заболеванием.

В результате исследования разработана панель прогностических маркеров (*NLRP3*, *CASP-1*, *eNOS*, *EDNRB*), которая позволит выявлять ранние изменения органа зрения и корректировать тактику дальнейшего ведения пациента.

## Методология и методы исследования

Методологической основой проведенного исследования являлись литературные источники в области изучения молекулярных основ иммунного ответа при первичной открытоугольной глаукоме.

В данной научно-квалификационной работе использовался общеклинический принцип по выявлению пациентов с диагнозом ПОУГ с применением офтальмологических методов обследования: визометрия, биомикроскопия, периметрия, электрофизиологическое исследование, тонометрия по Маклакову, офтальмоскопия, гониоскопия. Методы исследования включали сбор биологического материала (цельная кровь), молекулярно-генетические методы (полимеразная цепная реакция в режиме реального времени с обратной транскрипцией). Результаты, полученные в ходе исследования, регистрировались и подвергались статистической обработке. С целью доказательства заявленных гипотез, количественные и статистические данные представлены в виде таблиц и графиков.

## Положения, выносимые на защиту

1. В экспериментальной модели дегенерации сетчатки у кролика установлено достоверное увеличение уровня локальной экспрессии генов, кодирующих белки NLRP3 и CASP1; у пациентов с ПОУГ обнаруживается статистически значимая ассоциация распределения аллелей и генотипов полиморфных маркеров *rs 7525979* гена *NLRP3*, *rs 530537* гена *CASP1*.

2. Полиморфные маркеры *T786C (rs2070744)*, *C774T (rs1549758)*, *Glu 298Asp (rs1799983)* в гене *eNOS* и *rs 5351* в гене *EDNRB* являются прогностическими показателями при оценке риска развития ПОУГ.

3. Создана прогностическая панель маркеров в генах эффекторных молекул врожденного иммунитета (*NLRP3*, *CASP1*, *eNOS*, *EDNRB*), позволяющая

оценить риск развития ПОУГ и провести раннюю диагностику заболевания до наступления необратимых клинических проявлений.

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

Результаты проведенного исследования соответствуют пункту 1 паспорта научной специальности 3.2.7. Иммунология: «фундаментальные исследования, посвященные изучению строения, и функционирования иммунной системы, ее онто- и филогенеза», пункту 2: «изучение механизмов врожденного и адаптивного иммунитета в норме и при патологии» и пункту 6: «разработка и усовершенствование методов диагностики, лечения и профилактики инфекционных, аллергических и других иммунопатологических процессов». Результаты проведенного исследования соответствуют пункту 1 паспорта научной специальности 3.1.5. Офтальмология: «изучение патогенеза, разработка и экспериментальное моделирование глазной патологии», пункту 2: «усовершенствование известных и разработка новых методов диагностики органа зрения и его придаточного аппарата» и пункту 3 «разработка методов профилактики заболеваний глаза и его придаточного аппарата».

### **Степень достоверности и апробации результатов**

Достоверность полученных результатов и обоснованность выводов базируется на достаточном объеме полученных экспериментальных результатов, тщательном подходе к выбору лабораторных методов исследования, а также применении статистических методов обработки полученных результатов. Сформулированные выводы и практические рекомендации отражают результаты проделанной работы и согласуются с поставленными целью и задачами исследования. Диссертация апробирована на заседании кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии им. А.А. Воробьева Института общественного здоровья им. Ф.Ф. Эрисмана ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова

Минздрава России (Сеченовский университет), протокол № 01 от 19 августа 2024 года.

Основные положения диссертации были доложены и обсуждены на научных конференциях: Научная конференция молодых ученых с международным участием "New Approaches in the Field of Microbiology, Virology and Immunology" в рамках международных студенческих школ Сеченовского Университета (Москва, 11-12 марта 2020 года); Международная научная конференция экспертов, молодых ученых и специалистов, посвященная актуальным вопросам микробиологии, вирусологии, иммунологии и эпидемиологии в диагностике, лечении и профилактике инфекционных и неинфекционных заболеваний (Москва, 3-4 июня 2022 года); Восьмая научно-практическая школа-конференция «Аллергология и клиническая иммунология для практикующих аллергологов-иммунологов, инфекционистов, педиатров, терапевтов и гинекологов» (Сочи, 2-8 октября 2022 года); Научно-практическая конференция офтальмологов Пермского края «Актуальные вопросы глаукомы» (Пермь, 31 марта 2023 года); Девятая научно-практическая школа-конференция «Аллергология, клиническая иммунология и инфектология для практикующих врачей» (Сочи, 1-7 октября 2023 года); Научно-практическая конференция с международным участием «XVII Российский Общенациональный Офтальмологический Форум» (РООФ 2024) (Москва, 25–27 сентября 2024 года).

### **Публикации по теме диссертации**

По результатам исследования автором опубликовано 10 научных работ, отражающих содержание диссертации, в том числе 3 статьи в изданиях, индексируемых в международных базах Web of Science, Scopus, PubMed, MathSciNet, zbMATH, Chemical Abstracts, Springer), 2 иные публикации по теме диссертационного исследования, 5 публикаций в сборниках материалов международных и всероссийских научных конференций.

## **Структура и объем диссертации**

Диссертационная работа изложена на 126 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов и их обсуждения, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы, 7 приложений. Работа иллюстрирована 12 таблицами (из них 7 в Приложениях), 42 рисунками (из них 1 в Приложении). Библиографический список включает 195 источников, в том числе 36 отечественных, 159 зарубежных.

## ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1 Эпидемиология, основные понятия и классификация глаукомы

Глаукома является хроническим, неуклонно прогрессирующим, дегенеративным заболеванием глаз. Во всем мире насчитывается около 80 млн человек с глаукомой. По прогнозам Всемирной Организации Здравоохранения (ВОЗ), число больных глаукомой в мире возрастет к 2040 году до 111,8 миллиона человек [87].

В России, по разным оценкам, число больных глаукомой составляет от 750 тысяч до 1,3 млн. человек. Согласно эпидемиологическому анализу, проведенному Мовсисяном А.Б. и др. в 2022 г., ожидается рост заболеваемости и распространенности глаукомы. Так в 2019 г. распространенность глаукомы составляла 1146,6 человек на 100 тыс. населения, заболеваемость – 112,9 человек на 100 тыс. населения. В 2035 г. году прогнозируется увеличение данных показателей: распространенность до 1226,8 человек на 100 тыс. населения, заболеваемость – до 116,3 человек на 100 тыс. населения [25, 35]. Данные представлены на Рисунках 1–2.

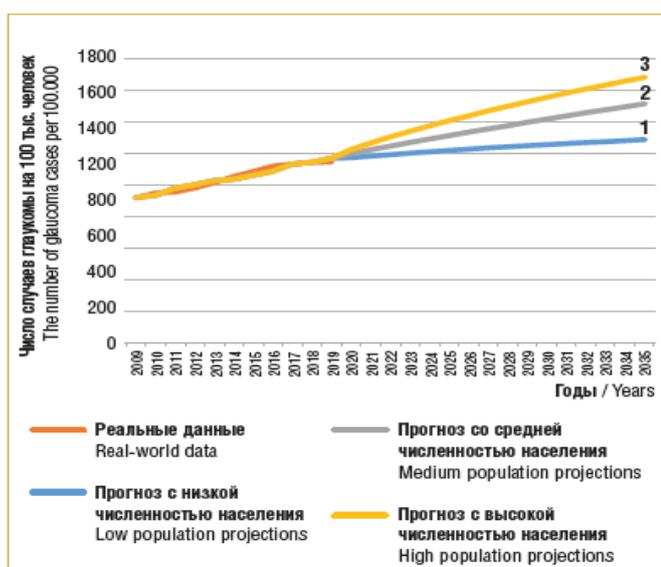


Рисунок 1 – Распространенность глаукомы в РФ на 100 тыс. человек с учетом низкого (1), среднего (2) и высокого (3) прогнозов по ожидаемой численности населения до 2035 г. [35]

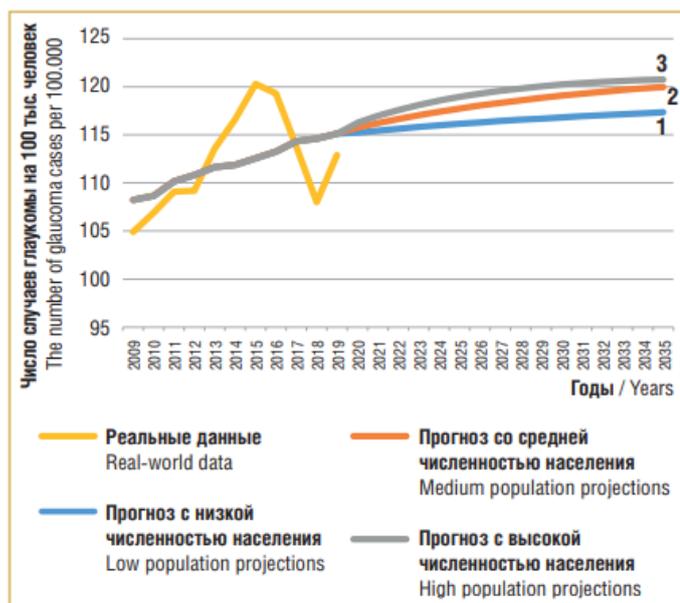


Рисунок 2 – Заболеваемость глаукомой в РФ на 100 тыс. человек с учетом низкого (1), среднего (2) и высокого (3) прогнозов по ожидаемой численности населения до 2035 г. в РФ [35]

Поскольку глаукома диагностируется чаще уже на поздних стадиях, это осложняет сбор статистических данных о распространенности заболевания и в целом эпидемиологической ситуации по каждому региону нашей страны [23, 30].

В настоящий момент наиболее подробно дана статистика по регионам, отображающая эпидемиологическую обстановку болезней глаза и его придаточного аппарата [11, 12, 24, 25]. На основании этого можно судить в дальнейшем об отдельных группах патологий, в том числе ПОУГ, принимая во внимание тот факт, что практически во всех регионах России глаукома занимает первое место среди причин инвалидности по зрению [36].

При анализе распространенности болезней глаза и придаточного аппарата наиболее высокие показатели наблюдаются в Центральном федеральном округе: за 2019 г. зарегистрировано 1 094 277 заболевших, к 2022 г. цифры увеличились до 1 723 больных. Второй по распространенности – Приволжский федеральный округ: в 2019 г. отмечено 550 092 с заболеваниями глаза и придаточного аппарата, к 2022 г. показатели возросли до 657 890 заболевших [11, 12]. Данные представлены в Таблице 1 и на Рисунке 3.

Таблица 1 – Показатели первичной заболеваемости в России по итогам 2022 г. по данным Федеральной службы государственной статистики [11, 12]

Болезни глаза и его придаточного аппарата				
Федеральные округа	2019 г.	2020 г.	2021 г.	2022 г.
Дальневосточный федеральный округ	208 720	169 612	216 273	223 735
Приволжский федеральный округ	550 092	496 791	568 838	657 890
Северо-Западный федеральный округ	343 780	330 305	468 559	523 577
Северо-Кавказский федеральный округ	49 592	52 456	70 476	112 666
Сибирский федеральный округ	269 583	246 245	359 958	412 923
Уральский федеральный округ	332 874	315 606	357 613	411 416
Центральный федеральный округ	1 094 277	1 243 005	1 560 718	1 723 254
Южный федеральный округ	284 484	311 650	437 483	362 965
Россия	3 133 402	3 165 670	4 039 918	4 428 426

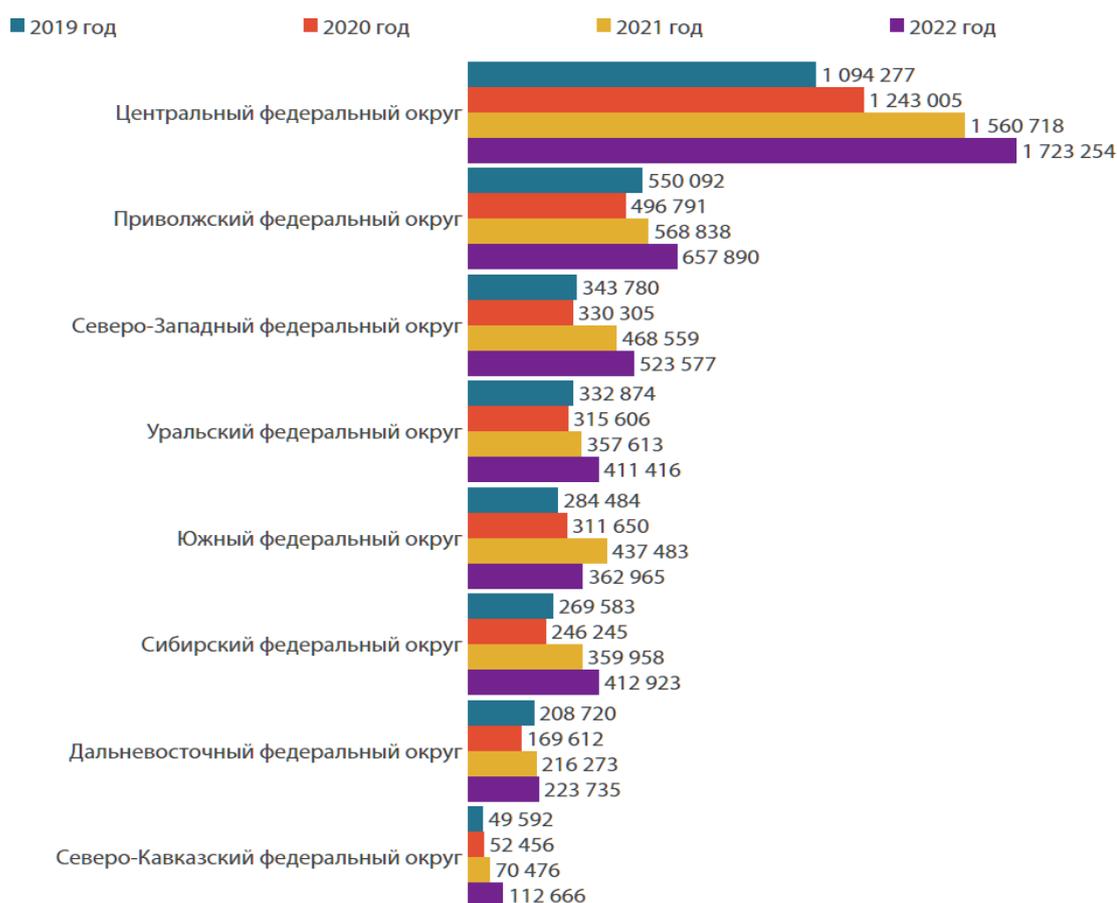


Рисунок 3 – Число зарегистрированных заболеваний у больных с диагнозом, установленном впервые в жизни по субъектам Российской Федерации в 2019-2023 г. (по данным Федеральной службы государственной статистики) [11, 12]

Поскольку Приволжский федеральный округ занимает второе место в структуре заболеваемости глаза и его придаточного аппарата [11, 12], а также обладает относительно однородным популяционным составом (большая часть населения представлена русскими), особенно это характерно для жителей г.Перми и Пермского края, то данный регион представляет особый интерес для дальнейшего исследования.

Сотрудниками кафедры офтальмологии Пермского медицинского университета им академика Е.А. Вагнера в период с 2008 по 2023 г. был проведен эпидемиологический анализ заболеваемости глаукомой среди жителей г. Перми и остальных районов Пермского края. Было показано, что показатели заболеваемости глаукомой среди жителей г. Перми и Пермского края в течение 15 лет держатся на высоком уровне, в 2021 г. и 2022 г. наблюдалось снижение заболеваемости, обусловленное напряженной эпидемиологической обстановкой из-за пандемии COVID-19, снижением доступности стационарной помощи больным с глаукомой, как следствие снижение обращаемости пациентов по поводу глаукомы, а с 2023 г. снова наблюдается рост числа пациентов с глаукомой, и чаще с поздними стадиями заболевания. Данные представлены на Рисунках 4–5.

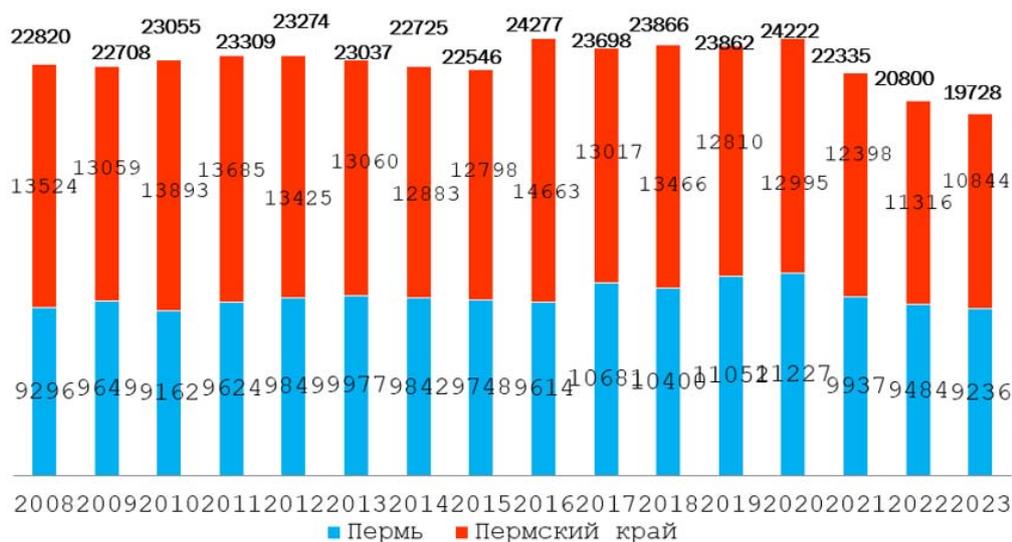


Рисунок 4 – Динамика количества пациентов, состоящих на диспансерном учете по поводу первичной глаукомы г. Пермь и Пермского края

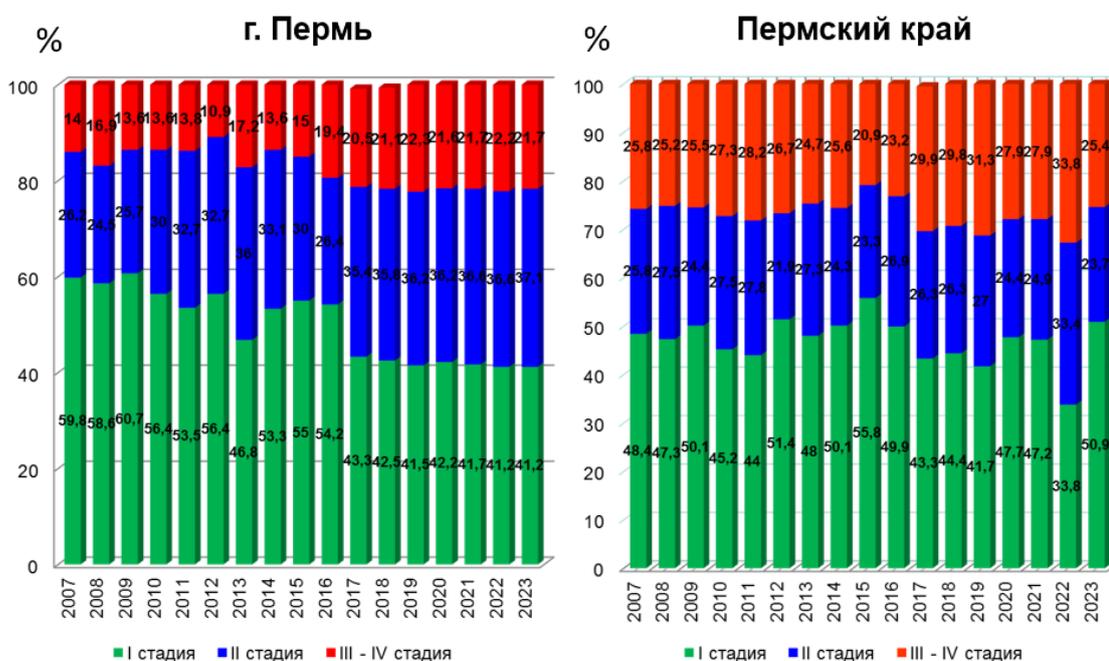


Рисунок 5 – Динамика случаев впервые выявленной глаукомы по стадиям заболевания у жителей г. Перми и Пермского края

### *Классификация и характеристика глаукомы*

Глаукома характеризуется постоянным или периодическим повышением внутриглазного давления с последующим развитием типичных дефектов поля зрения, снижением остроты зрения и атрофией зрительного нерва.

Глаукома относится к возраст-ассоциированным заболеваниям: если в возрасте от 40 до 50 лет заболевает примерно 0,5% населения, то у лиц 75 лет и старше этот процент возрастает в десятки раз. Примерно 50% людей с ПОУГ не подозревают о том, что у них есть это заболевание из-за того, что оно проходит бессимптомно на ранних стадиях [8, 18, 101].

Согласно клиническим рекомендациям от 2022 г., по происхождению выделяют первичную и вторичную глаукому. Первичная – представляет собой последовательные патогенетические этапы развития глаукомы, вторичная – является последствием ряда других заболеваний, причиной которых могут быть как интра-, так и экстраокулярные нарушения. При первичной глаукоме различают открытоугольную, закрытоугольную и смешанную [8].

ПОУГ характеризуется структурными патологическими изменениями ДЗН и СНВС: прогрессирующее истончение НРП, расширение и углубление экскавации

диска зрительного нерва, которое в дальнейшем прогрессирует и приводит к «вытягиванию» в вертикальном направлении с «прорывом» к краю зрительного нерва, чаще в нижне-височном квадранте. В финале заболевания экскавация становится тотальной и глубокой. Происходит локальное или диффузное истончение СНВС и прогрессирующая перипапиллярная атрофия в  $\beta$ -зоне (бета-зоне) [8, 31].

Первичная закрытоугольная глаукома (ПЗУГ) – заболевание, при котором причиной повышения ВГД становится препятствие оттоку водянистой влаги (ВВ) за счет частичной или полной блокады угла передней камеры (УПК) корнем радужки [32, 103, 134].

В дополнение, классифицируют четыре стадии глаукомы, основываясь на степени тяжести поражения глаза [8].

Классификация по стадиям развития базируется на анализе характеристик визуального поля и степени экскавации диска зрительного нерва:

I фаза (инициация) – норма периферийного зрительного поля,

Обнаружены аномалии в центральной зоне зрительного поля; увеличение экскавации диска зрительного нерва зафиксировано, однако без достижения его периферийных границ;

II стадия (развитая) — поле зрения сужено с носовой стороны более чем на  $10^\circ$ , наблюдаются парацентральные изменения, экскавация в том или ином секторе достигает края диска зрительного нерва (ДЗН);

III стадия (далеко зашедшая) — периферическое поле зрения концентрически сужено с носовой стороны до  $15^\circ$  и менее от точки фиксации, при офтальмоскопии видна краевая субтотальная экскавация ДЗН;

IV стадия (конечная) – абсолютная утрата восприятия изображений либо остаточное чувство света с искаженной локализацией источников света.

У пациентов с ПЗУГ может возникать острый приступ, который характеризуется внезапным и значительным увеличением внутриглазного давления. Во время такого приступа пациент обычно жалуется на болезненные ощущения в области глаза, в районе надбровья, а также испытывает дискомфорт в

соответствующей половине головы и нередко отмечает ухудшение зрения, которое может быть довольно выраженным. При проведении диагностического обследования врач может обнаружить ряд специфических признаков, включая интенсивное покраснение глаза, возможное появление хемоза конъюнктивы, потерю прозрачности роговицы, уменьшение объема передней камеры глаза, усиленную кровенаполненность, а также размытость линий на радужной оболочке и паралитическое расширение зрачка. В таких случаях ВГД достигает критически высоких уровней. Отсутствие немедленного и адекватного лечения может привести к серьезному и необратимому снижению зрения [7, 17, 64].

Наиболее распространенным типом глаукомы является ПОУГ [140, 160]. Особенностью заболевания является то, что оно диагностируется у людей старше 40 лет на ранее не измененном глазу и на ранних стадиях не имеет клинических проявлений, а на поздних – ведет к необратимой слепоте [34, 195]. За последние годы наблюдается рост числа случаев ПОУГ, занимающей лидирующее место в структуре глазных заболеваний среди взрослого населения России, в том числе и среди лиц трудоспособного возраста [5, 87].

## **1.2 Особенности иммунитета органа зрения в норме и при первичной открытоугольной глаукоме**

### **1.2.1 Система иммунной регуляции в глазу в норме**

Глаз является иммунно-привилегированным органом [20]. Ткань глаза имеет иммунитет, который изолирует зрительную систему от местных и системных иммунных реакций для сохранения гомеостатических функций высокоспециализированных нервных клеток сетчатки [16, 101].

Сетчатка — это специализированная ткань глаза, обладающая иммунной привилегированностью, ответственная за кодирование визуальной информации, получаемой из внешней среды [121]. Внутри высокоструктурированного комплекса нейроны сетчатки образуют синаптические связи в двух смежных слоях,

внешнем плексиформном слое и внутреннем плексиформном слое; их клеточные тела расположены в трех отдельных слоях: фоторецепторы во внешнем ядерном слое, горизонтальные/биполярные/амакриновые/клетки Мюллера во внутреннем ядерном слое и амакриновые/ганглиозные клетки в слое ганглиозных клеток сетчатки (ГКС) [113, 150]. При этом астроциты и клетки микроглии расположены по всей сетчатке [177]. Зрительная функция глаза поддерживается двумя отдельными сосудистыми системами: сосуды хориоидеи снабжают пигментный эпителий сетчатки и наружную сетчатку, а три слоя сосудистой сети сетчатки (поверхностный, промежуточный и глубокий) снабжают внутреннюю сетчатку [117, 147].

Иммунная привилегированность глаза (ИП) – это комплекс регуляторных механизмов, направленных на предотвращение повреждающего действия воспаления с целью защиты и сохранения специализированных функций органа [130, 159].

В настоящее время рассматривают ряд факторов, обеспечивающих иммунную привилегированность глаза, и выделяют три уровня защиты его внутренних отделов- передней камеры (ПК) в комплексе с роговицей, полости стекловидного тела (СТ), сетчатки и субретинального пространства (СРП): гематоофтальмический барьер (ГОБ); наличие иммуносупрессивной среды; феномен «иммунного отклонения», связанного с ПК глаза – АСАИД (Рисунок 6) [60, 63, 130].

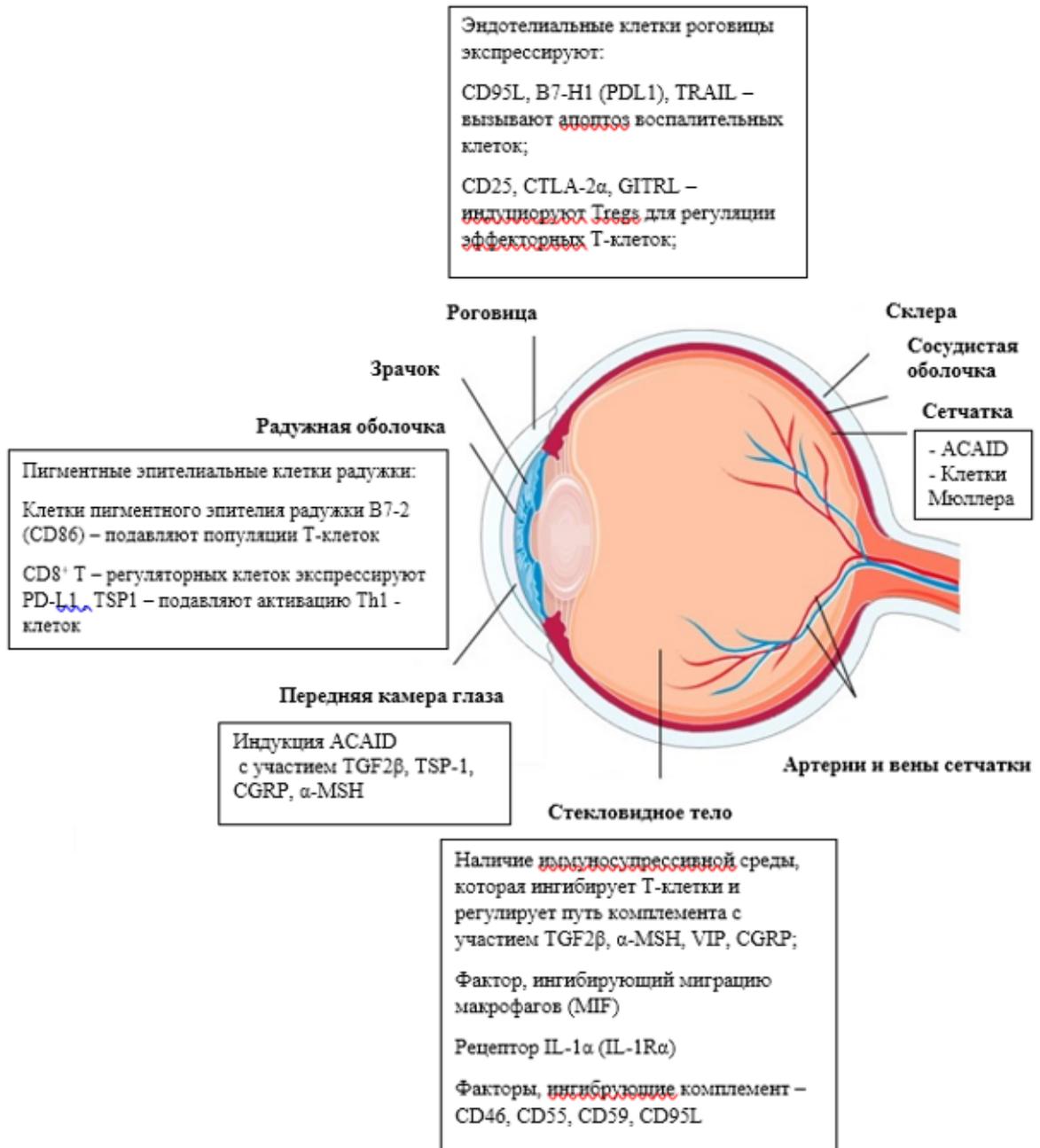


Рисунок 6 – Молекулярные механизмы иммунной привилегированности глаза [130]

### Гематофтальмический барьер

Защитная роль глазного аппарата представлена множеством физико-химических и биомеханических механизмов, активно проявляющихся на клеточных мембранах для контроля проникновения разнообразных молекул из экстрацеллюлярного пространства внутрь клетки. Данные функции выполняются благодаря наличию специализированных гистогематических барьеров, включая гематофтальмический барьер (Рисунок 7).



В условиях патологии: повышается проницаемость для ИКК, в клетках ГОБ иницируются механизмы неспецифической фазы иммунного ответа [51, 161].

Три гисто-гематические системы формируют гематоофтальмический барьер: иридоцилиарная, отвечающая за гематоцилиарный барьер; хориоретинальная, обуславливающая гематоретинальный барьер; и папиллярная, соответствующая гематопапиллярному барьеру [81, 183].

Гематоретинальный барьер (ГРБ) играет большое значение для иммунитета сетчатки, поскольку он ограничивает поступление циркулирующих иммунных клеток в глаз. Механизмы высокоселективной проницаемости – пассивная изоляция сетчатки – реализуется за счет уникальных структурных особенностей ГРБ – плотных контактов (запирающих пластинок), соединяющих соседние клетки ретинального пигментного эпителия (РПЭ) в наружной области барьера и эндотелия ретинальных сосудов во внутренней части [81, 102].

ГРБ состоит из двух частей: внутренней и внешней. Наружный ГРБ относится к плотным соединениям между клетками РПЭ, в то время как эндотелиальные клетки капилляров сетчатки составляют внутренний ГРБ [81, 153]. Внешний ГРБ обеспечивает иммунитет, секретирова молекулы, такие как фактор пигментных эпителиальных клеток и фактор роста эндотелия сосудов (VEGF), для поддержания целостности сосудистой сети сетчатки и хориокапилляров [117, 122, 110]. Внутренний ГРБ включает перициты, астроциты, клетки Мюллера, базальную мембрану коллагена IV и периваскулярные макрофаги [63, 81, 147] (Рисунок 8).

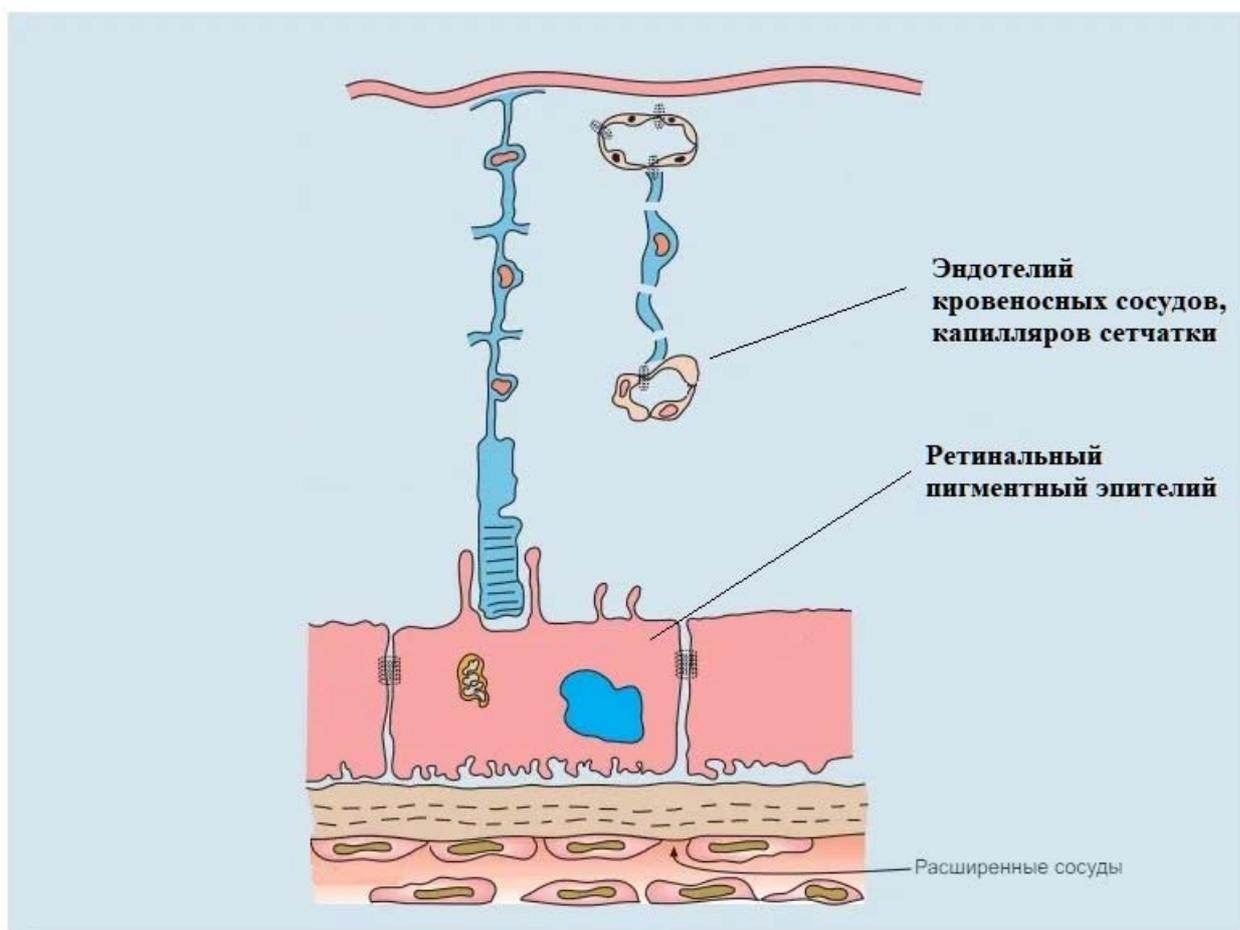


Рисунок 8 – Строение гематоретинального барьера: базовый структурный элемент (анатомический субстрат) внутреннего ГРБ – эндотелий кровеносных сосудов, капилляров сетчатки, базовый структурный элемент (анатомический субстрат) внешнего ГРБ – ретинальный пигментный эпителий [81]

Следующим глазным барьером является передний барьер глаза — гематоводный барьер, который содержит эндотелиальные клетки сосудов радужки и непигментированные клетки цилиарного эпителия и ограничивает перемещение веществ из плазмы в водянистую влагу [60, 142].

### ***Иммunosupрессивная среда***

Другими важными факторами, влияющими на иммунитет, являются внутриглазные резидентные иммунные клетки, которые могут подавлять иммунные реакции и способствовать толерантности, примером могут служить макрофаги и микроглия [159]. Сетчатка глаза человека содержит три типа глиальных клеток: микроглию и два типа макроглии – астроциты и клетки Мюллера. Макроглии обеспечивают гомеостатическую и метаболическую

поддержку фоторецепторов и нейронов, необходимую для их активности [114]. Клетки микроглии представляют собой тканевые макрофаги, осуществляют фагоцитоз клеточного дебриса, регуляцию нейроваскулярных взаимодействий [111]. Важным для гомеостаза сетчатки является поддержание физиологической активности микроглии, поскольку ее элементы – микроглиальные макрофаги – являются клетками врожденного иммунного ответа и способны при контакте с (особенно продолжительном) молекулярными патогенными (PAMPs) и связанными с повреждением паттернами (DAMPs) через распознающие их рецепторы (PRRs) к запуску воспалительных ответов с продукцией IL-1, IL-6, TNF $\alpha$ , TNF $\beta$ 2 и хемоаттрактантных факторов [163].

Регуляция нормального функционирования микроглиоцитов, их противовоспалительного фенотипа, осуществляется путем проведения регулярных сигналов CD200/CD200R и CD47-SIRP (CD172), а также при воздействии клеточного микроокружения, например таких как фракталкин (Fractalkine/CX3CL1), TGF $\beta$ 1, фактор роста нервов (NGF), тромбоспондин-1 (TSP-1), эндоканнабиноиды [66, 154].

Среди локальных иммуносупрессивных факторов в сетчатке особое внимание привлекают семейства TGF $\beta$ 1, TGF $\beta$ 2, TSP-1,  $\alpha$ -MSH ( $\alpha$ -меланоцитстимулирующий гормон), SOM (соматостатин), простагландин E2, RA (ретиноевую кислоту) и CTLA -2 $\alpha$  (цитотоксический Т-лимфоцитарный антиген - 2 $\alpha$ ) [119, 188].

Так, TGF $\beta$ 2 конститутивно продуцируется ретинальным пигментным эпителием сетчатки, обычно находится в латентном состоянии, активируется протеиназами [83] и выполняет ключевую роль в формировании иммунотолерогенных Т-лимфоцитов, антиген-специфическом ингибировании системного иммунного ответа на введенный во внутренние камеры глаза антиген и контроль интраокулярного воспаления [124].

Во влаге передней камеры глаза, а также РПЭ конститутивно экспрессируется  $\alpha$ -MSH, который относится к регуляторным пептидам.  $\alpha$ -MSH подавляет продукцию IFN- $\gamma$  CD4+Т-лимфоцитами, генерирует Т-регуляторные

клетки (CD25+FoxP3+), секретирующие TGF $\beta$ 1 [180, 186]. H.Keino и соавт. показали, что TGF $\beta$ 1 при одновременной секреции TGF $\beta$ 2, TSP-1, CTLA -2 $\alpha$  и RA способен ингибировать активность аутоиммунных Т-лимфоцитов [95].

Следует отметить, что гематофтальмический барьер и наличие иммуносупрессивной среды не гарантирует полной изоляции сетчатки. В случае проникновения АГ непосредственно в камеры глаза существует следующий уровень защиты, состоящий в антиген-специфическом ингибировании системного иммунного ответа – гиперчувствительность замедленного типа (ГЗТ). Данный феномен наиболее изучен в экспериментах, проводимых в области переднего отрезка глаз, и получил название АСАID – иммунное отклонение, связанное с передней камерой (ПК) глаза [151].

#### ***Иммунное отклонение, связанное с передней камерой глаза***

Иммунное отклонение, связанное с передней камерой глаза, характеризуется подавлением антиген-специфических реакций гиперчувствительности замедленного типа, при этом активно стимулируется гуморальный ответ иммунной системы с выработкой антител, не связанных с активацией комплементарной системы.

После проникновения АГ в переднюю камеру глаза запускается АСАID, далее антигенпредставляющие клетки (АПК) в радужной оболочке и цилиарном теле захватывают антиген, после чего АПК попадают в кровоток и направляются либо в тимус, либо в селезенку, где они индуцируют генерацию Т-регуляторных клеток [98]. В ходе этого процесса происходит стимуляция и клонирование цитотоксических Т-предшественников и В-лимфоцитов, которые в свою очередь вырабатывают антитела класса IgG1. В то же время АСАID подавляет активности лимфоцитов CD4<sup>+</sup> Th1 и Th2, а также В-лимфоцитов. В результате формируются три вида антигенспецифических регуляторных Т-клеток (Treg).

Одна группа включает в себя Т-лимфоциты CD4<sup>+</sup>, известные как «афферентные регуляторы», которые обладают способностью контролировать начальную активацию и дальнейшее преобразование наивных Т-лимфоцитов в Th1-эффекторные клетки. В то же время существует другая популяция Т-

лимфоцитов CD8+, определяемых как «эфферентные регуляторы», способных подавлять реакцию гиперчувствительности замедленного типа. Еще одна группа также состоит из Т-лимфоцитов CD8+, которые препятствуют трансформации В-лимфоцитов в антитела, связанных с комплементарной системой. Обращает на себя внимание, что CD8+ регуляторные Т-клетки активизируются непосредственно внутри глаза, тогда как CD4+ регуляторные Т-клетки – во вторичных лимфоидных органах [106, 108, 149]. Кроме того, есть данные, что АПК способствуют формированию толерогенных В-лимфоцитов, что вызывает активацию специализированных Treg и инвариантных натуральных Т-киллеров, необходимых при АСАИД [131, 182, 189].

Согласно исследованиям, дисбаланс иммунных компонентов глаза может стать причиной патологий зрительного аппарата, включая такие заболевания, как глаукома и катаракта [52, 88, 107].

### **1.2.2 Механизмы иммунопатогенеза глаукомы**

Повышенное внутриглазное давление является способствующим фактором развитию глаукомной оптической нейропатии, приводя к повреждению зрительного нерва вследствие его компрессии [10, 14]. Увеличение ВГД может возникать из-за нарушений в оттоке внутриглазной жидкости (ВГЖ). В случае первичной открытоугольной глаукомы это может быть связано с утолщением трабекулярной сети, сужением щелей в ней и венозного синуса склеры. Для первичной закрытоугольной глаукомы характерно периодическое возрастание давления из-за анатомических особенностей, что ведет к созданию гидродинамического блока. Это может быть ангулярным блоком, вызванным закрытием угла передней камеры корнем радужной оболочки, или зрачковым блоком, обусловленным затруднением циркуляции внутриглазной жидкости между задней частью радужки и передней частью хрусталика. Происходит это на фоне смещения вперед иридохрусталиковой диафрагмы, что, в свою очередь, ограничивает доступ жидкости к дренажным системам глаза [15, 19, 104].

В литературе обсуждаются разные подходы для описания этиологии ПОУГ. С точки зрения так называемой «Механической теории» происходит сдавление аксонов зрительного нерва из-за повышенного ВГД, в то время как «сосудистая теория» изменения при ПОУГ объясняет снижением скорости кровотока и перфузионного давления в заднем полюсе глаза, что приводит к повреждению ганглиозных клеток сетчатки [99, 118]. Saccà et al., 2016 г., показали, что высокое ВГД при глаукоме оказывает повреждающее действие на передний и задний сегменты глаза, которое распространяется на трабекулярную сеть (ТС) и вдоль внутренней части сетчатки, переходя на зрительный нерв [82, 146, 152, 173].

Помимо основных факторов, способствующих возникновению и прогрессированию первичной открытоугольной глаукомы – повышенное ВГД, старение и наследственная предрасположенность, процесс деструктивных изменений в зрительном нерве также связан с многочисленными причинами, важнейшей из которых является патологическая активация иммунных механизмов.

Прогрессирование глаукомы характеризуется ранними изменениями в структуре аксонов и миграцией астроцитов к краю зрительного нерва с последующим астроглиозом, потерей аксонов в результате каспазозависимого апоптоза [72]. Используя модель мышей DBA/2j, Купер и др. (2018) продемонстрировали, что ремоделированию астроцитов предшествовала аксонопатия зрительного нерва [61]. Они обнаружили, что астроциты в зрительном нерве организуются в очень хорошо связанную сеть в качестве ранней адаптивной реакции на воздействие высокого ВГД. Когда заболевание прогрессирует, параллельная организация астроцитов утрачивается одновременно с дегенерацией аксонов [122].

Ранее было показано, что до начала дегенеративных изменений в сетчатке наблюдается увеличение размеров астроцитов аксонов ЗН с потерей целостности цитоскелета, что влечет за собой уменьшение количества митохондрий и нарушение энергетического обмена в клетках ЗН. В свою очередь, данный фактор может являться индуктором для прогрессирования глаукомы [69].

В различных исследованиях, проведенных на модели глаукомы на животных, представлены доказательства активации клеток микроглии и астроцитов на ранней стадии глаукомы, которые протекают до визуализируемых морфологических изменений в ЗН и сетчатке, сопровождаемых повреждением ганглиозных клеток [156]. Так, у мышей DBA/2j, которые являются моделью наследственной пигментной глаукомы, скопление, активация и миграция клеток микроглии были обнаружены на периферии сетчатки и в немиелинизированной части головки зрительного нерва (ГЗН) за несколько месяцев до обнаружения нейродегенеративных изменений [41]. Ранняя активация микроглии также сильно коррелировала с тяжестью дегенерации ЗН. В связи с этим предполагают, что тяжесть нейродегенеративного процесса можно определить по ранним изменениям в микроглии [116]. Изменения в микроглии были первоначально обнаружены в ЗН и со временем прогрессировали вдоль паренхимы сетчатки. Кроме того, было показано, что ингибирование активации микроглии у облученных мышей или мышей, получавших миноциклин, защищает от нейродегенеративных изменений у мышей DBA/2j, показывая, что эти клетки играют важную роль в прогрессировании глаукомы [103].

Таким образом, повышенное ВГД вызывает астроглиоз и микроглиоз в зрительном нерве (Рисунок 9) [54, 99].

Известно, что к патогенетическим механизмам нейродегенеративного процесса при глаукоме относят: эксайтотоксичность, метаболический стресс, снижение уровня никотинамида, нейровоспаление, митохондриальную дисфункцию, хронический окислительный стресс [26, 38, 94, 112].

Окислительный стресс, митохондриальная дисфункция усиливаются в сетчатке у пациентов пожилого возраста и считаются одними из основных факторов риска глаукомы. Окислительный стресс и перекисное окисление липидов считаются основными причинами тканевого стресса, приводящего к активации локального воспаления в сетчатке различной интенсивности [27, 101].

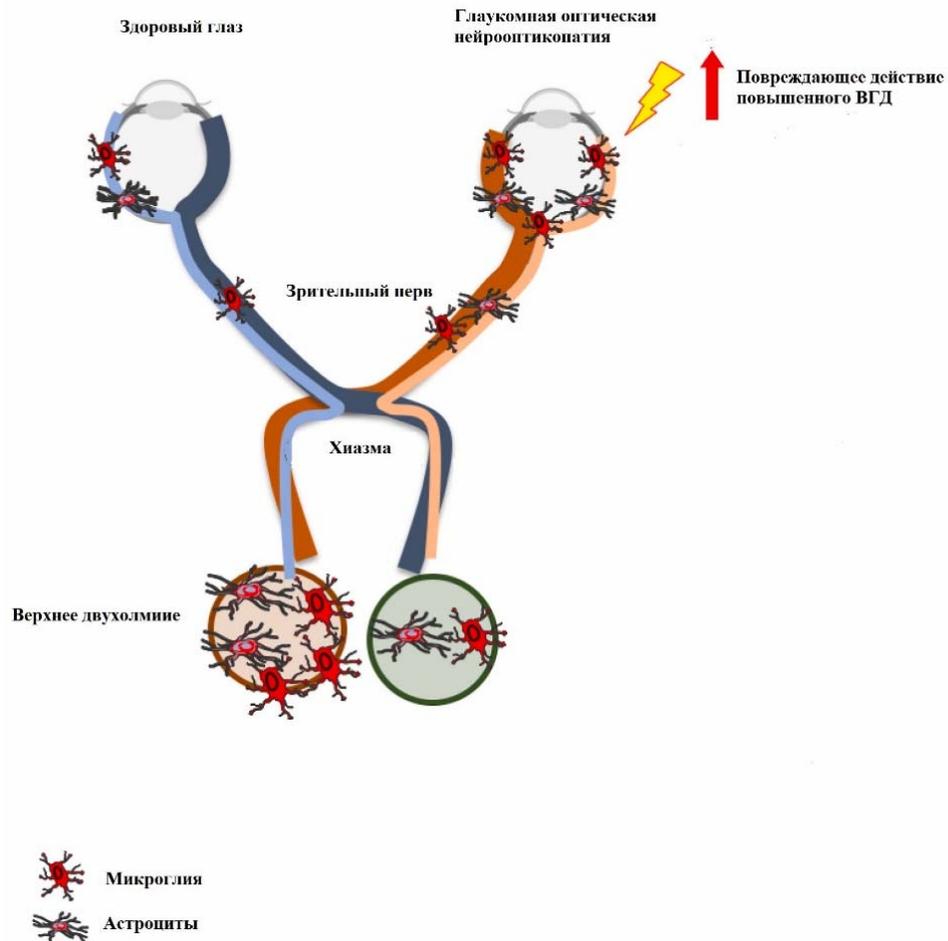


Рисунок 9 – Астроглиоз и микроглиоз в зрительном нерве при глаукоме [99]

Локальное воспаление может спровоцировать прогрессирование каскада воспалительных реакций с высвобождением цитокинов/хемокинов, вызывающих необратимое повреждение нейроретинальной ткани глаза [4, 37, 99]. Таким образом, можно сделать вывод, что глаукома является заболеванием, при котором воспаление является одним из ключевых звеньев в патогенезе глаукоматозного процесса и может поражать разные структуры глаза.

### 1.2.2.1 Нейровоспаление при глаукоме

Механическое повреждение ЗН, возникающее в результате повышения ВГД, окислительный стресс и гипоксия индуцируют митохондриальную дисфункцию в ГКС и нейровоспаление [115].

По данным некоторых исследователей глаукомы, сообщается об активации инфламмосомы NLRP3. Повышение ВГД активирует NLRP3 в глиальных клетках сетчатки, что приводит к нейротоксическому воспалению, дегенерации аксонов и последующей гибели ГКС при глаукоме [129]. Гипоксия, вызванная повышенным ВГД, индуцирует митофагию для уменьшения количества дисфункциональных митохондрий. Однако у пациентов с глаукомой этот процесс может быть заторможен. Накопление поврежденных митохондрий способствует окислительному стрессу. Затем окислительный стресс активирует NLRP3, что приводит к дальнейшей воспалительной реакции [56]. Одновременно повышенное ВГД запускает паннексиновые и коннексиновые гемиканалы, вызывая отток АТФ из внутриклеточного пространства. Внешняя АТФ связывается с пуриnergическим рецептором P2X7R и открывает его, что приводит к поглощению внеклеточного кальция ( $Ca^{2+}$ ) [174]. Затем приток  $Ca^{2+}$  сигнализирует о сборке инфламмосомы NLRP1/NLRP3/AIM2, опосредуя образование пор газдермина (GSDM) для запуска пироптоза [126]. Тем не менее, каждый тип инфламмосомы активируется в разных клеточных структурах. В частности, NLRP1 активен в ГКС, NLRP3 слабо активен в астроцитах и сосудистой сети, но индуцируется в нейронах слоя ганглиозных клеток, а AIM2 активен в клетках Мюллера [141]. Более того, приток  $Ca^{2+}$  может индуцировать воспаление, активацию микроглии и высвобождение цитокинов, стимулируя дестабилизацию митохондрий [127]. Ишемическое реперфузионное повреждение сетчатки запускает высвобождение HMGB1 в сетчатке, который является эндогенным лигандом TLR4, и активирует каспазу-8 и нижестоящий путь NF- $\kappa$ B, инициируя активацию NLRP3 [58, 175] (Рисунок 10).



после чего CASP8-HIF-1 $\alpha$  регулирует NLRP3/NLRP12/NLRC4 при ишемическом повреждении сетчатки, вызванном высоким ВГД, и это может инициировать пироптоз, опосредованный CASP1/GSDMD. Ученые обнаружили, что IL-1 $\beta$  усиливает пироптоз, стимулируя вышеупомянутый механизм, показывая, что IL-1 $\beta$  усугубляет нейровоспаление и пироптоз. Ограниченное поступление энергии в зрительный нерв и сетчатку запускает AMP-активируемую протеинкиназу, которая активирует передачу сигналов NF- $\kappa$ B/NLRP3 [92]. Полагают, что эксайтотоксичность глутамата является одним из факторов возникновения и прогрессирования глаукомы. При глаукоме наблюдается относительно высокий уровень глутамата во внеклеточной жидкости. Избыточное количество глутамата взаимодействует с глутаматными рецепторами ГКС, что приводит к большому притоку Ca<sup>2+</sup> и митохондриальной дисфункции, таким образом вызывая активацию NLRP3-инфламмосомы, что приводит к гибели ГКС. Помимо инфламмосомы NLRP3, исследования показали, что NLRC4 также участвует в пироптозе ГКС на мышинной модели острой глаукомы, но точный механизм требует дальнейшего изучения [89].

### **1.2.2.2 Роль окислительного стресса при первичной открытоугольной глаукоме**

Окислительный стресс считается важным патогенетическим фактором риска развития глаукомы. Окислительный стресс отражает дисбаланс между выработкой активных форм кислорода (АФК), образующихся в результате потребления кислорода, и антиоксидантной защитой, при которой окислительные процессы преобладают над антиоксидантными системами [128].

Выработка АФК и окислительное повреждение сетчатки могут иметь решающее значение при ПОУГ. Астроциты зрительного нерва при глаукоме по сравнению с нормальными астроцитами зрительного нерва имеют более низкие базальные уровни восстановленного глутатиона, что может свидетельствовать о нарушенной окислительно-восстановительной системе или сниженном

антиоксидантном ответе зрительного нерва при глаукоме [172]. Окислительный стресс, вызванный повышенным внутриглазным давлением и/или гипоксией, может оказывать повреждающее воздействие, приводя к глаукоматозной атрофии зрительного нерва и увеличению экскавации диска зрительного нерва. При глаукоме окислительный стресс вызывает окислительное повреждение митохондриальной ДНК, приводящее к апоптозу ГКС, и, как было показано, нарушает базальную цитопротекторную аутофагию. Окислительный стресс также вызывает ремоделирование внеклеточного матрикса посредством активации матриксных металлопротеиназ (MMPs). Окислительный стресс также изменяет цикл обмена глутамата и глутаминовой кислоты, что приводит к накоплению нейротоксичных уровней глутамата. С другой стороны, увеличивается внутриклеточное и внеклеточное накопление конечных продуктов повышенного гликирования (AGEs), а также секреция фактора некроза опухоли альфа (TNF- $\alpha$ ) и NO глиальными клетками. Обычно, оксид азота способствует расширению сосудов, улучшению кровоснабжения зрительного нерва, а также увеличению выведения внутриглазной жидкости. Кроме того, АФК могут нейтрализовать радикалы NO и, таким образом, повышать сосудистый тонус и нарушать кровоток в глазу, что приводит к апоптозу ГКС [172].

Есть некоторые доказательства роли АФК в нарушении функции глиальных клеток. АФК также играют важную роль в качестве сигнальных молекул, управляющих транскрипцией генов, участвующих в воспалении. Окислительный стресс активирует редокс-чувствительный фактор транскрипции NF- $\kappa$ B, который, как известно, регулирующий экспрессию молекул воспаления (включая IL-6, TNF- $\alpha$ , индуцибельную синтазу оксида азота [iNOS], молекул межклеточной адгезии [ICAM] 1, MMP9) и факторы, ингибирующие апоптоз [70].

Учитывая, что NO производится с помощью эндотелиальной NO-синтазы (eNOS), возможно, eNOS принимает активное участие в развитии нейродегенеративных изменений при первичной открытоугольной глаукоме.

В последние годы активно изучаются полиморфные варианты гена *eNOS*, по данным литературы найдены взаимосвязи между полиморфизмами этого гена и

возникновением заболеваний глаз, в том числе глаукомы. Таким образом, хронический окислительный стресс можно рассматривать как один из индуцирующий фактор локального воспаления сетчатки при глаукоме.

### **1.2.2.3 Роль эндотелиальной дисфункции при первичной открытоугольной глаукоме**

Эндотелин-1 (ЕТ-1) вырабатывается эндотелиальными клетками сосудов, а также микроглией/макрофагами, играет важную роль в поддержании тонуса сосудов. У пациентов с ПОУГ были обнаружены повышенные уровни эндотелина-1 в плазме крови, и это может быть связано с сужением сосудов, снижением глазного кровотока и ишемией/гипоксией [74]. Было показано, что эндотелин-1 индуцирует пролиферацию астроцитов ЗН при глаукоме у человека посредством активации рецепторов эндотелина (рецептор эндотелина типа А-EDNRA, рецептор эндотелина типа В-EDNRB) [168]. У мышей DBA/2j выявлено, что эндотелин-2 вырабатывается в астроцитах, а также в микроглии/макрофагах ЗН при ПОУГ. Как EDNRA, так и EDNRB были активированы на ранней стадии нейродегенерации сетчатки (экспрессия ЕТА присутствовала в эндотелиальных клетках, а EDNRB был более специфично обнаружен в астроцитах ЗН). В других исследованиях выявлено, что пероральное введение антагониста EDNRA/В-рецепторов частично ингибирует гибель ГКС, а интравитреальная инъекция пептида эндотелина-2 вызывает повреждение аксонов ГКС. На модели мышей с глазной гипертензии повышенное ВГД приводило к увеличению экспрессии EDNRA/В-рецепторов в сетчатке и было связано с гибелью клеток. Таким образом, в своей работе, Wang et al. показали, что повышенная экспрессии EDNRB в астроцитах ЗН при хронической оптической нейропатии, опосредованной ЕТ-1, вызывает гибель ГКС [185].

### 1.3 Генетические аспекты глаукомы

По данным источников отечественной и зарубежной литературы, генетические факторы играют значительную роль в прогрессировании глаукомы. Множество недавних исследований генетической связи привели к идентификации генетических локусов, в то время как методы поиска по всему геному используются для выявления однонуклеотидных полиморфизмов, которые, как было обнаружено, связаны с этим заболеванием [29, 192].

Данные из более чем 100 исследований различных генов показывают ассоциативные связи с риском развития глаукомы. Различные исследования генетических особенностей этого заболевания не предоставляют окончательных доказательств ни биомеханической, ни сосудистой теорий развития глаукомы. Скорее, они предполагают участие множества различных других факторов, каждый из которых потенциально может играть важную роль в развитии глаукомы [49].

В рамках исследования в пакистанском населении выявлено участие генетических маркеров, контролирующих синтез белка теплового шока HSP70, в механизме развития первичной открытоугольной и первичной закрытоугольной глаукомы по сравнению с контрольной группой. Было установлено, что вариации GG, GC, и CC в локусе G+190C гена HSP70, кодирующего белок теплового шока, коррелируют с увеличением риска развития первичной закрытоугольной глаукомы. Интересно, что генетический вариант G – оказывает защитное воздействие в отношении как первичной открытоугольной, так и закрытоугольной глаукомы, тогда как аллель C ассоциируется с повышенным риском первичной открытоугольной глаукомы. Дополнительный анализ полиморфизма eNOS4a/b подтвердил, что аллель A и генотип ВА связаны с обеими формами глаукомы, в то время как генотип ВВ демонстрирует защитный эффект в сравнении с контрольной группой [45].

В исследовании, проведенном Elana Meeg и соавторами в 2021 году, осуществлялся анализ связи первичной открытоугольной глаукомы (ПОУГ) с различными формами генетических маркеров в гене *LMX1B*, специфичном для

афроамериканских индивидов. Изучалось взаимодействие между двумя генотипами (*GC* и *GG*) полиморфного локуса *rs187699205* данного гена и характеристиками оптического диска у пациентов с глаукомой. Результаты указали на потенциальную роль генотипа *GC* в снижении выраженности симптомов ПОУГ среди афроамериканского населения [109].

Teja Alapati et al., в 2021 г., провели анализ ассоциации полиморфных маркеров генов *TNF- $\alpha$*  и *IL-2* и ПОУГ. Было обнаружено, что полиморфный маркер *rs1800630* в гене *TNF- $\alpha$*  ассоциирован с риском развития ПОУГ, тогда как в *IL-2* ген не был связан с данным заболеванием [79].

Vian Mohammed Saleh et al., в 2023 г., в своем исследовании показали, что генотип *AA* полиморфного маркера *rs991967* гена *TGF- $\beta$ 2* ассоциирован с развитием ПОУГ у мужчин, а генотипы *CC* и *AC*, аллель *C* играли протективную роль [165].

В научном исследовании под руководством Самойлова А.Н. и его коллег, выполненном в 2023 году, проанализированы полиморфизмы генов *GNB3 (rs5443)* и *ACE (rs4646994)* в контексте различных форм глаукомы. Обнаружилась значимая связь между присутствием аллеля *T rs5443* и случаями глаукомы с нормотензивными показателями внутриглазного давления (уровень значимости  $p = 0.004$ ). В то же время, исследование не выявило статистически подтвержденной связи между изучаемыми генетическими маркерами и первичной открытоугольной глаукомой, уровнем значимости  $p$  составил 0.88 [46].

Обращает на себя внимание, что в научных источниках мало информации об ассоциации генетических вариаций (полиморфизмов) генов инфламмосомного комплекса (*NLRP3* и *Casp1*) на прогрессирование ПОУГ.

В научных публикациях представлены результаты исследований, целью которых была оценка воздействия полиморфизма гена эндотелиальной NO-синтазы (*eNOS*) на вероятность развития глаукомы. В ходе этих исследований были учтены такие факторы, как наличие сопутствующих заболеваний у пациентов, тип глаукомы, а также анализировалось изменение уровня внутриглазного давления. Тем не менее, в литературе отсутствует информация о влиянии полиморфизма гена

eNOS на развитие разных стадий первичной открытоугольной глаукомы, как в российских, так и в международных источниках [178].

В литературе обсуждаются данные, связанные с ролью факторов оксидативного стресса и эндотелиальной дисфункции [120]. Отдельно появляются данные о роли воспаления при глаукоме, в том числе рецепторного белка NLRP3 [59]. Однако недостаточно данных о взаимном влиянии этих процессов, что актуально для исследования.

#### **1.4 Выводы по главе 1**

Таким образом, на основании последних литературных данных, в иммуногенезе ПОУГ важная роль принадлежит врожденному иммунитету [85]. Ключевым компонентом развития начального этапа воспалительного каскада при глаукоме являются паттерн-распознающие рецепторы. Их уникальной способностью является, в отсутствие патогенных агентов, распознавать молекулярные паттерны, связанные с повреждением – DAMPs. После этого происходит индукция сигнала, запускающего эффекторные компоненты иммунной системы, активация каспаз, формирование инфламмосомы, продукция зрелых форм медиаторов воспаления [157].

В развитии ПОУГ значимую роль могут играть иммунобиологические механизмы гуморального иммунитета, ассоциированные с нарушением функций эндотелия, окислительным стрессом и дисфункцией митохондрий [166].

Известно, что Эндотелин-1 обладает сосудосуживающим действием, его биологический эффект опосредован разными подтипами рецепторов. Один из них – рецептор эндотелина типа В EDNRB локализуется в эндотелиальных клетках и стимулирует выработку оксида азота. Изменение содержания NO способствует увеличению ВГД и гибели нервных и фоторецепторных клеток [76].

Также хотелось бы отметить, что процессы окислительного стресса, эндотелиальной дисфункции и патогенетические механизмы воспаления,

обусловленного факторами врожденного иммунитета, неразрывно связаны друг с другом и требуют дальнейшего изучения.

## ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа была проведена на базе лаборатории молекулярной иммунологии (заведующая лабораторией чл.-корр. РАН, д.м.н., профессор Свитич О.А.) ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова, при сотрудничестве с кафедрой офтальмологии ФГБОУ ВО Пермского государственного медицинского университета им. академика Е.А. Вагнера (заведующая кафедрой, чл.-корр. РАН, д.м.н., профессор Гаврилова Т.В.) (клинические базы – Центр микрохирургии глаза Пермской краевой клинической больницы и Офтальмологическое отделение Городской клинической больницы № 2 им. Ф.Х. Граля г. Перми), отделом патологии сетчатки и зрительного нерва (начальник отдела, д.м.н., профессор, академик РАН Нероев В.В.) и отделом иммунологии и вирусологии (начальник отдела, к.б.н. Балацкая Н.В.) ФГБУ «НМИЦ ГБ им. Гельмгольца» Минздрава России.

### 2.1 Характеристика клинических групп

Клиническим материалом служила периферическая кровь 238 пациентов с офтальмологической патологией.

Основную группу составили 141 пациент с первичной открытоугольной глаукомой, среди которых 77 мужчин и 64 женщины в возрасте от 55 до 89 лет (средний возраст  $71 \pm 7,5$ ). В зависимости от стадии заболевания сформированы 4 подгруппы, при этом пациентов с двусторонним процессом различных стадий относили в группу по худшему глазу с более продвинутой стадией ПОУГ: 1-ая подгруппа – пациенты с I стадией заболевания – 31 человек (12 мужчин, 19 женщин, средний возраст  $71 \pm 5,7$ ); 2-ая – со II стадией – 33 человека (14 мужчин, 19 женщин, средний возраст 72 года  $\pm 7,2$ ); 3-я – с III стадией – 50 человек (29 мужчин, 21 женщина, средний возраст  $70 \pm 8,2$ ); 4-ая – с IV стадией – 27 человек (22 мужчин, 5 женщин, средний возраст  $70 \pm 8,2$ ). Зрительные функции соответствовали стадии глаукомного процесса. Группу сравнения составили 97 человек, у которых была возрастная катаракта различной степени зрелости и отсутствовали признаки

глаукомы, 44 мужчины и 52 женщины в возрасте от 55 до 89 лет (средний возраст –  $69 \pm 9,3$ ).

*Критерии включения пациентов в исследование:*

- Наличие письменного информированного согласия пациента на участие в исследовании.
- Возраст: от 56 до 89 лет.
- Пол: женский, мужской.
- Установленный диагноз: «Первичная открытоугольная глаукома».

*Критерии включения в группу сравнения:*

- Наличие письменного информированного согласия пациента на участие в исследовании.
- Пациенты с катарактой в возрасте от 50 до 90 лет.
- Отсутствие глаукомы.

*Критерии невключения пациентов в исследование:*

- Возраст менее 50 на момент включения в исследование;
- Беременность;
- Лактация;
- Клинически значимое заболевание органов дыхания;
- Клинически значимое заболевание печени;
- Клинически значимое заболевание желудочно-кишечного тракта;
- Клинически значимое иммунологическое заболевание;
- Клинически значимое аутоиммунное заболевание;
- Психические заболевания и расстройства;
- Клинически значимые неврологические заболевания (в том числе инсульт или транзиторная ишемическая атака в течение предыдущих 6 месяцев);
- Хирургическая операция в течение предыдущих 2 месяцев;
- Клинически значимые заболевания репродуктивной системы;
- Злоупотребление какими-либо лекарственными средствами и/или алкоголем;

*Критерии исключения пациентов из исследования:*

- Отказ пациента от дальнейшего участия в исследовании;
- Беременность;
- Лактация;
- Отсутствие комплаентности;
- Нарушение пациентом процедур протокола исследования и/ или режима лечебного учреждения;
- Развитие каких-либо заболеваний, перечисленных в критериях невключения.

*Обследование* пациентов включало в себя сбор жалоб, анамнез жизни и заболевания, клинический осмотр, проведение специальных офтальмологических методов исследования (визометрия, периметрия, электрофизиологические исследования, тонометрия по Маклакову, офтальмоскопия, гониоскопия) с верификацией диагноза *первичная открытоугольная глаукома*.

Комплекс специальных лабораторных методов исследования проводился в лаборатории молекулярной иммунологии ФГБНУ «НИИВС им.Н.Н. Мечникова» Минобрнауки России.

***Клинико-anamnestические данные пациентов***

В процессе сбора анамнестических данных был проведен анализ *anamnesis vitae* и *anamnesis morbi* – наличие у ближайших родственников глаукомы. Детально изучались особенности течения заболевания у каждого участника исследования, наличие сопутствующей патологии.

Все пациенты с диагнозом ПОУГ находились на местном гипотензивном режиме: аналоги простагландинов, бета-адреноблокаторы, ингибиторы карбоангидразы, альфа-адреномиметики. Использовались как моно-препараты, так и фиксированные комбинации. Уровень ВГД колебался от 20 до 30 мм рт. ст. по Маклакову, не был целевым, пациенты поступали для лазерного или хирургического гипотензивного лечения.

## 2.2 Материалы

Для проведения молекулярно-биологической части исследования служили образцы тканевого комплекса сетчатки/ретиального пигментного эпителия (ТКС/РПЭ), выделенные из глаз экспериментальных животных с дегенерацией сетчатки (14 кроликов) и здоровых животных (7 кроликов).

Материалом молекулярно-биологического исследования служили 28 образцов ТК сетчатки/РПЭ, выделенного из глаз экспериментальных животных согласно стандартным протоколам. Биоматериал переносился в криопробирки и хранился при температуре минус 70°C до проведения исследований.

Исследование выполнено с соблюдением международных принципов Хельсинской декларации о гуманном отношении к животным, принципов гуманности, изложенных в директиве Европейского Сообщества (86/609/ЕС), «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных».

Кроликам породы новозеландских альбиносов (14 животных опытной группы: возраст 2,5-3,0 мес., вес 2,0-2,5 кг) моделировали дегенеративное поражение сетчатки однократным введением в субретиальное пространство на расстоянии 1-1,5 мм книзу от диска зрительного нерва 0,01 мл 0,9% раствора хлорида натрия с формированием субретиального пузыря согласно методике, разработанной в Отделе патологии сетчатки и зрительного нерва ФГБУ «НМИЦ ГБ им. Гельмгольца» Минздрава России. Предоперационная подготовка животных включала внутримышечное введение обезболивающих препаратов 0,3 мл золетила, 50 и 0,55 мл 2% ксилазина; также до операции вводились 0,3 мл 0,4% дексаметазона, 0,5 мл дицинона) (Рисунок 11) [21].

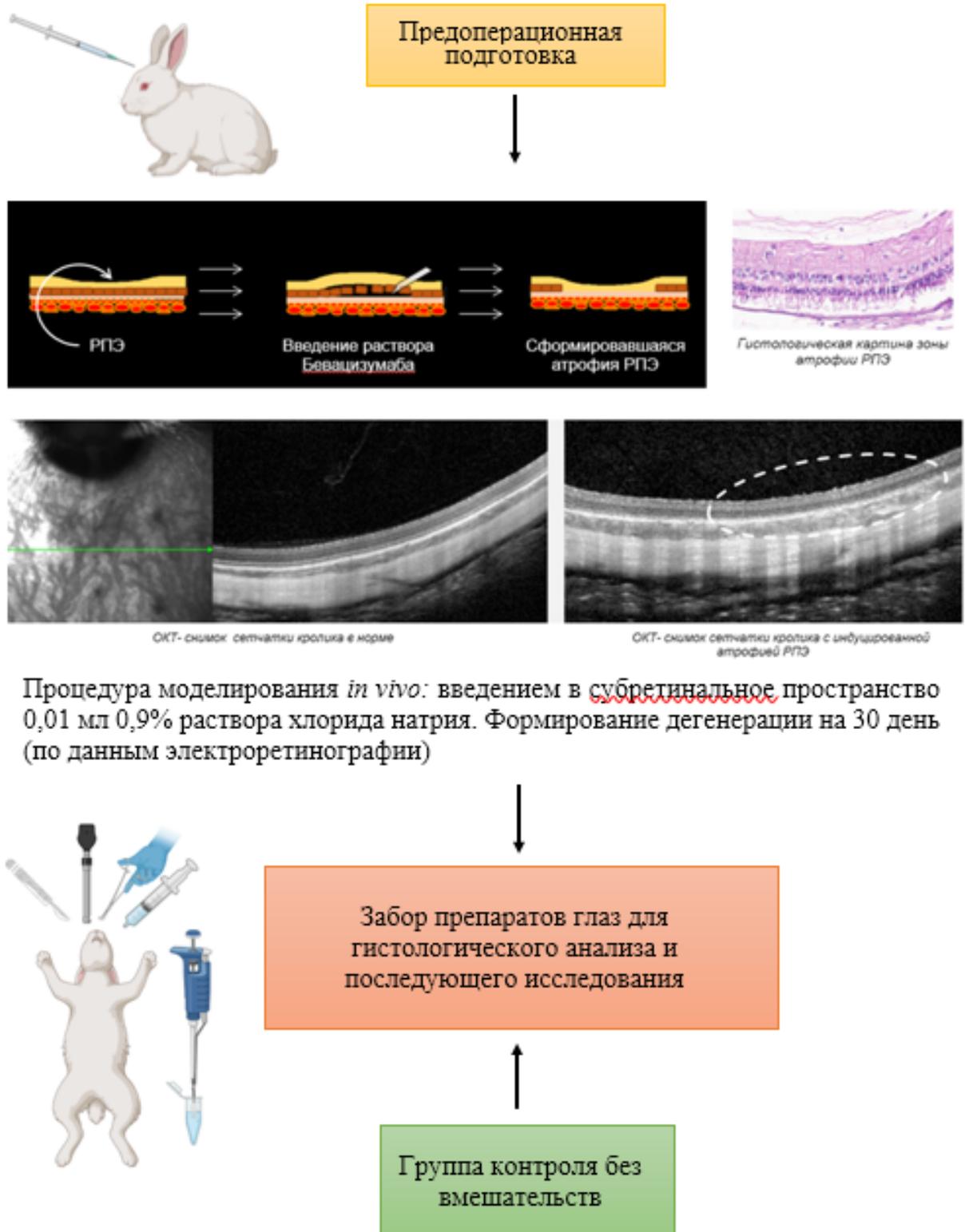


Рисунок 11 – Рисунок эксперимента по исследованию дегенерации сетчатки на кроликах [21]

О формировании дегенерации сетчатки судили на основании изменений морфофункциональных параметров, полученных при проведении специализированных офтальмологических методов исследования (оптической

когерентной томографии, исследовании аутофлюоресценции глазного дна, электроретинографии).

В соответствии с протоколом животных выводили из эксперимента методом воздушной эмболии после введения в наркоз (согласно приказу МинВуза СССР №724 от 13.11.184), далее проводили энуклеацию глазных яблок.

## **2.3 Методы**

### **2.3.1 Выделение нуклеиновых кислот**

Сначала образцы ТК сетчатки/РПЭ гомогенизировали. Выделение мРНК из образцов ТК сетчатки/РПЭ кроликов осуществляли с помощью набора Gene JET RNA Purification Kit (Thermo Scientific, США) в соответствии с инструкцией производителя. Выделенные образцы мРНК хранили при температуре минус 70С°. Проверка качества выделенной РНК осуществлялась с помощью спектрофотометра типа Nanodrop 2000® (Thermo Scientific, США). Этот прибор предназначен для определения спектров поглощения образцов в малых объемах (0,5- 2 мкл) в широком диапазоне длинны волны (190 -840 нм). РНК, при должном уровне очистки, соотношение поглощения на длинах волн 260/280 нм (A260/280) составляет примерно 1,9-2. В ходе измерения экспериментальных образцов была равна  $1,9 \pm 0,1$ .

Выделение геномной ДНК из биологических материалов людей (сыворотка крови) осуществляли сорбционным методом при помощи коммерческого набора «РИБО-сорб» (ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, АмплиСенс, Россия) в соответствии с инструкцией производителя. Выделенные образцы ДНК хранили при температуре минус 70С°.

### 2.3.2 Реакция обратной транскрипции

Для получения кДНК на матрице выделенной РНК проводили реакцию обратной транскрипции с использованием набора ОТ-1 фирмы «Синтол» (Россия) с присутствием ингибитора РНК-аз.

### 2.3.3 Полимеразная цепная реакция в режиме реального времени

Нуклеотидные последовательности праймеров были сконструированы с помощью программы Vector NTI 8 согласно последовательностям мРНК исследуемых генов, которые были получены в базе данных GenBank. Для определения полиморфных маркеров *rs2070744 T786C* гена *eNOS*, *rs 1549758 C774T* гена *eNOS*, *rs 1799983 Glu 298Asp* гена *eNOS* праймеры синтезированы фирмой Синтол (Россия). Праймеры для определения полиморфных маркеров *rs 7525979* гена *NLRP3*, *rs 530537 CASP1*, *rs 5351* гена рецептора эндотелина типа В (EDNRB), а также для определения экспрессии генов кроликов *NLRP3*, *CASP1* и нормировочного GAPDH, синтезированы в фирме ДНК-синтез (Россия) (Таблица 2).

Таблица 2 – Последовательность используемых в работе праймеров

Название праймера	Последовательность праймера
CASP1-F	CTGAATGTCAACACCATCTTTGAG
CASP1-R	CTATTCCTTGGTTTTTCACCACGA;
CASP1-probe	FAM-CCCAAGGTGATCATCATCCAAGCC-BHQ1;
NLRP3-F	TGCAGATGTTGGAGTTAGACAGC;
NLRP3-R	GCAGGTCAGGATCGTGCAG;
NLRP3-Probe	FAM-CCTCACCTCGCACTGCTGCTGG-BHQ1;
GAPDH-F	GCTGGTCATCAACGGGAAGG;
GAPDH -R	GGTGAAGACGCCAGTGGATT;
GAPDH -Probe	FAM-CTTCCAGGAGCGAGATCCCGCC-BHQ1

Для приготовления ПЦР-смеси в реакциях использовали 2,5-кратную реакционную смесь, 2,5-кратный разбавитель, 10-кратный буфер для TagPol (концентрация  $MgCl_2$  – 1,5-2 мМ, присутствие ионов  $NH_4^+$ ), 10мМ смесь четырех дезоксинуклеозидтрифосфатов (dNTPs), ДНК – полимераза *Terminus aquaticus* 5 Е/мкл (TagPol). Реакцию проводили в объеме 25 мкл реакционной смеси. В отрицательный контроль реакций вместо кДНК добавляли 3 мкл  $H_2O$  (Синтол, Россия).

Реакцию проводили согласно рекомендациям фирмы-производителя в амплификаторе ДТ-96 фирмы «ДНК-технология» (Россия).

Программа амплификации для определения полиморфных маркеров *rs 2070744 T786C* гена *eNOS*, *rs 1549758 C774T* гена *eNOS*, *rs 1799983 Glu 298Asp* гена *eNOS*:

1 цикл: 95<sup>0</sup>С – 3 минуты;

10 циклов: 95<sup>0</sup>С – 15 секунд.

60<sup>0</sup>С – 63<sup>0</sup>С – 40 секунд

30 циклов: 95<sup>0</sup>С – 15 секунд

63<sup>0</sup>С – 40 секунд (измерение флюоресценции)

Программа амплификации для определения полиморфных маркеров *rs 7525979* гена *NLRP3*, *rs 530537 CASP1*, *rs 5351* гена рецептора эндотелина типа В (*EDNRB*):

1 цикл: 95<sup>0</sup>С – 3 минуты;

40 циклов: 95<sup>0</sup>С – 10 секунд.

55<sup>0</sup>С – 30 секунд (измерение флюоресценции)

72<sup>0</sup>С – 35 секунд

В случае накопления ампликонов только в одной из реакций образец считался гомозиготным по соответствующему аллелю (Рисунки 12–13), а при детекции флюоресценции в обеих реакциях – гетерозиготным (Рисунок 14).

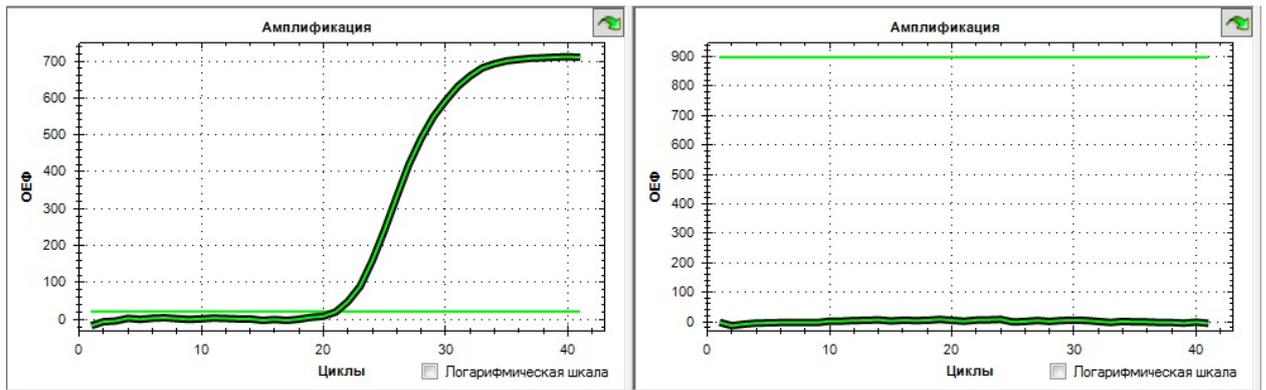


Рисунок 12 – Регистрация флуоресценции при определении маркеров *rs 2070744 T786C*, *rs 1549758 C774T*, *rs 1799983 Glu 298Asp* гена *eNOS*, *rs 7525979* гена *NLRP3*, *rs 530537 CASP1*, *rs 5351* гена рецептора эндотелина типа В (*EDNRB*). На данном рисунке накопление ампликонов отмечается только в первой реакции, что свидетельствует о принадлежности образца к гомозиготе по 1 аллелю. По оси абсцисс представлено количество циклов, по оси ординат представлена величина флуоресценции

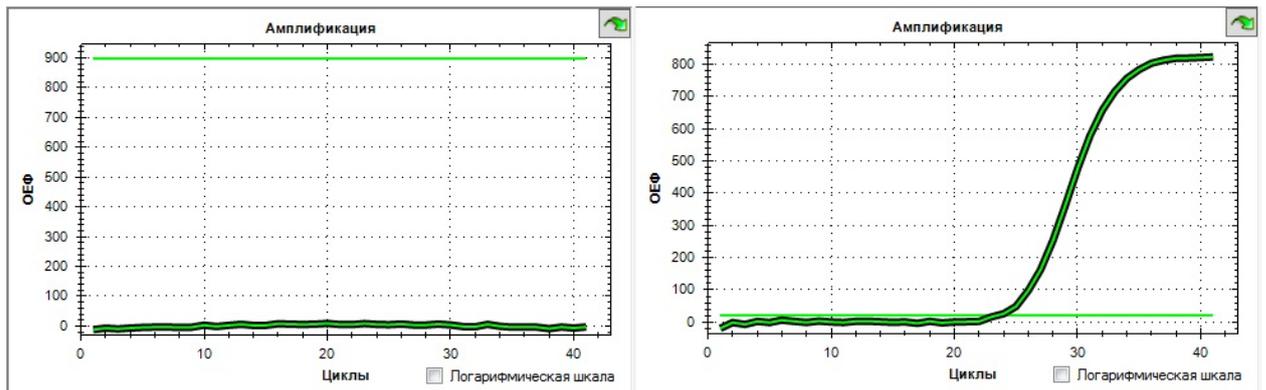


Рисунок 13 – Регистрация флуоресценции при определении маркеров *rs 2070744 T786C*, *rs 1549758 C774T*, *rs 1799983 Glu 298Asp* гена *eNOS*, *rs 7525979* гена *NLRP3*, *rs 530537 CASP1*, *rs 5351* гена рецептора эндотелина типа В (*EDNRB*). На данном рисунке накопление ампликонов отмечается только во второй реакции, что свидетельствует о принадлежности образца к гомозиготе по 2 аллелю. По оси абсцисс представлено количество циклов, по оси ординат представлена величина флуоресценции

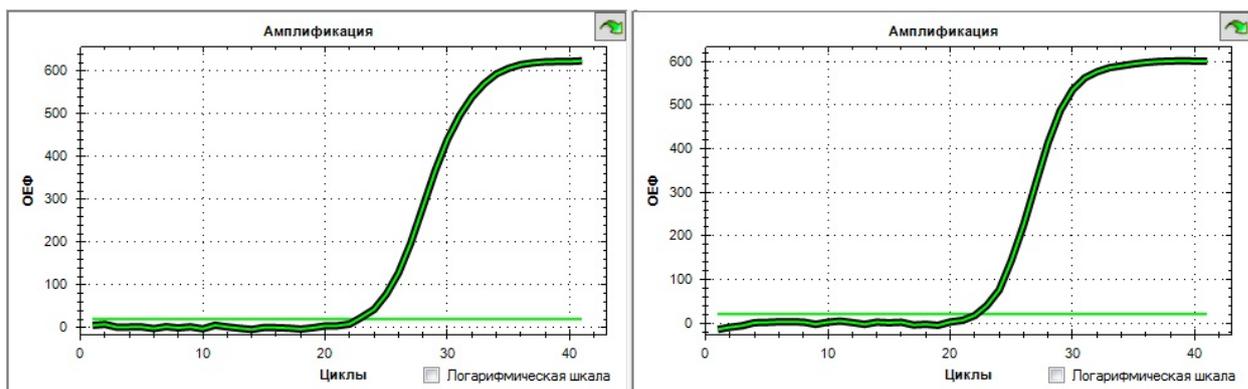


Рисунок 14 – Регистрация флуоресценции при определении маркеров *rs 2070744 T786C*, *rs 1549758 C774T*, *rs 1799983 Glu 298Asp* гена *eNOS*, *rs 7525979* гена *NLRP3*, *rs 530537 CASP1*, *rs 5351* гена рецептора эндотелина типа В (*EDNRB*). На данном рисунке накопление ампликонов отмечается в обеих реакциях, что свидетельствует о принадлежности образца к гетерозиготе. По оси абсцисс представлено количество циклов, по оси ординат представлена величина флуоресценции

Для определения относительного количества кДНК в образце использовали метод нормированной экспрессии  $\Delta\Delta Ct$ . Результаты выражали в относительных единицах (отн. Ед.): отношение величины порогового цикла амплификации исследуемого гена к величине порогового цикла амплификации референсного гена (гена «домашнего хозяйства») GAPDH:  $\Delta\Delta Ct = (\Delta Ct \text{ образца}) / (\Delta Ct \text{ GAPDH}) \times$  ожидаемого явления менее 10).

## 2.4 Статистическая обработка полученных результатов

Анализ полученных данных проводили с использованием компьютерной программы для статистической обработки данных – статистического пакета для социальных наук SPSS (Statistical Package for the Social Science).

Учет и первичная обработка данных, представление данных в формате таблиц и графиков осуществлялось на базе приложения MS Word и MS Excel из пакета офисных программ MS Office.

Проверка нормальности распределения признаков проводилась с помощью критериев Шапиро-Уилкса и Колмогорова-Смирнова с поправкой Лиллиефорса. Результат применения критериев оценивался по уровню значимости различий  $p$ ,

который сопоставлялся с 0,05. При  $p$  меньше 0,05 – распределение считалось ненормальным, при  $p$  больше 0,05 – распределение относилось к нормальному. В результате были выявлены значительные отклонения распределения признаков от нормального. Описательная статистика изученных данных представлена в виде медианы и интерквартильного интервала (от 25 до 75 перцентилей). Категориальные данные описывались с указанием абсолютных значений и процентных долей.

Распределение аллелей и генотипов по группам представлено с помощью процентных долей. Сравнение исследуемых факторов между двумя несвязанными группами исследования проводилось с помощью критерия Манна-Уитни. Сравнение процентных долей при анализе четырехпольных таблиц сопряженности выполнялось с помощью критерия хи-квадрат Пирсона (при значениях ожидаемого явления более 10), точного критерия Фишера (при значениях ожидаемого явления менее 10).

Результаты описаны с помощью отношения шансов (ОШ) и 95 % доверительного интервала для ОШ (ДИ).

Различия считали статистически значимыми при  $p \leq 0,05$ , незначимыми – при  $p \geq 0,10$ , в промежуточных случаях ( $0,05 < p < 0,1$ ) обсуждали тенденции к различиям.

### ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В последнее время в литературе все больше появляется данных о роли воспаления в развитии глаукомы. Хотя точные механизмы, с помощью которых аксоны ганглиозных клеток сетчатки повреждаются и, в конечном итоге, дегенерируют, неизвестны, все большее количество авторов указывает на решающую роль нейровоспаления [99].

После взаимодействия DAMPs с клеточными паттерн-распознающими рецепторами, происходит индукция сигнала, запускающего формирование инфламмасомного комплекса, развитие локального воспаления при глаукоме [67].

Кроме этого, патогенез первичной открытоугольной глаукомы связан с эндотелиальной дисфункцией и оксидативным стрессом. Одним из пусковых звеньев повреждения нервной ткани является изменение содержания монооксида азота в сосудах головки зрительного нерва [71].

Поскольку продукция NO осуществляется с участием эндотелиальной NO-синтазы и регулируется геном *EDNRB*, предполагают, что данные факторы участвует в патогенезе нейродегенеративных изменений при ПОУГ [86].

Процессы воспаления и окислительного стресса являются неразделимыми при глаукоме, и, вероятно, процессы окислительного стресса усиливают выраженность воспаления и наоборот [143].

Современные исследования указывают на способность формирования инфламмасомных комплексов NLRP1 и NLRP3 в условиях повышенного уровня глюкозы в крови, гипоксии клеток сетчатки, и при создании условий компрессионного стресса, аналогичных тем, что наблюдаются при глаукоме, однако точный процесс, посредством которого инфламмосомы участвуют в прогрессировании нейродегенеративных дисфункций органа зрения, до сих пор не определен.

### 3.1 Оценка экспрессии генов инфламмасомного комплекса NLRP3 и CASP1 в экспериментальных модели кролика с дегенерацией сетчатки

Одной из задач настоящего исследования являлось сопоставление уровней экспрессии и продукции молекул инфламмасомного комплекса NLRP3 (NLRP3, CASP1) в модели дегенерации сетчатки на кроликах и периферической крови пациентов с первичной открытоугольной глаукомой.

На первом этапе научно-экспериментальной работы исследовали локальную экспрессию генов, кодирующих белки инфламмасомного комплекса NLRP3 (NLRP3, CASP1) в образцах тканевого комплекса сетчатки/ретиального пигментного эпителия (ТКС/РПЭ), выделенного из глаз 14 опытных кроликов (основная группа) и 7 здоровых кроликов без поражения глаз (контрольная группа). Оценка уровней экспрессии генов NLRP3 и CASP1 в образцах ТКС/РПЭ проводилась методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ПЦР-РВ). Схема эксперимента представлена в разделе «Материалы и методы».

В сетчатке глаз (n=14) здоровых животных и во всех случаях опытной группы (n=14) обнаружена экспрессия гена, кодирующего NLRP3. Уровень мРНК NLRP3 в ТК экспериментальных животных с дегенерацией сетчатки был статистически значимо выше, чем таковой в норме, медиана его экспрессии составила 35,0 отн. Ед. (Таблица 3)

Таблица 3 – Определение экспрессии гена NLRP3 на модели *in vivo*

Группа	Уровень экспрессии (отн.единиц)		
	NLRP3		
	Me	Q <sub>1</sub> – Q <sub>3</sub>	p
Здоровые (n=14)	16,5	10,0 – 23,0	< 0,001
Дегенерация сетчатки (n=14)	35,0*	10,0 – 37,0	
Примечание: n – количество глаз; * – $p \leq 0,05$ .			

При анализе обнаружено, что в подавляющем большинстве случаев (в 70%) дегенеративный процесс в сетчатке ассоциировался со значительным усилением

экспрессии гена NLRP3, показатели которой превышали верхнюю границу установленного диапазона нормы, примерно в трети опытных глаз его транскрипционная активность находилась в пределах нормальных значений (от 1,9 до 2,1 отн. Ед).

На следующем этапе была изучена экспрессия гена, кодирующего CASP1, в ТК сетчатки/РПЭ животных основной группы и контроля. Ни в одном из исследуемых образцов здоровой сетчатки не обнаружено экспрессии гена CASP1, в отличие от материала экспериментальных животных, в ТК сетчатки/РПЭ которых медиана экспрессионной активности составила 38,0 отн. Ед ( $p=0,00$ ).

Характер изменений уровней мРНК CASP1, как и для NLRP3, в ТК сетчатки/РПЭ опытных глаз был высоким для группы с нейродегенеративным поражением сетчатки (Таблица 4).

Таблица 4 – Определение экспрессии гена CASP1 на модели *in vivo*

Группа	Уровень экспрессии (отн.единиц)		
	CASP-1		
	Me	Q <sub>1</sub> -Q <sub>3</sub>	p
Здоровые (n=14)	0,0	0,0	< 0,001*
Дегенерация сетчатки (n=14)	38,0	13,0 – 39,0	
Примечание: n – количество глаз; * – $p \leq 0,05$ .			

Значительное повышение уровня мРНК NLRP3 ( $p<0,001$ ) в ТК сетчатки/РПЭ глаз экспериментальных животных, обнаруженное в нашем исследовании, свидетельствует об участии данного рецептора в развитии нейродегенеративного поражения сетчатки.

Экспрессия гена, кодирующего CASP1, обнаруженная только в ТК сетчатки/РПЭ опытных глаз и отсутствующая в контроле, позволяет думать о наличии особых локальных механизмов, регламентирующих активность данного белка (а, следовательно, и воспалительной реакции) в ткани здоровой сетчатки.

Полученные нами результаты согласуются с данными ряда работ (преимущественно выполненных в условиях *in vitro*, или в моделях на мелких

грызунах), в которых продемонстрирована способность отдельных клеточных элементов сетчатки (астроцитов, клеток Мюллера, микроглии) и РПЭ к активной продукции провоспалительных медиаторов, включая семейство IL-1, в ответ на сигналы опасности: ишемию, фотоокислительное повреждение, при гипертензии, стимуляции АТФ. Показано, что продукция данных цитокинов контролируется активацией инфламмасомного комплекса, формируемого в клетках РПЭ, сетчатой и сосудистой оболочек глаза [29].

В проведенном исследовании особое внимание привлекло сохранение локального ответа со стороны изучаемых компонентов NLRP3: высокая экспрессионная активность генов белков (NLRP3 и CASP1) определялась во всех ТК сетчатки/РПЭ опытных глаз. Данное обстоятельство позволяет предположить формирование M1 активированного глиального фенотипа, поддерживающего воспаление в ткани сетчатки, что нуждается в дальнейшем исследовании и, в перспективе, может учитываться при активно разрабатываемых в настоящее время трансплантационных методиках лечения ретинальной дегенерации [101].

Полученные данные на модели дегенерации сетчатки у кролика могут быть опосредованы генетическими факторами, а также полиморфизмом генов, белковые продукты которых участвуют в патогенетических механизмах ПОУГ.

### **3.2 Исследование ассоциации полиморфных маркеров генов белков инфламмасомного комплекса NLRP3 (NLRP3, CASP-1) с риском развития первичной открытоугольной глаукомы**

По данным литературы, Sophie Coyle и et al., 2021 г., в своем исследовании выявили, что показатели экспрессии инфламмасы NLRP3 повышены при глаукоме по сравнению с пациентами без глаукомы [158].

На следующем этапе проводимого исследования была изучена ассоциация частоты встречаемости аллелей и генотипов полиморфных маркеров генов *NLRP3* и *CASP-1* в крови в группе пациентов с ПОУГ. Оценка уровней экспрессии генов *NLRP3* и *CASP1* в образцах сыворотки крови проводилась методом полимеразной

цепной реакции в режиме реального времени (ПЦР-РВ). Схема эксперимента представлена в разделе «Материалы и методы».

При изучении полиморфного маркера *rs7525979* гена *NLRP3* было выявлено, что аллель Т достоверно чаще встречается в группе пациентов с ПОУГ относительно группы сравнения ( $p=0,001$ ,  $OR= 3,16$ ,  $CI=1,62-6,13$ ) и увеличивает риск развития патологии в 3,16 раза. Данные представлены на Рисунке 15 и в Приложении А.

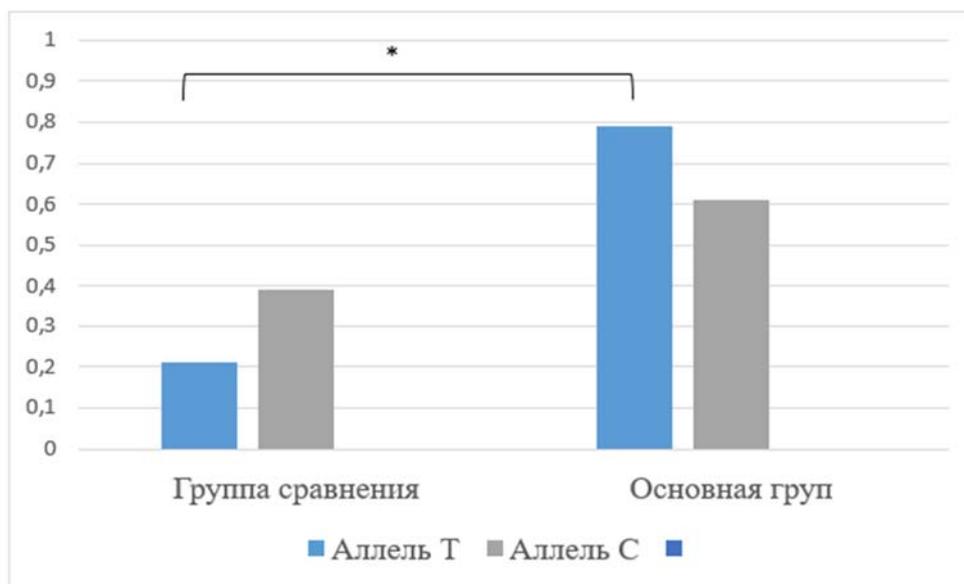


Рисунок 15 – Распределение частот аллелей полиморфного маркера *rs7525979* в гене *NLRP3* в исследуемых группах. По оси абсцисс представлены исследуемые группы, по оси ординат – частота аллелей (\* –  $p \leq 0,05$ )

Распределение генотипов также показало разницу между основной группой и группой сравнения: гетерозигота *ТС* была ассоциирована с ПОУГ и увеличивала риск развития патологии в 2,88 раза относительно группы сравнения (частота 0,17 и 0,42;  $p < 0,01$ ;  $OR=2,835$ ;  $95\%CI=1,429-5,627$ ). Гомозиготный генотип *СС* (частота 0,82 и 0,52;  $p = 0,01$ ;  $OR=0,41$ ;  $95\%CI = 0,246-0,708$ ), наоборот, значительно чаще встречался в группе сравнения, играя протективную роль в развитии патологии. Данные представлены на Рисунке 16.

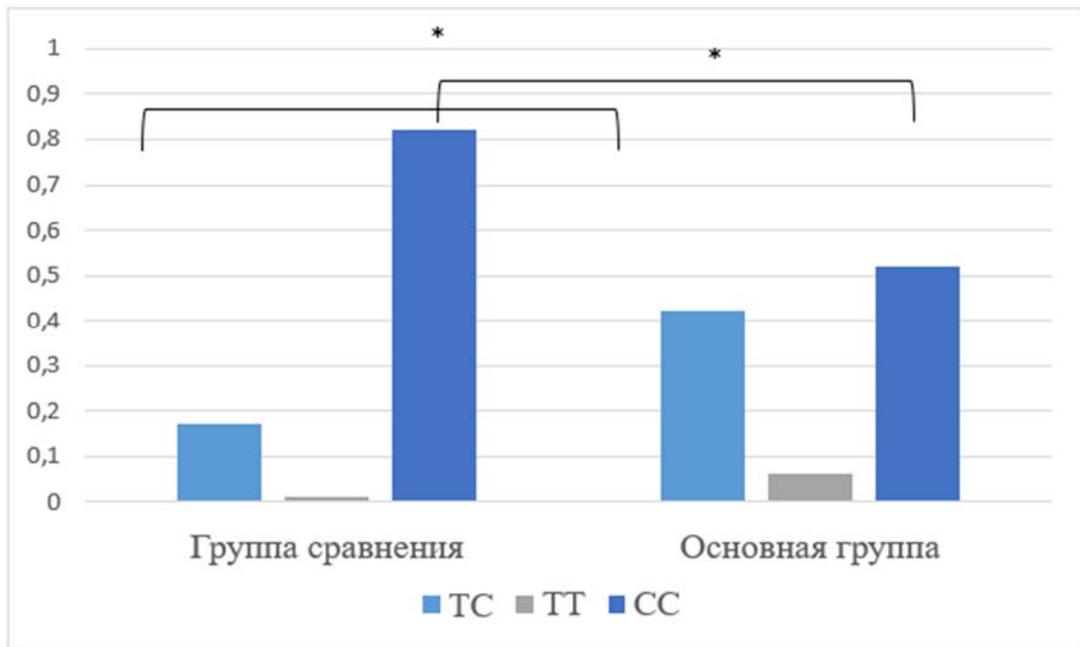


Рисунок 16 – Распределение частот генотипов полиморфного маркера *rs7525979* в гене *NLRP3* в исследуемых группах. По оси абсцисс представлены исследуемые группы, по оси ординат – частота генотипов (\* –  $p \leq 0,05$ )

При исследовании полиморфного маркера *rs7525979* гена *NLRP3* в зависимости от стадии ПОУГ были обнаружены статистически достоверные различия для аллелей. Выявлено, что аллель *T* увеличивает риск развития ПОУГ I стадии в 2 раза (частота 0,16 и 0,34;  $p=0,026$ ,  $OR=2,207$ ,  $95\%CI=1,119-4,350$ ) и IV стадии в 9 раз (частота 0,16 и 0,58;  $p<0,001$ ,  $OR=9,839$ ,  $95\%CI=3,579-27,053$ ), аллель *C* играет проекторную роль для I, II и III стадий ПОУГ ( $p<0,001$ ) относительно группы сравнения. Данные представлены на Рисунке 17.

Гетерозиготный генотип увеличивает риск развития ПОУГ I стадии в 3 раза ( $p=0,01$ ,  $OR=3,253$ ,  $95\%CI=1,588-6,662$ ), II и III стадии – в 2 раза ( $p=0,033$ ,  $OR=2,182$ ,  $95\%CI=1,013-4,698$ ), ( $p=0,010$ ,  $OR=2,982$ ,  $95\%CI=1,342-6,627$ ), IV стадии – в 12 раз ( $p<0,001$ ,  $OR=12,319$ ,  $95\%CI=4,292-35,355$ ) относительно группы сравнения. Гомозигота *CC*, наоборот, значительно чаще встречалась в группе сравнения, играя протективную роль в развитии ПОУГ всех стадий (I –  $p<0,01$ ,  $OR=0,266$ ,  $95\%CI=0,132-0,536$ ; II –  $p<0,012$ ,  $OR=0,378$ ,  $95\%CI=0,180-0,794$ ; III –  $p<0,04$ ,  $OR=0,319$ ,  $95\%CI=0,146-0,696$ ; IV –  $p<0,001$ ,  $OR=0,089$ ,  $95\%CI=0,031-0,253$ ). Данные представлены на Рисунке 18.

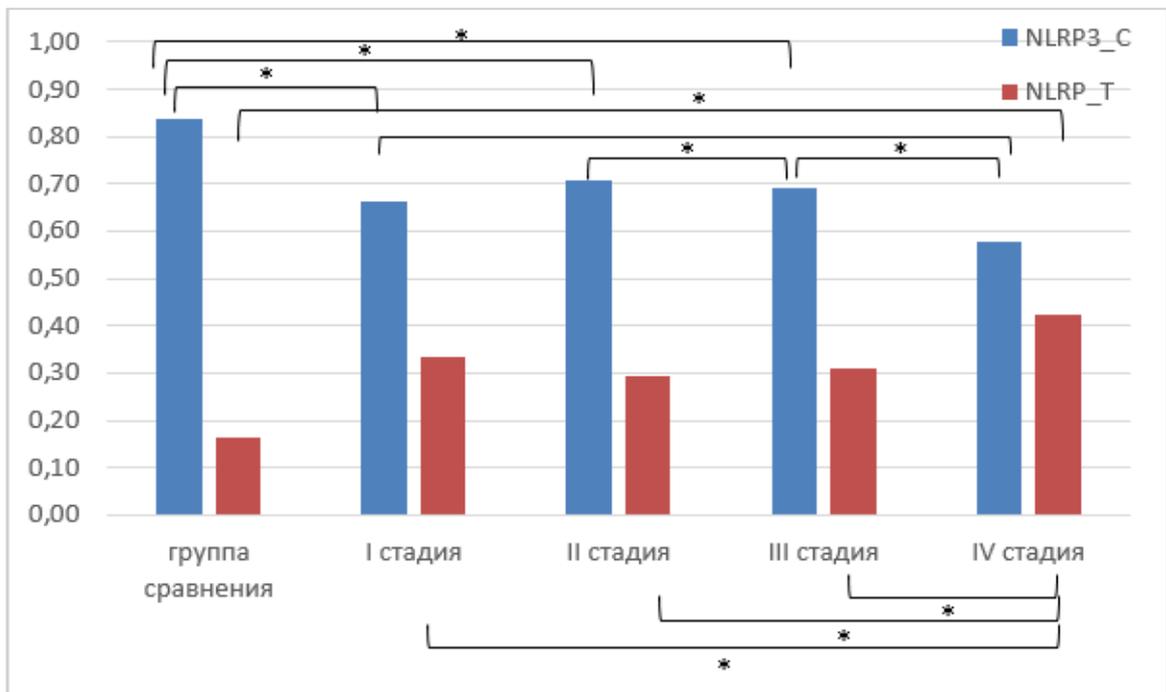


Рисунок 17 – Распределение частот аллелей полиморфного маркера *rs7525979* в гене *NLRP3* в исследуемых группах. По оси абсцисс представлены исследуемые группы, по оси ординат – частота аллелей (\* –  $p \leq 0,05$ )

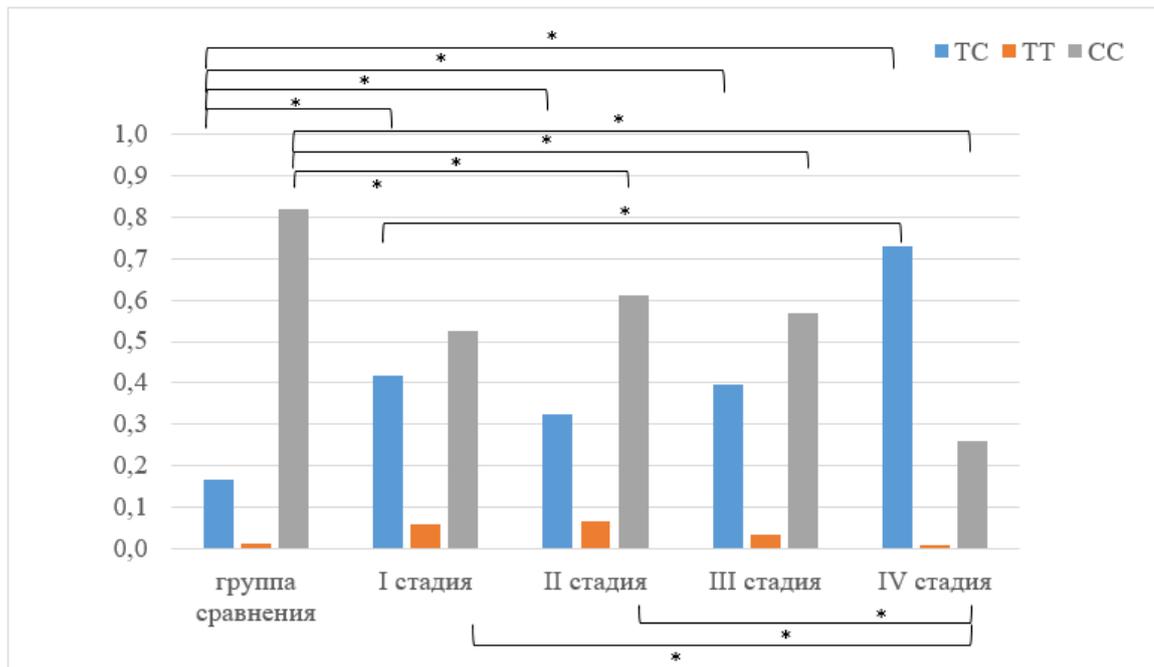


Рисунок 18 – Распределение частот генотипов полиморфного маркера *rs7525979* в гене *NLRP3* в исследуемых группах. По оси абсцисс представлены исследуемые группы, по оси ординат – частота генотипов (\* –  $p \leq 0,05$ )

В ходе исследования выявлено, что аллель *C* значительно чаще встречается при глаукоме III стадии ( $p < 0,0001$ ;  $OR = 2,974$ ;  $95\%CI = 1,819-4,9$ ) по сравнению с

группой пациентов со II стадией. При сравнении групп пациентов с III и IV стадиями выявлено, что аллель *C* значительно чаще встречался у пациентов с III стадией и играл протективную роль для пациентов с IV стадией заболевания ( $p < 0,018$ ;  $OR = 0,1$ ;  $95\%CI = 0,009-0,66$ ). При сравнении групп пациентов с I, II, III стадиями относительно IV стадии было выявлено, что аллель *T* чаще встречался у пациентов с I, II, III стадиями и играл протективную роль для IV стадии ПОУГ.

При сравнении групп пациентов с ПОУГ I, II, III стадиями относительно IV стадии заболевания выявлено, что гомозиготный генотип *CC* увеличивает риск развития I стадии ПОУГ в 2 раза (частота 0,52 и 0,26;  $p < 0,0273$ ;  $OR = 2,991$ ;  $95\%CI = 1,168-7,507$ ), II стадии – в 4 раза (частота 0,61 и 0,26;  $p < 0,032$ ;  $OR = 4,252$ ;  $95\%CI = 1,551-10,61$ ), III стадии – в 3 раза (частота 0,57 и 0,26;  $p < 0,0174$ ;  $OR = 3,583$ ;  $95\%CI = 1,361-9,014$ ). Гомозиготный генотип *CC* значительно чаще встречался в группе пациентов с IV стадией и играл протективную роль для I стадии ПОУГ (частота 0,42 и 0,73;  $p < 0,0076$ ;  $OR = 0,264$ ;  $95\%CI = 0,105-0,679$ ).

При исследовании полиморфного маркера *rs530537* гена *CASP1* статистически достоверные различия были обнаружены для аллелей при сопоставлении группы пациентов с ПОУГ с группой сравнения. Для данных выборок частоты распределения аллелей *T* и *C* составили соответственно: 0,42 и 0,58 для пациентов с глаукомой; 0,53 и 0,47 для группы сравнения. Из этого следует, что аллель *T* достоверно чаще встречается в группе пациентов с ПОУГ относительно группы сравнения ( $p = 0,017$ ,  $OR = 2,738$ ,  $CI = 1,16-6,38$ ) и увеличивает риск развития патологии в 2,74 раза. Данные представлены на Рисунке 19.

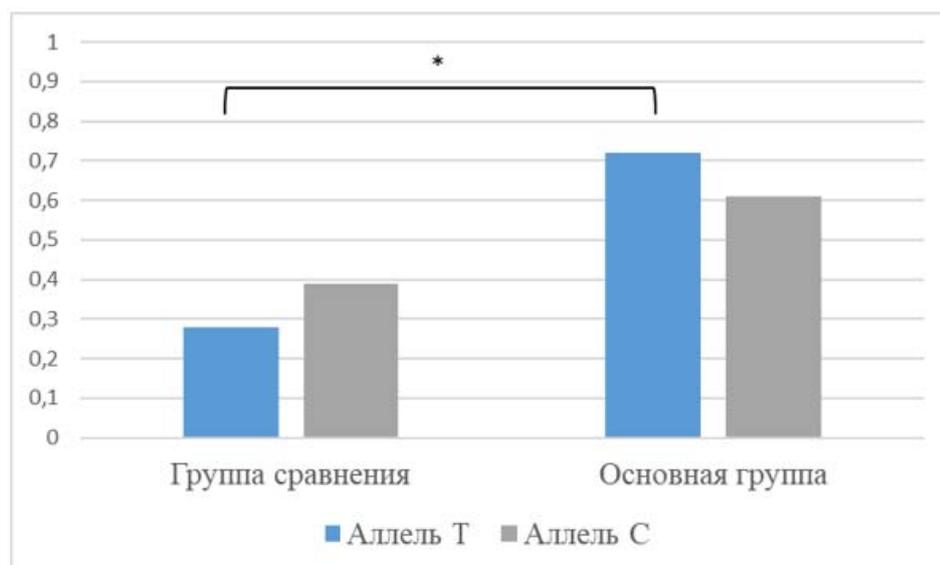


Рисунок 19 – Распределение частот аллелей полиморфного маркера *rs530537* в гене *CASP1* в исследуемых группах. По оси абсцисс представлены исследуемые группы, по оси ординат – частота аллелей (\* –  $p \leq 0,05$ )

В распределении генотипов также выявлены статистически значимые различия: гомозиготный генотип *CC* (частота 0,48 и 0,52;  $p = 0,017$ ;  $OR=0,36$ ;  $95\%CI = 0,157-0,855$ ) значительно чаще встречался в группе сравнения, играя протективную роль в развитии патологии. Данные представлены на Рисунке 20 и в Приложении Б.

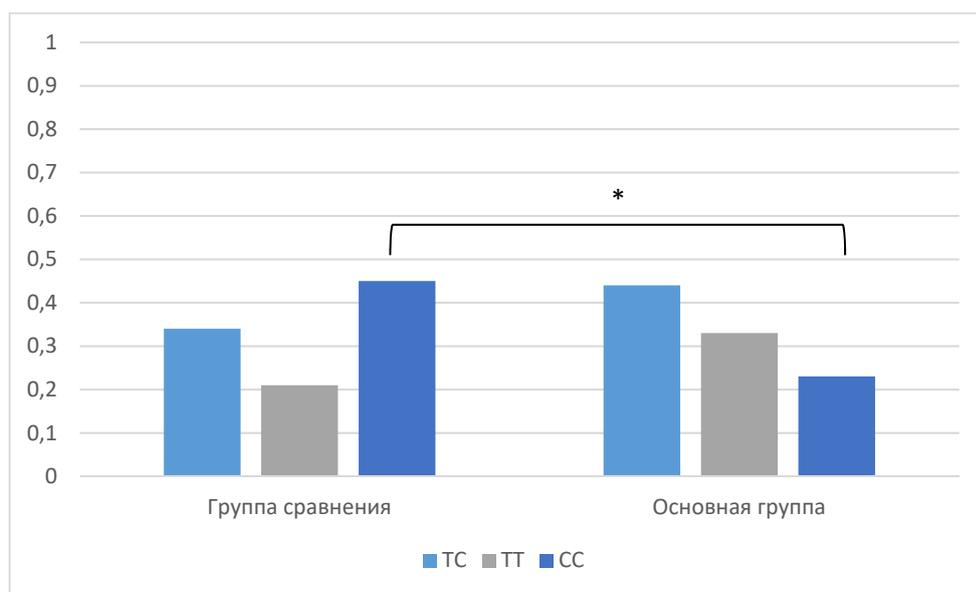


Рисунок 20 – Распределение частот генотипов полиморфного маркера *rs530537* в гене *CASP1* в исследуемых группах. По оси абсцисс представлены исследуемые группы, по оси ординат – частота генотипов (\* –  $p \leq 0,05$ )

При исследовании полиморфного маркера *rs530537* гена *CASP1* в зависимости от тяжести ПОУГ для аллелей и генотипов были обнаружены статистически достоверные различия относительно группы сравнения. Частоты распределения аллелей *T* и *C* составили 0,53 и 0,47 для начальной стадии ПОУГ; 0,51 и 0,49 для развитой стадии, 0,52 и 0,48 – для далекозашедшей, 0,53 и 0,47 – для терминальной стадии, 0,41 и 0,59 для группы сравнения. Таким образом, согласно полученным данным, аллель *T* увеличивает риск развития ПОУГ I и II стадий в 2 раза ( $p < 0,028$ ,  $OR = 2,732$ ;  $95\%CI = 1,169-6,383$ ) ( $p < 0,039$ ,  $OR = 2,833$ ,  $95\%CI = 1,145-7,009$ ), III стадии – в 3 раза ( $p < 0,029$ ,  $OR = 3,238$ ,  $95\%CI = 1,186-8,842$ ), IV стадии – в 4 раза ( $p < 0,023$ ;  $OR = 4,857$ ,  $95\%CI = 1,223-19,295$ ) относительно группы сравнения.

Анализ распределения частоты встречаемости генотипов показал, что гомозиготный генотип *CC* встречается у пациентов с ПОУГ I стадии с частотой 0,52, II стадией – 0,61, III стадией – 0,57, IV стадией – 0,26, тогда как в группе сравнения – с частотой 0,82. Таким образом, согласно полученным данным, гомозигота *CC* играет протективную роль для ПОУГ всех стадии ( $p < 0,05$ ). Данные представлены на Рисунке 21.

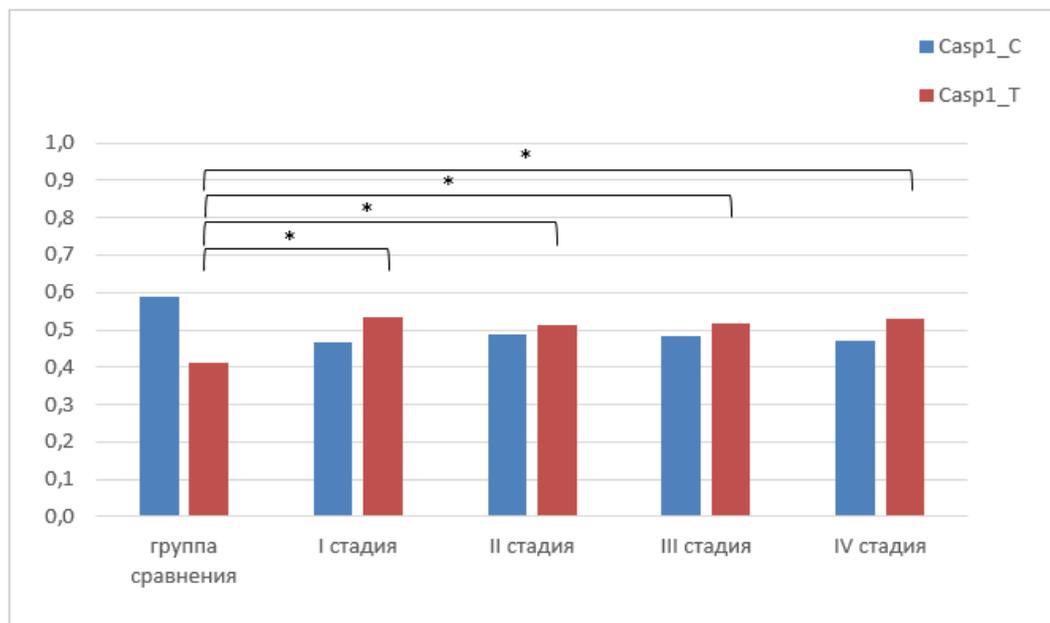


Рисунок 21 – Распределение частот аллелей полиморфного маркера *rs530537* гена *CASP1* в исследуемых группах. По оси абсцисс представлены исследуемые группы, по оси ординат – частота аллелей (\* –  $p \leq 0,05$ )

Кроме этого, в ходе исследования было обнаружено статистически значимое различие в частоте распределения аллелей между группой с начальной стадией ПОУГ и далекозашедшей ( $p < 0,006$ ;  $OR = 3,955$ ,  $95\%CI = 1,499-9,514$ ) и терминальной стадиями заболевания ( $p < 0,03$ ;  $OR = 3,906$ ,  $95\%CI = 1,330-13,07$ ). Таким образом, риск развития тяжелых форм ПОУГ возрастает в 3 раза по сравнению с I стадией заболевания. Данные представлены на Рисунке 22.

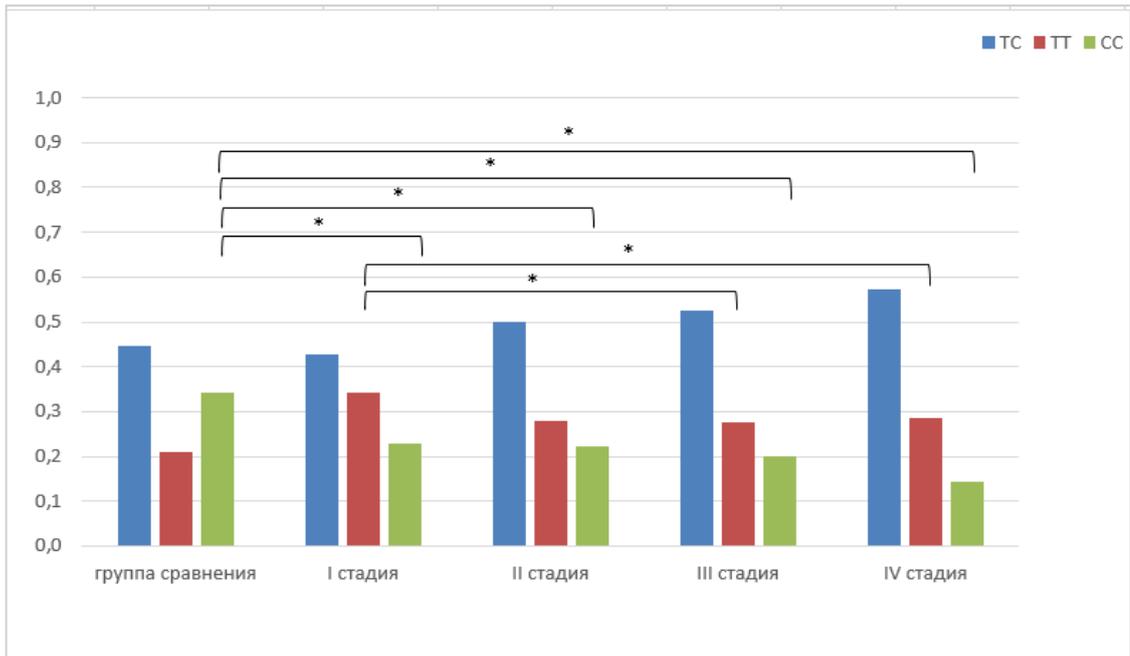


Рисунок 22 – Распределение частот генотипов полиморфного маркера *rs530537* гена *CASP1* в исследуемых группах. По оси абсцисс представлены исследуемые группы, по оси ординат – частота генотипов (\* –  $p \leq 0,05$ )

Многие вопросы ведения пациентов с ПОУГ, включая оценку ее прогрессирования, выбор сроков наблюдения, определение тактики лечения, требуют выделения стадий развития заболевания. Поскольку известно, что при прогрессировании глаукомы от первой к четвертой стадии ухудшаются зрительные функции, то можно предположить, что ассоциация полиморфных маркеров генов врожденного иммунитета, в том числе инфламмасомного комплекса NLRP3 (NLRP3, CASP1), будет изменяться в зависимости от тяжести глаукомного процесса.

Таким образом, аллель *T* полиморфного маркера *rs7525979* гена *NLRP3* ассоциирован с риском развития ПОУГ и развитием тяжелых форм заболевания, в то время как аллель *C* играть протективную роль для глаукомы на начальных стадиях. Генотип *TC* связан с риском развития ПОУГ и ассоциирован с развитием тяжелых форм заболевания, увеличивая риск развития ПОУГ IV стадии в 12 раз. Генотип *CC* играет протекторную роль на всех стадиях ПОУГ. Аллель *T* полиморфного маркера *rs530537* гена *CASP1* также ассоциирован с развитием ПОУГ, усугубляя тяжесть течения заболевания. Генотип *CC* играет протективную роль на всех стадиях патологии. Данные представлены на Рисунке 23.

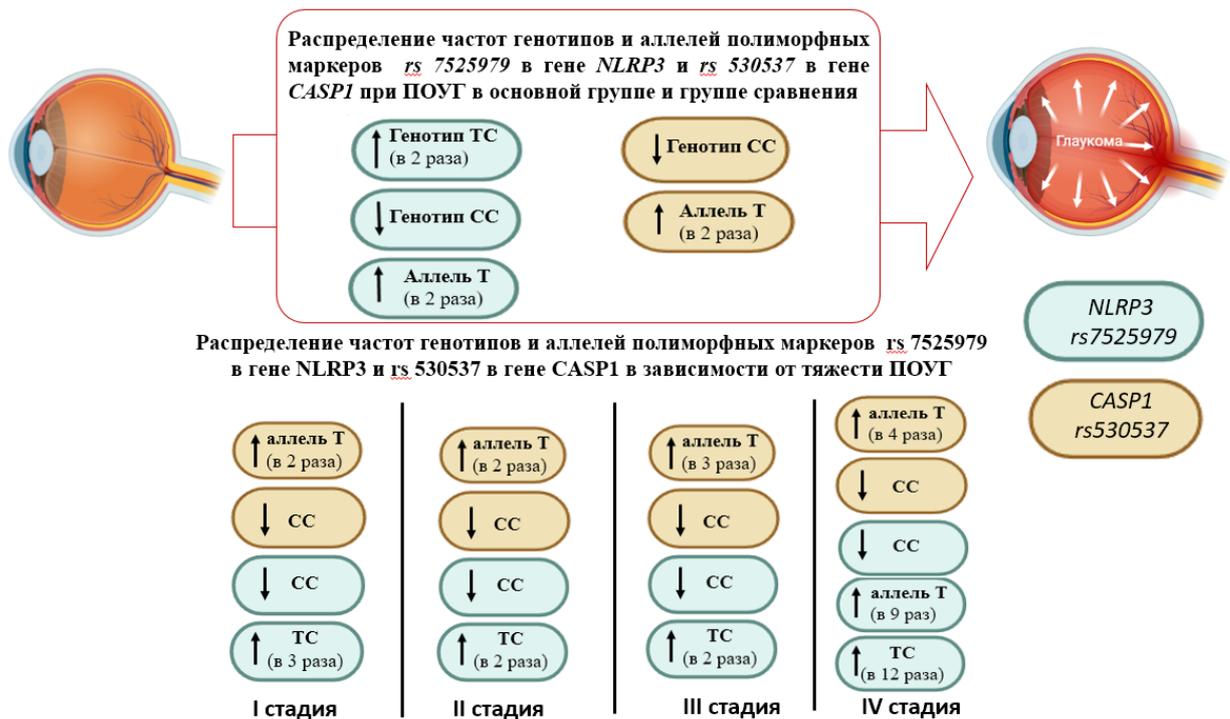


Рисунок 23 – Распределение частот генотипов и аллелей полиморфных маркеров *rs 7525979* в гене *NLRP3* и *rs 530537* в гене *CASP1* при ПОУГ

Полученные результаты согласуются с имеющимися данными современной литературы. Исследование Jassim et al. в 2021 г. выявили тесную связь между инфламмасомным комплексом *NLRP3* и глаукомой [133]. Исследование Mou et al., 2023 г., также обнаружили ассоциацию между инфламмасомой *NLRP3* и тяжестью повреждения зрительного нерва при первичной глаукоме [65]. Qiming Zhang et al., 2024 г., при изучении взаимосвязи между фактором роста эндотелия сосудов

(VEGF), воспалительным комплексом, ассоциированным с доменом рецептора белка 3 (NLRP3), уровнями эритропоэтина (EPO) у пациентов с ПОУГ, показали, что уровни *NLRP3*, *CASPI* в группах с тяжелым и среднетяжелым течением заболевания были выше, чем в группе с легкой формой, демонстрируя достоверные различия ( $P < 0,05$ ) [40].

В том же исследовании Qiming Zhang et al., 2024 г., сформулировали понимание того факта, что процессы воспаления, лежащие в основе взаимосвязи между факторами врожденного иммунитета с участием инфламмасом, окислительного стресса, эндотелиальной дисфункции у пациентов с ПОУГ, остаются неясными [40]. Необходимо провести дальнейшие исследования для выяснения соответствующих механизмов их взаимосвязи у таких пациентов.

### **3.3 Распределение частот генотипов и аллелей по полиморфным маркерам T786C, C774T, Glu298Asp гена eNOS среди пациентов с первичной открытоугольной глаукомой**

По данным литературы, NO играет важную роль в регуляции кровообращения микроциркуляторного русла внутренних оболочек глаза и диска зрительного нерва. По данным литературы у больных с ПОУГ наблюдается дисрегуляция и нарушение синтеза оксида азота. Некоторыми авторами выявлена динамика изменения содержания оксида азота в зависимости от стадии заболевания и пола. Отмечено повышение на начальных стадиях и снижение на поздних. Установлено также повышение уровня NO в слезе, водянистой влаге и сыворотке крови у женщин по сравнению с мужчинами при ПОУГ [176].

Окислительный стресс имеет решающее значение для инициации и нарушения регуляции иммунной активности при глаукоматозной дегенерации. Окислительный процесс и выработка активных форм кислорода регулируют иммунный ответ, стимулируя способность глиальных клеток представлять антиген и увеличивая выработку конечных продуктов расширенного гликирования,

которые модулируют клеточную функцию посредством связывания специфических рецепторов [75].

Несмотря на большое количество исследований в области окислительного стресса и врожденного иммунитета, некоторые вопросы остаются без ответа. По этой причине было проведено исследование ассоциации полиморфных маркеров гена *eNOS* с риском развития первичной открытоугольной глаукомы у жителей Пермского края.

При анализе частоты встречаемости аллелей гена *eNOS* по полиморфному локусу *T786C* было выявлено, что у пациентов с ПОУГ аллель С играл протективную роль, так как наблюдалось достоверное снижение встречаемости данного аллеля относительно группы сравнения ( $p=0,013$ ), по частоте встречаемости аллеля Т статистически значимых отличий не выявлено ( $p>0,05$ ). На Рисунке 24 представлено распределение долей аллелей для основной группы и для группы сравнения.

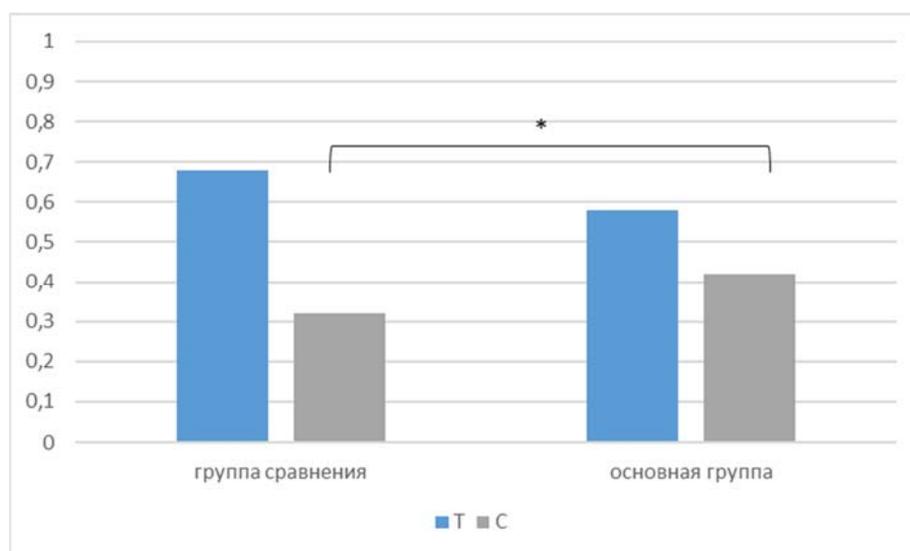


Рисунок 24 – Распределение частот аллелей полиморфного маркера *T786C* гена *eNOS* в исследуемых группах. По оси абсцисс представлены исследуемые группы, по оси ординат – частота аллелей

Анализ распределения генотипов по полиморфному локусу *T786C* гена *eNOS* в группе пациентов с ПОУГ показал достоверное повышение частоты встречаемости гомозиготного генотипа ТТ по сравнению с контрольной группой ( $p$

= 0,039). При этом шанс развития ПОУГ в 2,12 раза был выше относительно группы сравнения (ДИ: 0,88-5,257), различия были статистически значимыми ( $p < 0,05$ ). Кроме того, у пациентов с ПОУГ выявлено, что гетерозиготный генотип TC для пациентов с ПОУГ играл протективную роль, различия были статистически значимыми ( $p = 0,027$ , ОШ=0,436, ДИ=0,14 -0,853). На Рисунке 25 представлено распределение долей генотипов для основной группы и для группы сравнения.

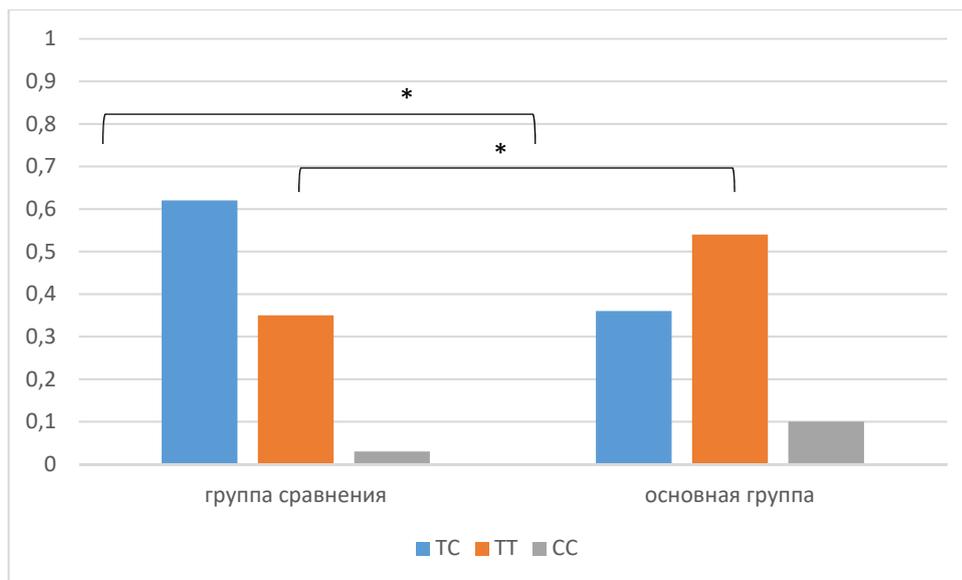


Рисунок 25 – Распределение частот генотипов полиморфного маркера *T786C* гена *eNOS* в исследуемых группах. По оси абсцисс представлены исследуемые группы, по оси ординат – частота генотипов

При исследовании маркера *T786C* гена *eNOS* статистически достоверные различия были обнаружены для аллелей при сопоставлении групп пациентов с ПОУГ I стадии относительно группы сравнения. Для данных выборок частоты распределения аллелей *T* и *C* составили соответственно: 0,53 и 0,47 для пациентов с глаукомой; 0,58 и 0,42 для группы сравнения. Из этого следует, что аллель *C* достоверно чаще встречается в группе сравнения, играя протективную роль для пациентов с ПОУГ I стадии ( $p=0,013$ , OR= 0,47, CI=0,26 – 0,84).

Сопоставление групп пациентов с ПОУГ II стадии относительно группы сравнения выявило, что частоты распределения аллелей *T* и *C* составили соответственно: 0,51 и 0,49 для пациентов с ПОУГ II стадии; 0,58 и 0,42 для группы сравнения. Из этого следует, что аллель *C* достоверно чаще встречается в группе

сравнения, играя протективную роль для пациентов с ПОУГ II стадии ( $p=0,026$ ,  $OR=0,53$ ,  $CI=0,292 - 0,961$ ). Данные представлены на Рисунке 26.

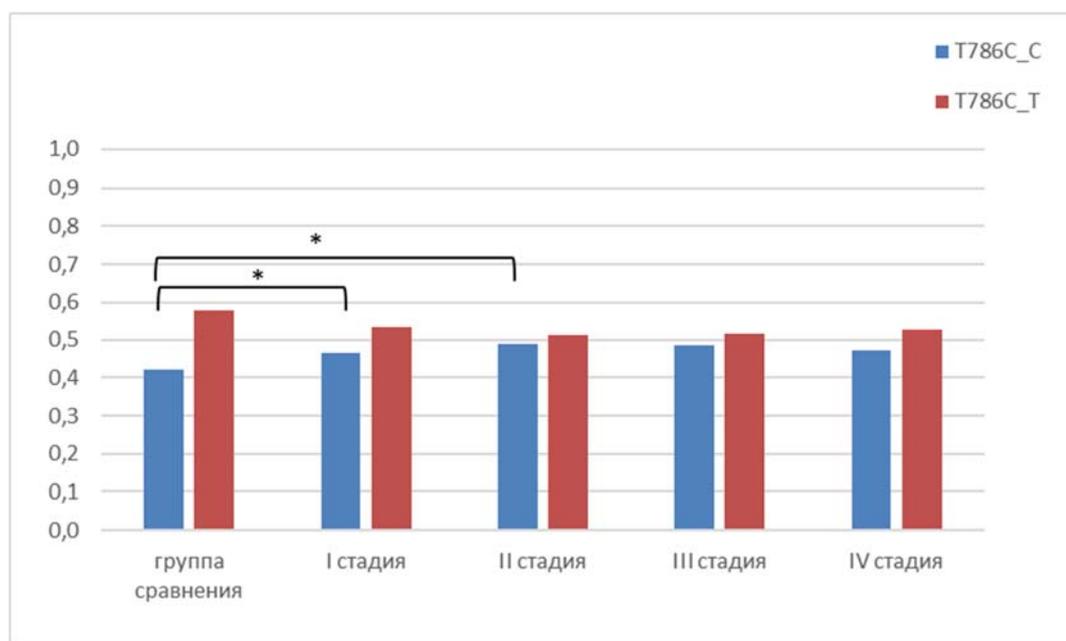


Рисунок 26 – Распределение частот аллелей полиморфного маркера *T786C* гена *eNOS* в исследуемых группах. По оси абсцисс представлены исследуемые группы, по оси ординат – частота генотипов (\* –  $p \leq 0,05$ )

Анализ распределения частоты встречаемости генотипов полиморфного маркера *T786C* гена *eNOS* в зависимости от стадии ПОУГ показал, что гомозигота *TT* увеличивает риск развития ПОУГ I стадии в 2 раз (частоты в группе сравнения и при ПОУГ I стадии: 0,39 и 0,58,  $p=0,013$ ;  $OR=2,125$ ;  $95\%CI=1,185-3,810$ ) и II стадии в 1,8 раза (частоты 0,39 и 0,55,  $p=0,026$ ;  $OR=1,88$ ;  $95\%CI=1,040 - 3,428$ ) относительно группы сравнения. При анализе влияния аллеля *T*, а также генотипов *TC* и *CC* статистически значимых данных не получено ( $p > 0,05$ ).

Сравнение групп пациентов с I и II, I и III, I и IV, II и III, II и IV, III и IV стадиями заболевания статистически достоверных значений не показало. Данные представлены на Рисунке 27.

При исследовании полиморфного маркера *C774T* гена *eNOS* в группе пациентов с ПОУГ и группе сравнения было обнаружено, что для данных выборок частоты распределения аллелей *T* и *C* составили соответственно: 0,66 и 0,34 для пациентов с глаукомой; 0,64 и 0,36 для группы сравнения. Из этого следует, что

аллель *T* увеличивает риск развития ПОУГ, а аллель *C* чаще встречается в группе сравнения, играя протективную роль. Результаты не были статистически значимыми ( $p > 0,05$ ).

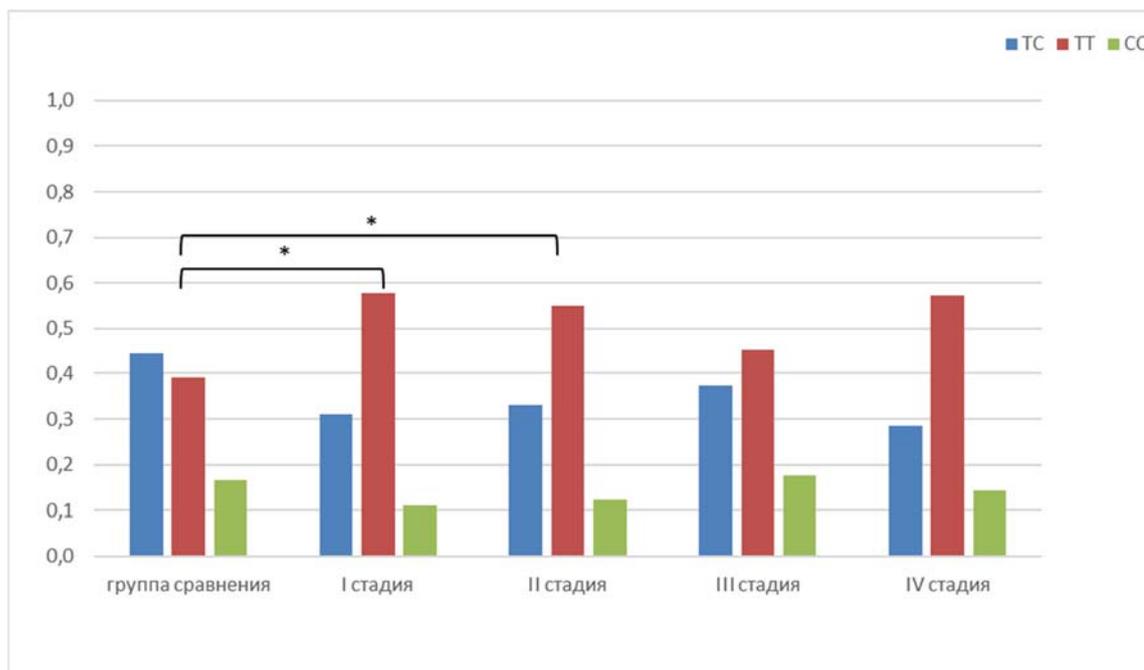


Рисунок 27 – Распределение частот генотипов полиморфного маркера *T786C* гена *eNOS* в исследуемых группах. По оси абсцисс представлены исследуемые группы, по оси ординат – частота генотипов (\* –  $p \leq 0,05$ )

Частоты распределения генотипов *CC*, *TT*, *TC* составили соответственно: 0,09, 0,53 и 0,38 для пациентов с глаукомой; 0,08, 0,49 и 0,42 для группы сравнения. Таким образом, генотип *TT* увеличивает риск развития ПОУГ, а генотипы *CC* и *TC* играют протективную роль. Результаты не были статистически значимыми ( $p > 0,05$ ).

Изучение полиморфного маркера *C774T* гена *eNOS* в зависимости от стадии ПОУГ относительно группы сравнения выявило, что аллель *C* чаще встречался у пациентов с ПОУГ III стадией и реже у пациентов с I, II стадиями заболевания, а аллель *T* – чаще у пациентов с IV стадией и реже у пациентов с I, II, III стадиями. Результаты не были статистически значимыми ( $p > 0,05$ ) (Рисунок 28).

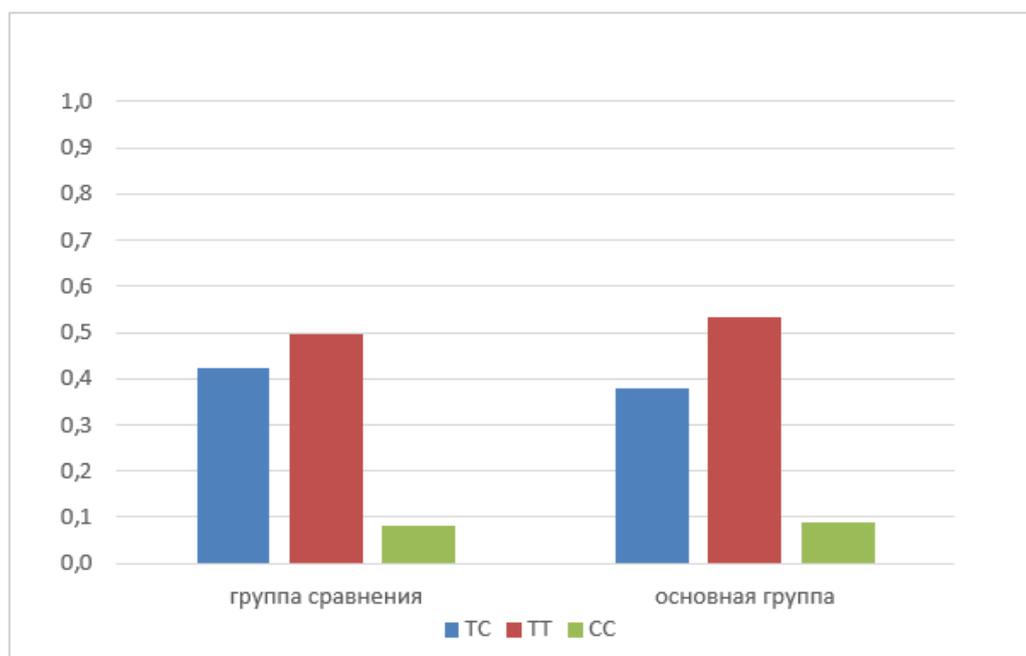


Рисунок 28 – Распределение частот генотипов полиморфного маркера *C774T* гена *eNOS* в исследуемых группах. По оси абсцисс представлены исследуемые группы, по оси ординат – частота генотипов

Анализ распределения генотипов полиморфного маркера *C774T* гена *eNOS* в зависимости от стадии ПОУГ относительно группы сравнения показал, что генотип *TT* чаще встречается у пациентов с ПОУГ I, II стадиях (частота в группе сравнения – 0,49 и при I стадии – 0,54, OR=1,299; 95%CI=0,730-2,312), (частота в группе сравнения – 0,49 и при II стадии – 0,52, OR=1,198; 95%CI=0,664-2,162), генотип *CC* – при II (частота в группе сравнения – 0,08 и при II стадии – 0,10, OR=1,057; 95%CI=0,388-2,877) и III стадиях (частота в группе сравнения – 0,08 и при III стадии – 0,12, OR=1,304, 95%CI=0,437-3,892), генотип *TC* – при III стадии (частота в группе сравнения – 0,42 и при III стадии – 0,47, OR=1,209, 95%CI=0,609-2,398). Результаты не были статистически значимыми ( $p > 0,05$ ). Данные представлены на Рисунке 29.

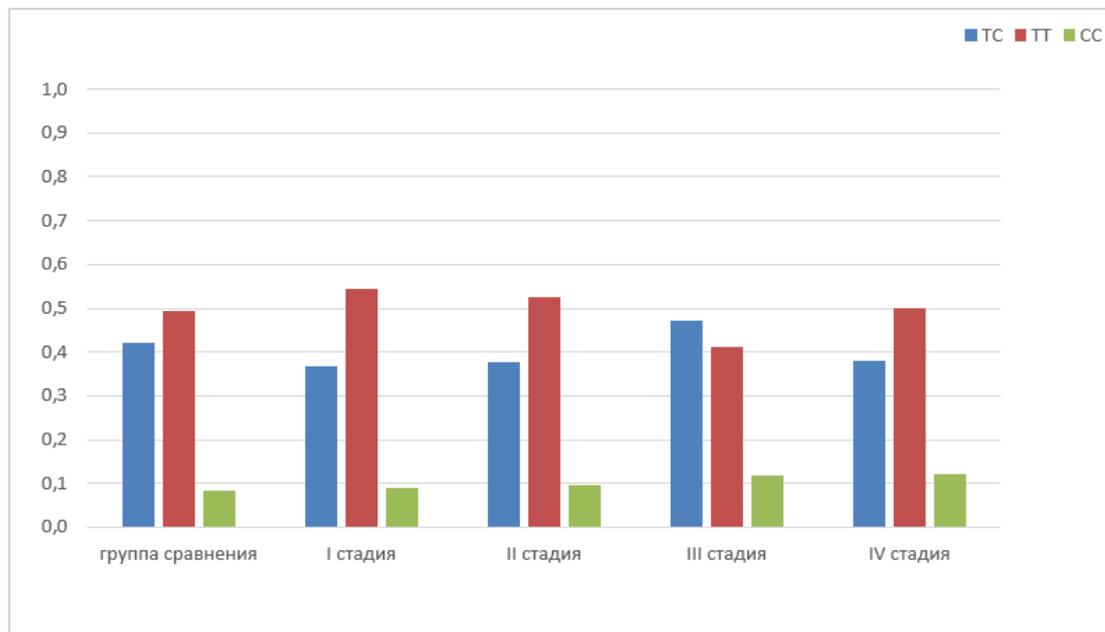


Рисунок 29 – Распределение частот генотипов полиморфного маркера *C774T* гена *eNOS* в исследуемых группах. По оси абсцисс представлены исследуемые группы, по оси ординат – частота генотипов (\* –  $p \leq 0,05$ )

При исследовании полиморфного маркера *Glu298Asp* гена *eNOS* в группе пациентов с ПОУГ и группе сравнения было обнаружено, что для данных выборок частоты распределения аллелей *T* и *C* составили соответственно: 0,63 и 0,37 для пациентов с глаукомой; 0,62 и 0,38 для группы сравнения. Из этого следует, что аллель *T* увеличивает риск развития ПОУГ, а аллель *C* чаще встречается в группе сравнения, играя протективную роль. Результаты не были статистически значимыми ( $p > 0,05$ ).

При исследовании генотипов полиморфного маркера *Glu298Asp* гена *eNOS* частоты распределения генотипов *CC*, *TT*, *TC* составили соответственно: 0,12, 0,48 и 0,40 для пациентов с глаукомой; 0,14, 0,46 и 0,39 для группы сравнения. Таким образом, генотипы *TT*, *TC* увеличивают риск развития ПОУГ, а генотип *CC* играет протективную роль. Результаты не были статистически значимыми ( $p > 0,05$ ). Данные представлены на Рисунке 30.

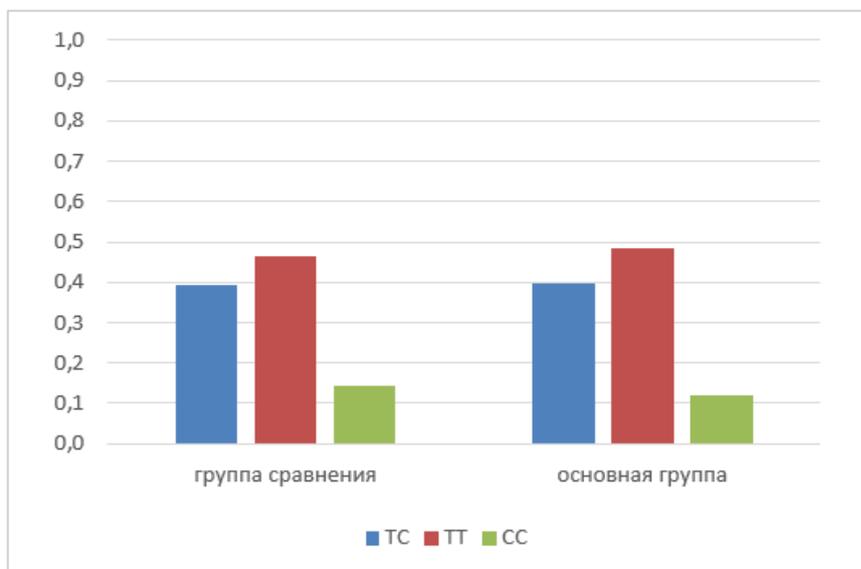


Рисунок 30 – Распределение частот генотипов полиморфного маркера *Glu298Asp* гена *eNOS* в исследуемых группах. По оси абсцисс представлены исследуемые группы, по оси ординат – частота генотипов

При изучении полиморфного маркера *Glu298Asp* гена *eNOS* в зависимости от стадии ПОУГ относительно группы сравнения было выявлено, что аллель *C*, генотип *TT* и *TC* увеличивают риск развития ПОУГ IV стадии, играя протекторную роль для ПОУГ с I, II, III стадиями заболевания. Аллель *T* увеличивает риск развития всех стадий ПОУГ. Результаты не были статистически значимыми ( $p > 0,05$ ). Данные представлены на Рисунке 31.

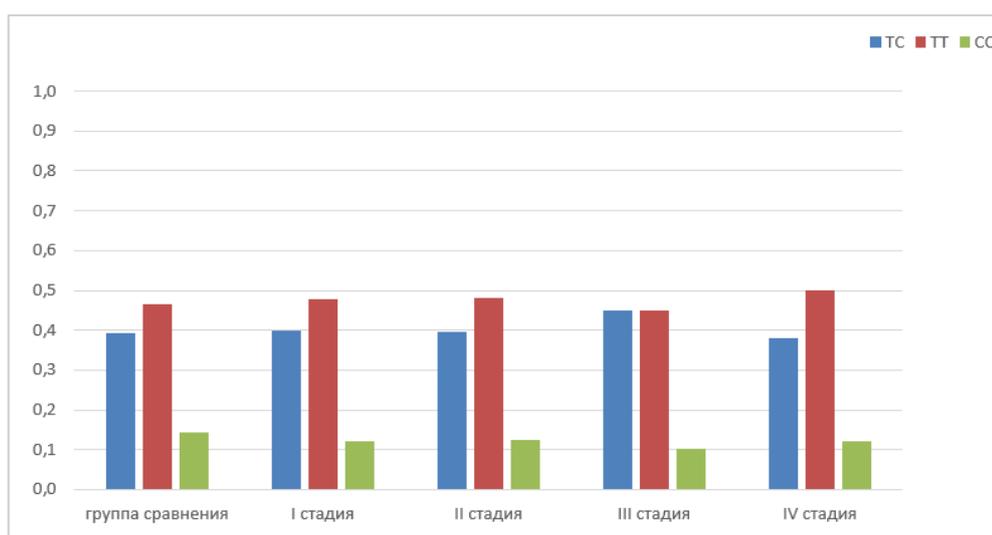


Рисунок 31 – Распределение частот генотипов полиморфного маркера *Glu298Asp* гена *eNOS* в исследуемых группах. По оси абсцисс представлены исследуемые группы, по оси ординат – частота генотипов (\* –  $p \leq 0,05$ )

### 3.4 Распределение частот гаплотипов по полиморфным локусам гена *eNOS* среди пациентов с первичной открытоугольной глаукомой

Кроме анализа однонуклеотидных генотипов актуальным является исследование ассоциации гаплотипов гена *eNOS* с развитием ПОУГ и ее стадий.

При исследовании распределения частот гаплотипов по полиморфным локусам *rs 2070744 T786C* и *rs 1549758 C774T* гена *eNOS* выявлено, что у пациентов с гаплотипом *TC/TC* ПОУГ развивалась значительно реже, таким образом вышеуказанный гаплотип можно считать «протективным». При исследовании распределения остальных гаплотипов данных полиморфных маркеров достоверных различий не найдено. Данные представлены на Рисунке 32 и в Приложении В.

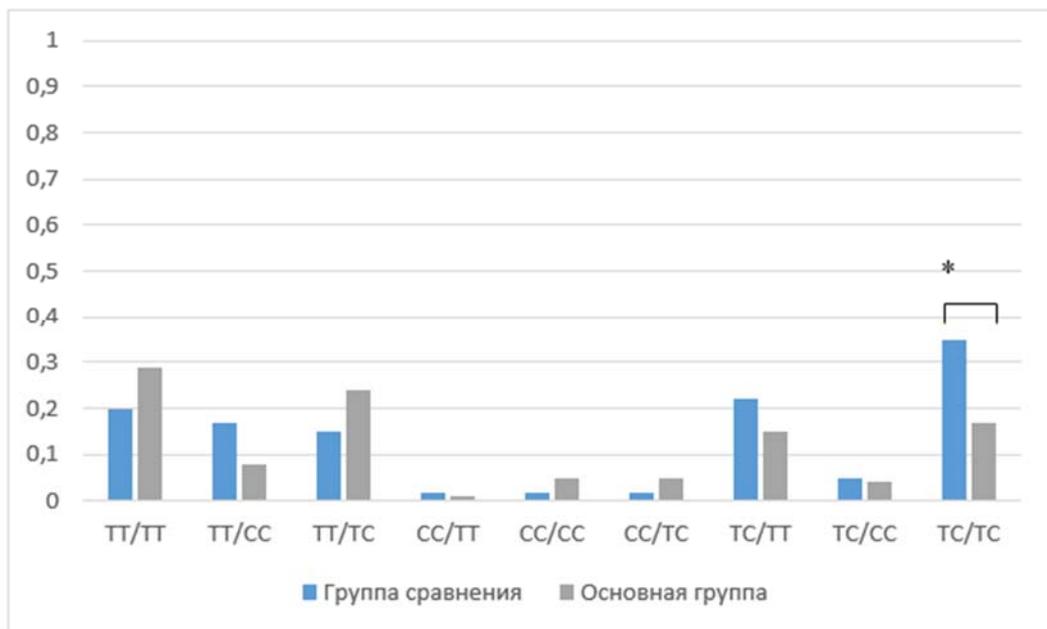


Рисунок 32 – Распределение частот гаплотипов по полиморфным локусам *T786C* и *C774T* гена *eNOS* в исследуемых группах. По оси абсцисс представлены исследуемые группы, по оси ординат – частота гаплотипов (\* –  $p \leq 0,05$ )

При исследовании распределения частот гаплотипов по полиморфным локусам *T786C* (*rs 2070744*) и *Glu298Asp* (*rs1799983 Glu 298Asp*) гена *eNOS* было показано, что у пациентов с гаплотипом *TC/TT* ПОУГ развивалась значительно реже, таким образом вышеуказанный гаплотип можно считать «протективным».

При исследовании распределения остальных гаплотипов данных полиморфных маркеров достоверных различий не найдено. Данные представлены на Рисунке 33 и в Приложении Г.

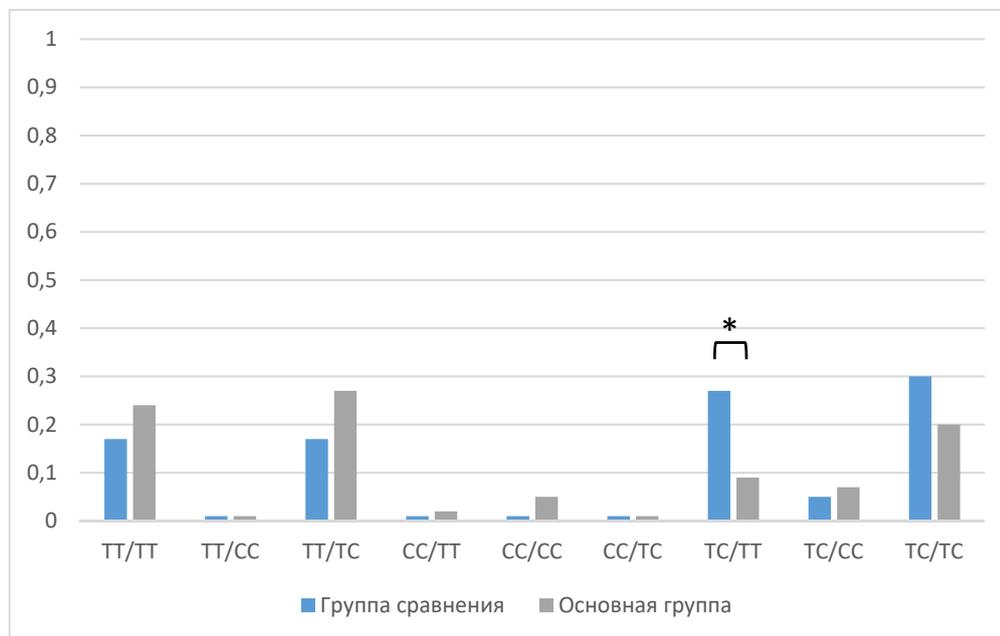


Рисунок 33 – Распределение частот гаплотипов по полиморфным локусам *T786C* и *Glu 298 Asp* гена *eNOS* в исследуемых группах. По оси абсцисс представлены исследуемые группы, по оси ординат – частота гаплотипов (\* –  $p \leq 0,05$ )

При исследовании распределения частот гаплотипов по полиморфным локусам *C774T* и *Glu298Asp* гена *eNOS* обнаружено, что у пациентов с данными гаплотипами достоверных различий не найдено. Данные представлены на Рисунке 34 и в Приложении Д.



Рисунок 34 – Распределение частот гаплотипов по полиморфным локусам *C774T* и *Glu 298 Asp* гена *eNOS* в исследуемых группах. По оси абсцисс представлены исследуемые группы, по оси ординат – частота гаплотипов (\* –  $p \leq 0,05$ )

При исследовании распределения частот гаплотипов по полиморфным локусам *T786C*, *C774T*, *Glu298Asp* гена *eNOS* показано, что у пациентов с гаплотипом *TT/TT/TT* ПОУГ развивалась значительно чаще, увеличивая риск развития заболевания в 2 раза (частоты 0,16 и 0,31,  $p = 0,025$ , ОШ= 2,286, ДИ= 1,138-4,593). При исследовании распределения остальных гаплотипов данных полиморфных маркеров достоверных различий не найдено. Данные представлены на Рисунке 35 и в Приложении Е.

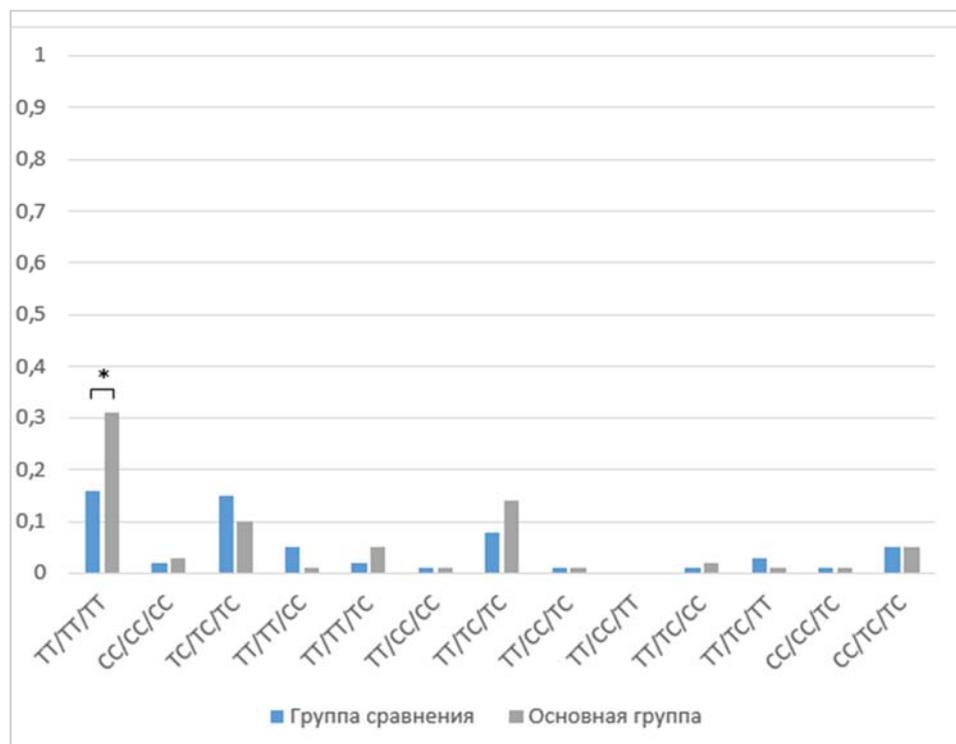


Рисунок 35 – Распределение частот гаплотипов по полиморфным локусам *T786C*, *C774T* и *Glu 298 Asp* гена *eNOS* в исследуемых группах. По оси абсцисс представлены исследуемые группы, по оси ординат – частота гаплотипов (\* –  $p \leq 0,05$ )

При исследовании распределения частот гаплотипов по полиморфным локусам *T786C*, *C774T*, *Glu298Asp* гена *eNOS* в зависимости от стадии ПОУГ было выявлено, что у пациентов с гаплотипом *TT/TT/TT* ПОУГ II стадии развивалась значительно чаще, увеличивая риск развития заболевания в 4 раза (частоты 0,16 и 0,45,  $p = 0,003$  ОШ= 4,169, ДИ= 1,716-10,128), при этом гаплотип *TT/TC/CC* наоборот играл протективную роль для той же группы пациентов относительно группы сравнения ( $p = 0,012$ ).

При сравнении групп пациентов с первой и третьей стадией ПОУГ было показано, что гаплотипы *TT/TT/CC* и *TC/TT/TC* у пациентов с ПОУГ I стадии наблюдался с частотой 0,11, при ПОУГ III стадии не встречался, соответственно был ассоциирован с риском возникновения I стадии заболевания ( $p < 0,05$ ).

При сравнении групп пациентов со второй и третьей стадиями ПОУГ было выявлено, что гаплотип *TT/TT/TT* встречался с частотой 0,45 при второй стадии и 0,2 при третьей, играя протективную роль для пациентов с III стадией ПОУГ ( $p =$

0,041). Гаплотип *ТС/ТС/ТС* увеличивал риск развития ПОУГ III стадии в 6,8 раза (частоты 0,03 и 0,19,  $p=0,046$ , ОШ=6,857, ДИ= 0,811-58,008).

При сравнении групп пациентов со второй и четвертой стадиями ПОУГ показано, что гаплотип *СС/ТС/ТС* встречался только у пациентов с IV стадией ПОУГ, играя протективную роль для пациентов со II стадией ( $p=0,033$ , ОШ=0,162, ДИ= 0,078-0,337).

При исследовании распределения остальных гаплотипов достоверных различий не найдено. Данные представлены в Таблице 5.

Таблица 5 – Распределение частот гаплотипов по полиморфным локусам *T786C*, *C774T*, *Glu 298Asp* гена *eNOS* среди пациентов в зависимости от тяжести ПОУГ

<i>rs 2070744 T786C / rs 1549758 C774T/ rs 1799983 Glu 298Asp</i>	Группа сравнения	Основная группа, стадии ПОУГ			
		1 стадия	2 стадия	3 стадия	4 стадия
ТТ/ТТ/ТТ	0,16	0,37	0,45*	0,2***	0,29
СС/СС/СС	0,02	0	0,03	0,04	0
ТС/ТС/ТС	0,15	0	0,03	0,19***	0
ТТ/ТТ/СС	0,05	0,11**	0	0	0
ТТ/ТТ/ТС	0,02	0,11	0,06	0,04	0
ТТ/СС/СС	0,01	0	0,03	0	0
ТТ/ТС/ТС	0,08	0,22	0,09	0,14	0,29
ТТ/СС/ТС	0,01	0	0	0	0
ТТ/СС/ТТ	0	0	0	0	0
ТТ/ТС/СС	0	0	0,07*	0	0
ТТ/ТС/ТТ	0,03	0	0	0,02	0
СС/СС/ТС	0,01	0	0	0	0
СС/ТС/ТС	0,05	0	0	0,09	0,14****
СС/СС/ТТ	0,02	0	0	0	0
СС/ТТ/ТТ	0,02	0	0	0,02	0
СС/ТТ/ТС	0,01	0	0	0	0
СС/ТС/ТТ	0,02	0	0	0,02	0
СС/ТТ/СС	0	0	0	0	0
СС/ТС/СС	0,01	0	0	0	0
ТС/ТС/СС	0,02	0	0,03	0,02	0
ТС/СС/ТС	0,01	0	0	0,02	0
ТС/СС/СС	0,01	0	0,03	0,02	0
ТС/ТТ/ТТ	0,16	0	0,09	0,11	0,29

## Продолжение Таблицы 5

ТС/ТТ/СС	0	0	0	0	0
ТС/СС/ТТ	0	0	0	0	0
ТС/ТТ/ТС	0,04	0,11**	0,06	0	0
ТС/ТС/ТТ	0,04	0	0	0	0

Примечание: \* при сравнении групп пациентов с ПОУГ II стадии относительно группы сравнения для гаплотипа *ТТ/ТТ/ТТ*  $p = 0,003$  ОШ= 4,169, ДИ= 1,716-10,128; для гаплотипа *ТТ/ТС/СС*  $p = 0,012$ , ОШ=0,23, ДИ=0,167-0,317;  
 \*\* при сравнении групп пациентов с ПОУГ I стадии и ПОУГ III стадии для гаплотипа *ТТ/ТТ/СС*  $p = 0,05$ , ОШ=0,154, ДИ=0,081-0,291; для гаплотипа *ТС/ТТ/ТС*  $p = 0,026$ , ОШ=0,154, ДИ=0,081-0,291;  
 \*\*\* при сравнении групп пациентов с ПОУГ II стадии и ПОУГ III стадии для гаплотипа *ТТ/ТТ/ТТ*  $p = 0,041$ , ОШ= 0,312, ДИ=0,113-0,864; для гаплотипа *ТС/ТС/ТС*  $p = 0,046$ , ОШ= 6,857, ДИ=0,811-58,008;  
 \*\*\*\* при сравнении групп пациентов с ПОУГ II стадии и ПОУГ IV стадии для гаплотипа *СС/ТС/ТС*  $p = 0,033$ , ОШ= 0,162, ДИ= 0,078-0,337.

Таким образом, в проведенном исследовании среди пациентов, проживающих в Пермском крае, выявлено, что аллель *C* полиморфного маркера *T786C* гена *eNOS* ассоциирован с риском развития ПОУГ, при этом чаще встречается на начальных стадиях заболевания. Генотип *ТТ* также как аллель *C* того же полиморфного маркера ассоциирован с риском развития глаукомы и чаще встречается на начальных этапах развития ПОУГ. Гаплотип *TTTTTT* (*rs 2070744 T786C/rs 1549758 C774T/rs 1799983 Glu 298Asp*) ассоциирован с развитием ПОУГ, усугубляя развитие II стадии заболевания, а гаплотип *ТТТССС* играет протектнкую роль для тоже стадии патологии, кроме того выявлено, что гаплотипы *ТСТС* (*rs 2070744 T786C/rs 1549758 C774T*), *ТСТТ* (*rs 2070744 T786C/rs 1799983 Glu 298Asp*) играют для пациентов с ПОУГ протективную роль. Данные представлены на Рисунке 36.

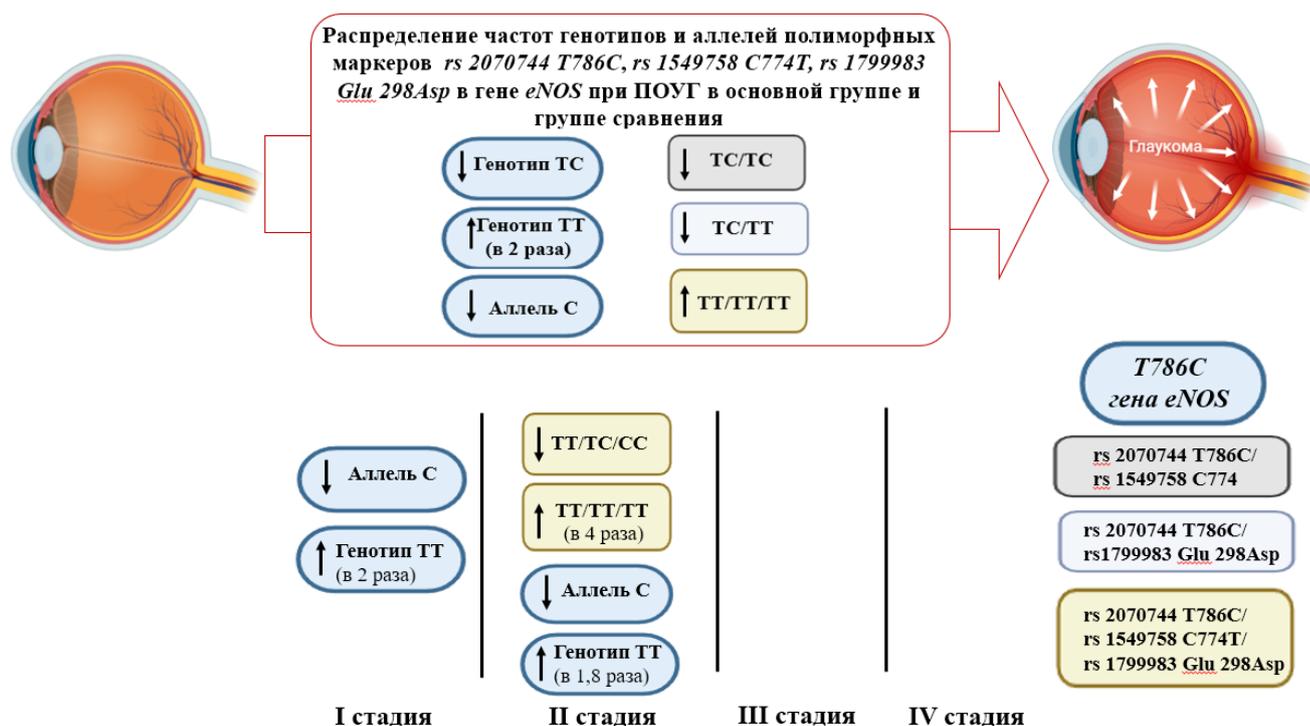


Рисунок 36 – Распределение частот генотипов и аллелей полиморфных маркеров *rs 2070744 T786C*, *rs 1549758 C774T*, *rs 1799983 Glu 298Asp* при ПОУГ

Частота, с которой аллельные варианты гена *eNOS* встречаются в различных группах населения, была оценена в различных исследованиях. В зависимости от этнической принадлежности данные изменчивы.

Так, по результатам ряда исследований, проведенных в отношении полиморфных маркеров гена *eNOS*, генотип *TT* и/или *T*-аллель в *rs2070744* гена *eNOS*, а также генотип *GG* и/или *G*-аллель в *rs1799983* играют протективную роль в отношении ПОУГ. Стратифицированный анализ, основанный на этнической принадлежности, показал, что ассоциация *rs2070744* с ПОУГ сохранилась у европейской части населения, в то время как никакой связи между *rs1799983* и ПОУГ не было обнаружено ни у европейцев, ни у азиатов. При дальнейшем изучении ассоциации по полу результаты показали, что генотип *TT* и/или *T*-аллель в *rs2070744* и генотип *GG* и/или *G*-аллель в *rs1799983* были благоприятными факторами для ПОУГ в женской группе пациентов [43].

Кроме этого, Ewa Kosior-Jarecka с соавторами провели исследование и оценили влияние полиморфизмов гена *eNOS* на клиническое состояние пациентов

с глаукомой нормального и высокого давления среди пациентов, проживающих на территории Польши. По его результатам полиморфизмы гена *eNOS G894T* и *T786C* появляются с одинаковой частотой у пациентов с глаукомой нормального давления и у больных с первичной открытоугольной глаукомой. В том исследовании выявлено, что генотип *CC* полиморфного маркера *T786C* был ассоциирован с риском развития глаукомы нормального давления у лиц мужского пола [144].

Среди Бразильской популяции, согласно исследованию, проведенному Thiago Magalhães da Silva et al., обнаружено, что гаплотип *CG* полиморфного маркера *T786C* и *Glu298Asp* были ассоциированы с риском развития ПОУГ (ОШ: 1.76; 95% ДИ: 0.98-3.14,  $p = 0.05$ ), особенно у женщин, и у всех пациентов старше 52 лет [48].

Процессы окислительного стресса и дисфункции эндотелия при глаукоме неразрывно связаны. Известно, что выработку оксида азота регулирует ген *EDNRB*, экспрессирующийся в клетках гладкой мускулатуры сосудов и эндотелиальных клетках. Он является одним из подтипом рецепторов эндотелина -1 и отвечает за сосудорасширяющий эффект, стимулируя образование оксида азота [138]. По этой причине исследование ассоциации полиморфных маркеров гена *EDNRB* среди пациентов с ПОУГ является актуальным.

### **3.5 Распределение частот генотипов и аллелей по полиморфному маркеру rs5351 гена EDNRB среди пациентов с первичной открытоугольной глаукомой**

Согласно литературе, не только оксид азота, но и эндотелин участвуют в регуляции глазного кровотока. Дисфункция эндотелия сосудов и неправильный синтез эндотелина и оксида азота нарушают баланс между вазоконстрикцией и вазодилатацией. Недостаток оксида азота наряду с повышенным уровнем эндотелина приводит к преобладанию вазоконстрикции, что, в свою очередь, уменьшает кровоток через цилиарные сосуды, функция которых заключается в снабжении диска зрительного нерва. Этот механизм, возможно, способствует

повреждению волокон зрительного нерва и последующему развитию глаукомы. Сужение сосудов, питающих диск зрительного нерва, вызванное повышенным уровнем ET-1, приводит к ишемии, которая дополнительно стимулирует выработку и секрецию ET-1 и фактора некроза опухоли- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ). Действие эндотелина опосредуется двумя типами рецепторов, EDNRA и EDNRB. Действие EDNRA рецептора заключается в стимуляции увеличения концентрации межклеточных ионов кальция и сужения сосудов.

Второй тип рецептора, EDNRB локализуется в эндотелиальных клетках, гладкомышечных клетках, почках и кровеносных сосудах [30]. Снижает концентрацию межклеточных ионов кальция и стимулирует высвобождение NO, простациклина (PGI<sub>2</sub>) и предсердный натрийуретический пептид (ANP), таким образом уравнивает действие рецепторов типа A. Считается, что рецепторы эндотелина типа B опосредуют расслабление гладкой мускулатуры и расширение сосудов, но их стимуляция в крупных сосудах и сердце может приводить к спазмам сосудов [135].

В проведенном исследовании при изучении полиморфного маркера *rs 5351* гена *EDNRB* было выявлено, что аллель *A* ( $p < 0,05$ , ОШ= 0,494, ДИ=0,290-0,843) значительно чаще встречается в группе сравнения и играет протективную роль. Гомозиготный генотип *GG* увеличивает риск развития ПОУГ в 2 раза ( $p < 0,05$ , ОШ= 2,113, ДИ=1,002-4,456) относительно группы сравнения. Гетерозиготный генотип, наоборот, чаще встречался в группе сравнения и играл протективную роль ( $p < 0,01$ , ОШ= 0,4, ДИ=0,235-0,680). Данные представлены на Рисунке 37.

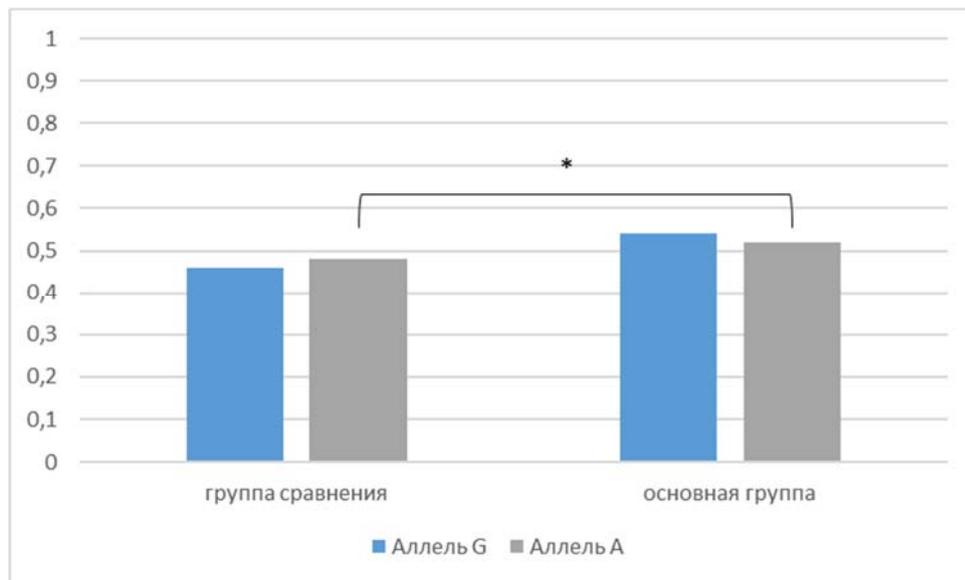


Рисунок 37 – Распределение частот аллелей полиморфного маркера *rs 5351* гена *EDNRB* в исследуемых группах. По оси абсцисс представлены исследуемые группы, по оси ординат – частота аллелей

При изучении распределения генотипов полиморфного маркера *rs 5351* гена *EDNRB* в зависимости от стадии ПОУГ относительно группы сравнения было выявлено, что частота встречаемости генотипа *GG* при I стадии ПОУГ – 0,3, при II стадии – 0,32, при III – 0,33, при IV – 0,64; в группе сравнения – 0,11. Из этого следует, что генотип *GG* увеличивает риск развития ПОУГ I стадии в 2,5 раза ( $p < 0,019$ , ОШ= 2,5, ДИ=1,171-5,464), II стадии в 2,7 раза ( $p < 0,020$ , ОШ= 2,73, ДИ=1,227-6,111), III стадии в 2,9 раза ( $p = 0,018$ , ОШ= 2,9, ДИ=1,238-6,834), IV стадии – в 7 раз ( $p < 0,0001$ , ОШ= 7,4, ДИ=2,68-20,459). Гетерозиготный генотип *GA* чаще встречается в группе сравнения, играя протективную роль для всех стадий ПОУГ ( $p < 0,05$ ). Данные представлены на Рисунке 38.

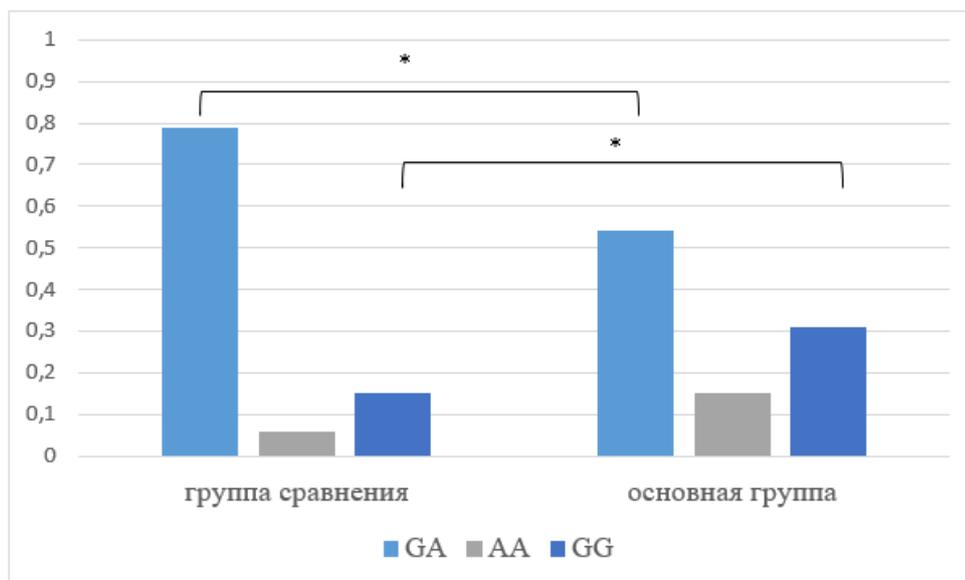


Рисунок 38 – Распределение частот генотипов полиморфного маркера *rs 5351* гена *EDNRB* в исследуемых группах. По оси абсцисс представлены исследуемые группы, по оси ординат – частота генотипов

Анализ распределения генотипов среди групп пациентов с ПОУГ I и IV стадиями показал, что аллель *A* значительно чаще встречается в группе пациентов с I стадией ПОУГ, увеличивая риск развития данной стадии заболевания в 2,9 раза относительно IV стадии (частота 0,45 и 0,33,  $p=0,02$ , ОШ=2,937, ДИ=1,137 – 7,168). Отмечено, что частота встречаемости генотипа *GG* составила 0,3 при I стадии ПОУГ, 0,67 – при IV стадии. Таким образом, гомозиготный генотип *GG* увеличивает риск развития IV стадии в 2,9 раза (частота 0,30 и 0,67,  $p=0,02$ , ОШ=2,927, ДИ=1,137 – 7,168).

Анализ распределения генотипов среди групп пациентов с ПОУГ II и III стадиями, а также ПОУГ II и IV стадиями показал, что генотип *GA* чаще встречается в группе пациентов со II стадией, играя протективную роль для III, IV стадий ( $p<0,05$ ). Данные представлены на Рисунках 39–40.

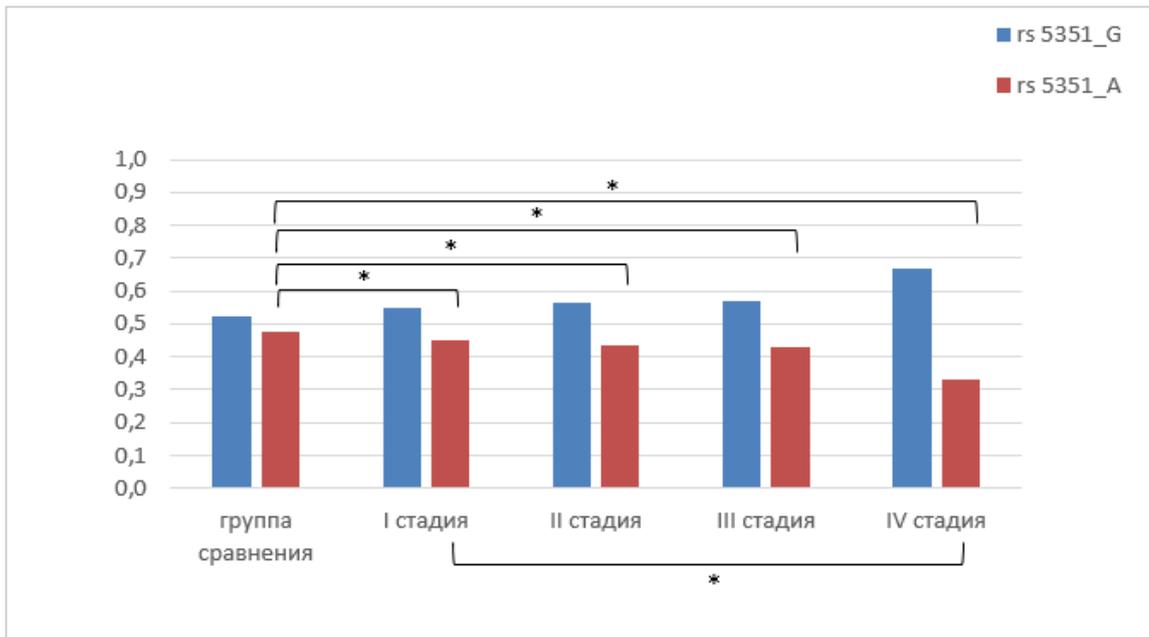


Рисунок 39 – Распределение частот аллелей полиморфного маркера *rs 5351* гена *EDNRB* в исследуемых группах. По оси абсцисс представлены исследуемые группы, по оси ординат – частота аллелей

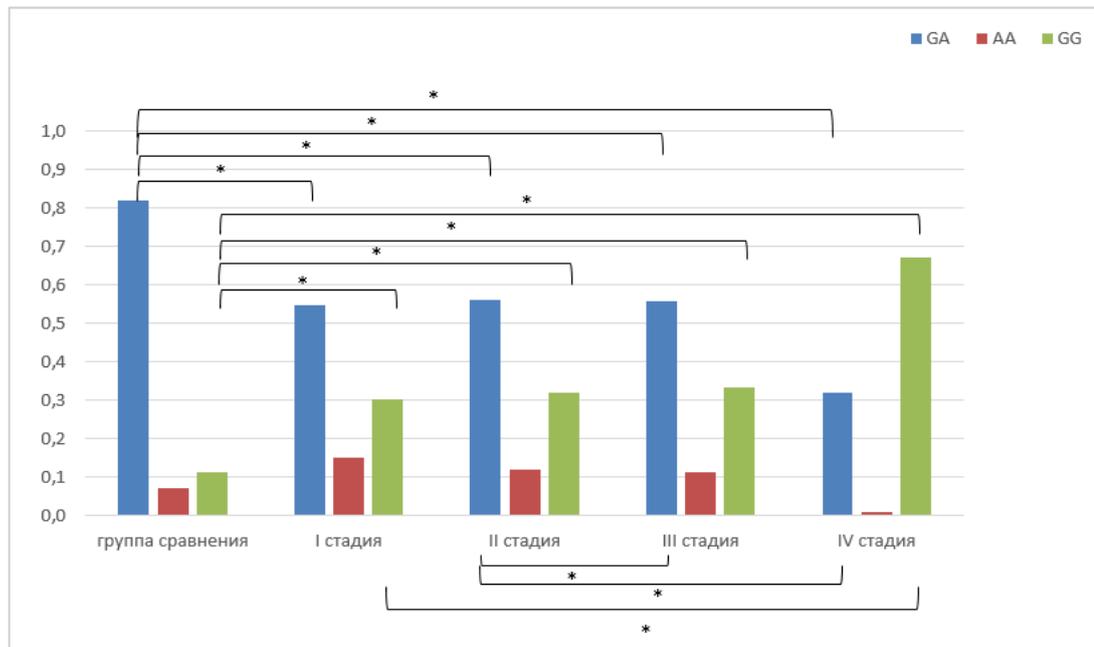


Рисунок 40 – Распределение частот генотипов полиморфного маркера *rs 5351* гена *EDNRB* в исследуемых группах. По оси абсцисс представлены исследуемые группы, по оси ординат – частота генотипов

Таким образом, в проведенном исследовании показано, что генотип *GG* ассоциирован с риском развития ПОУГ, усугубляя тяжесть течения патологии.

Аллель *A* и генотип *GA* играют протективную роль для пациентов с глаукомой на всех стадиях заболевания. Данные представлены на Рисунке 41.

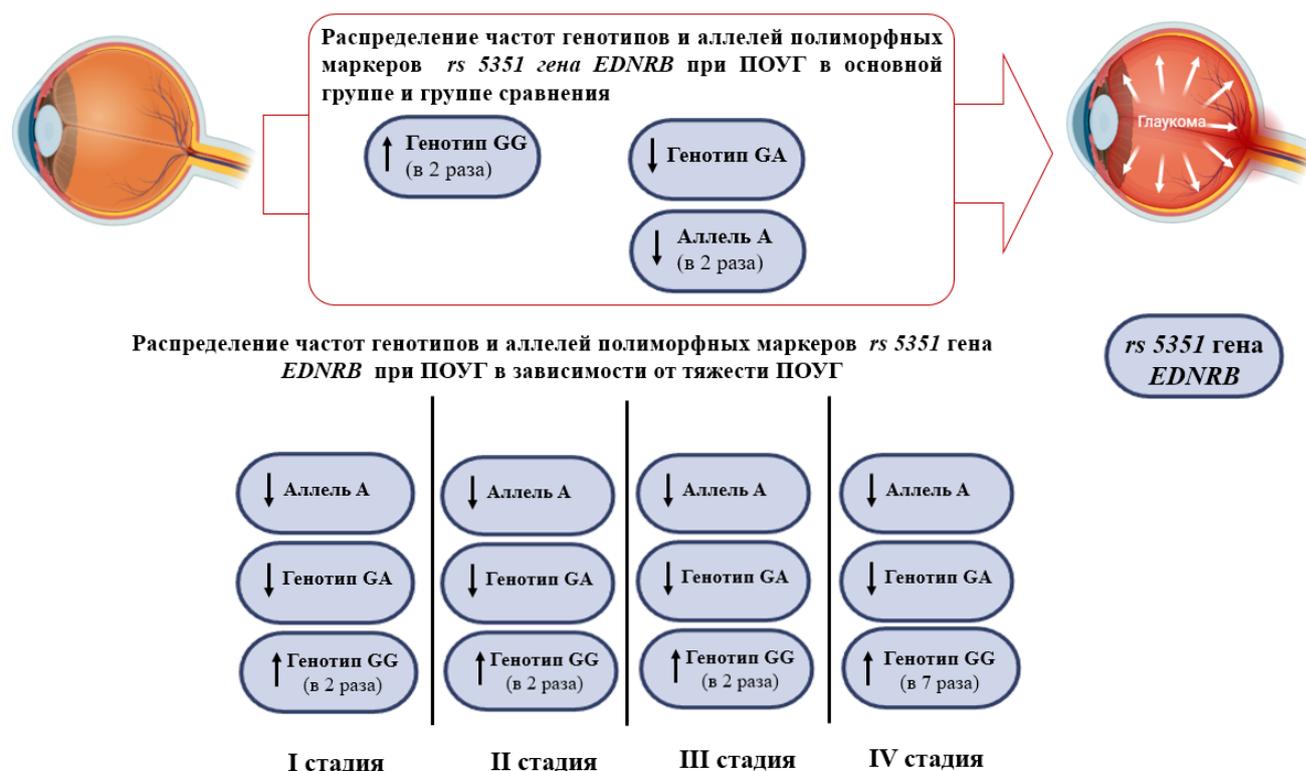


Рисунок 41 – Распределение частот генотипов и аллелей полиморфных маркеров *rs 5351* гена *EDNRB* при ПОУГ

Как и многие сигнальные системы, передача сигналов эндотелином также широко вовлечена в патофизиологию многочисленных заболеваний, включая заболевания сетчатки и зрительного нерва, в том числе, глаукому [74].

Так, по результатам ряда исследований, проведенных в отношении полиморфных маркеров генов эндотелина (ЕТ) (K198N) и рецептора эндотелина типа А (EDN RA) (*C1222T*, *C70G*, *G231A*), выявлено, что генотип *CC* полиморфного маркера *C1222T* гена *EDN RA* значительно увеличивал риск развития ПОУГ и ГНД, при этом частота генотипа *CC* полиморфизма *C70G* была достоверно выше среди контрольной группы, чем у пациентов с ПОУГ и ГНД [84].

В другом исследовании, проведенным Kang, J. H et al., показано, что ген *EDNRB* и ряд других генов (*AV1*, *ITPR3*) были связаны с ранней потерей полей

зрения при ПОУГ [187], однако точных данных о влиянии полиморфизмов гена *EDNRB* на клиническое состояние при ПОУГ в литературе описано мало.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Известно, что ПОУГ на начальных стадиях протекает практически без клинических проявлений и поэтому выявляется, когда затормозить развитие заболевания не представляется возможным. В некоторых случаях длительность начальной стадии составляет от 1 до 5 лет. У большинства пациентов глаукома обнаруживается на развитой и/или далекозашедшей стадиях, при проведении профилактических осмотров, при подборе очков, осмотре глазного дна и т.д. В некоторых случаях заболевание развивается стремительно и в течение 3-5 лет проходит все стадии вплоть до полной слепоты [139].

Заболевание характеризуется периодическим или постоянным повышением уровня ВГД выше индивидуальной нормы [8]. Как следствие, развиваются структурные патологические изменения ДЗН, возникают соответствующие типичные дефекты полей зрения. Однако, в ряде случаев, заболевание развивается на фоне нормальных цифр ВГД, что обуславливает наличие других факторов развития ПОУГ.

В последние годы обсуждается роль факторов врожденного иммунитета в патогенезе глаукомного процесса. Немало представлено работ по особенностям иммунитета органа зрения, поскольку это обуславливает отличающиеся патогенетические механизмы течения заболеваний глаз. Одним из обсуждаемых аспектов является обнаружение NO в различных тканях глаза, который играет ключевую роль в физиологических механизмах, а именно в регуляции сосудистого тонуса в сосудистой оболочке, кровообращении в сетчатке, оттоке водянистой влаги. Нерегулируемая выработка NO в тканях глаза может приводить к образованию токсичных супероксидных свободных радикалов, которые участвуют в заболеваниях глаз, в том числе при глаукоме. Отдельно описано, что компоненты глаукомного тканевого стресса под воздействием активных форм кислорода и белков теплового шока могут инициировать иммуностимулирующие пути передачи сигналов через активацию глиальных толл-подобных рецепторов. Кроме TLRs, в оболочках глаза обнаруживаются нод-подобные рецепторы, распознающие

повреждающие агенты в цитоплазме клетки. Как известно, NLRP3 является представителем суперсемейства PRRs и относится к семейству NOD-подобных рецепторов (NOD-like receptors, NLRs), локализующихся в цитоплазме клетки. После распознавания сигналов опасности нод-подобные рецепторы активируются, олигомеризуются, запускают сборку инфламмосомного комплекса с активацией каспаз и созреванием молекул предшественников цитокинов про-IL-1 $\beta$  и про-IL-18 в биологически активные формы. Кроме того, активированные каспазы посредством протеолитического белка газдермина способны инициировать пироптоз – программируемую провоспалительную форму клеточной гибели [84, 139].

В проведенной работе сформулировано положение о неразрывной связи процессов окислительного стресса, эндотелиальной дисфункции и патогенетических механизмы воспаления, обусловленного факторами врожденного иммунитета с образованием «порочного круга».

Для решения поставленной задачи проведено исследование ассоциации экспрессионных и полиморфных маркеров в генах факторов, белковые молекулы которых участвуют в активации инфламмосомы, окислительного стресса и эндотелиальной дисфункции, с риском развития первичной открытоугольной глаукомы.

На первом этапе выполнено исследование локальной экспрессии генов, кодирующих белки инфламмосомного комплекса в экспериментальной модели дегенерации сетчатки на кроликах. Наблюдалось сохранение локального ответа со стороны изучаемых компонентов NLRP3: высокая экспрессионная активность генов белков (NLRP3 и CASP-1) определялась во всех ТК сетчатки/ППЭ опытных глаз, участвующих в эксперименте.

С целью понимания особенностей иммунитета на системном уровне на следующем этапе, были исследованы полиморфные маркеры генов *NLRP3* и *CASP1* в венозной крови пациентов с ПОУГ: были выявлены существенные различия в распределении аллелей и генотипов. Так, генотип *TC* и аллель *T* полиморфного маркера *rs7525979* гена *NLRP3* повышают риск развития ПОУГ в 2

и 3 раза соответственно, аллель *C* и генотип *CC* играют протективную роль. При этом гетерозиготный генотип увеличивает риск развития ПОУГ I стадии в 3 раза, II и III стадии в 2 раза, IV стадии – в 12 раз, аллель *T* увеличивает риск развития IV стадии в 9 раз. Аллель *T* полиморфного маркера *rs530537* гена *CASP1* также ассоциирован с развитием ПОУГ, увеличивая риск развития заболевания в 2 раза, генотип *CC* является протективным. Данные маркеры усугубляли тяжесть течения заболевания, что особенно выражалось на поздних стадиях. Полученные результаты являются уникальными и указывают на большую роль NLRP3 и CASP1 в иммуннопатогенезе нейровоспаления при ПОУГ.

Существующие представления о патогенезе ПОУГ свидетельствуют о взаимосвязи процессов воспаления с факторами окислительного стресса, эндотелиальной дисфункции, которые способствуют апоптозу ГКС и развитию нейродегенеративного процесса при данном заболевании. Дисбаланс между эндотелий-продуцируемыми вазоконстрикторами и вазодилататорами, основными из которых является эндотелин-1 и оксид азота, приводят к снижению уровня последнего в сочетании с гиперпродукцией эндотелина-1, следствием чего является развитие и прогрессирование ряда заболеваний органа зрения, в том числе глаукоматозной атрофии зрительного нерва [42].

Поскольку оксид азота продуцируется эндотелиальной NO-синтазой (*eNOS*), в проведенной работе была изучена связь полиморфных маркеров гена *eNOS* с патогенезом нейродегенеративных изменений при ПОУГ.

На основании полученных данных обнаружено, что ассоциация полиморфизма в гене *eNOS* с риском развития ПОУГ была выявлена только у полиморфного маркера *T786C*, в то время как по полиморфным локусам *C774T* (*rs1549758*), *Glu298Asp* (*rs 1799983*) достоверных данным получено не было. Так, гомозиготный генотип *TT* повышает риск развития ПОУГ в 2 раза, риск развития I стадии – в 2 раз, а II стадии- в 1,8 раза. Аллель *C* и гетерозиготный генотип, наоборот, играют протективную роль, а аллель *C* достоверно еще и для пациентов с I и II стадиями ПОУГ.

Кроме исследования связи между однонуклеотидными полиморфизмами гена *eNOS* и ПОУГ, был проведен анализ гаплотипов. Было выявлено, что гаплотипы *TCTC* (*rs 2070744 T786C/rs 1549758 C774T*) и *TCTT* (*rs 2070744 T786C/rs1799983 Glu 298Asp*) играли протективную роль для пациентов с ПОУГ. В дальнейшем показано, что риск развития ПОУГ увеличивался в 2 раза при наличии гаплотипа *TTTTTT* (*rs 2070744 T786C/rs 1549758 C774T/rs 1799983 Glu 298Asp*), при этом увеличивая риск развития II стадии заболевания в 4 раза, а гаплотип *TTTCCS*, наоборот, играл протективную роль для той же стадии заболевания. При сравнении групп пациентов с первой и третьей стадией ПОУГ было показано, что гаплотип *TTTTCC* у пациентов с ПОУГ I стадии наблюдался чаще. При сравнении групп пациентов со второй и третьей стадиями ПОУГ было выявлено, что гаплотип *TTTTTT* чаще наблюдался при II стадии, при этом гаплотип *TCTCTC* у пациентов с III стадией. При сравнении групп пациентов со второй и четвертой стадиями ПОУГ показано, что гаплотип *CCCTCTC* встречался только у пациентов в IV стадией ПОУГ.

Таким образом, при исследовании ассоциации полиморфных маркеров *T786C* (*rs 2070744*), *C774T* (*rs1549758*), *Glu 298Asp* (*rs 1799983*) гена *eNOS* наиболее значимым в развитии ПОУГ полиморфным маркером является *T786C* (*rs 2070744*), остальные маркеры достоверное влияние оказывали при образовании гаплотипов.

Данные, полученные в проведенной работе, отличаются от ранее представленных исследований. Altaf A Kondkar в 2020 г. показали отсутствие достоверных различий частоты встречаемости генотипов и аллелей *T786C* (*rs2070744*) в гене *eNOS* у пациентов с ПОУГ, проживающих в Саудовской Аравии, и контрольной группой [44]. Jae Hee Kang в 2010 г. продемонстрировали протективную роль генотипа *TT* того же полиморфного маркера среди женщин европейской популяции [77]. А в исследовании Wafaa A Emam в 2014 г. в популяции египтян обнаружено, что аллель *C* и генотип *CC* ассоциированы с риском развития ПОУГ, однако также, как и в нашем исследовании, показано отсутствие связи между полиморфным маркером *Glu298Asp* в гене *eNOS* с развитием глаукомы [78]. Таким образом, можно предположить, что распределение частот аллелей и

генотипов полиморфных маркеров *T786C (rs 2070744)*, *Glu 298Asp (rs 1799983)* гена *eNOS* при ПОУГ изменчиво в зависимости от этнической принадлежности. Данные, представленные в проведенной работе, о взаимосвязи полиморфного маркера *C774T (rs1549758)* гена *eNOS* с изучаемой патологией уникальны, в отечественной и зарубежной литературе не представлены.

В настоящее время обсуждается патогенетическая роль эндотелина и его рецепторов при глаукоме [55].

В проведенном исследовании было выявлено, что гомозиготный генотип GG полиморфного маркера *rs 5351* в гене *EDNRB* увеличивает риск развития ПОУГ в 2 раза, при этом ПОУГ I, II и III стадий в 2 раза, IV стадии – в 7 раз, а гетерозиготный генотип GA и аллель A играют протективную роль, при этом достоверно для всех стадий заболевания.

При анализе групп пациентов с ПОУГ с I и IV стадиями было показано, что аллель A чаще встречается при I стадии, гомозиготный генотип GG при IV стадии. Анализ распределения генотипов среди пациентов с ПОУГ II и III стадиями, а также ПОУГ II и IV стадиями показал, что генотип GA чаще встречается в группе пациентов с II стадией.

В литературе описаны различные данные о влиянии эндотелина-1 и его рецепторов на регуляцию внутриглазного давления и тонуса сосудов глаза. В большинстве работ обсуждается связь полиморфизма генов *ET-1 (EDN1)* и рецептора эндотелина тип A (*EDNRA*), в меньшей степени рецептора эндотелина тип B [190]. В проведенной работе впервые обнаружены доказательства ассоциации полиморфного маркера *rs 5351* в гене *EDNRB* с риском развития ПОУГ.

Таким образом, в настоящей работе представлены фундаментальные положения современного понимания иммунопатогенеза глаукомной нейрооптикопатии. А именно: 1) связь иммунопатогенеза ПОУГ с воспалительными процессами, в развитии которых участвуют факторы врожденного иммунитета; 2) взаимообуславливающего влияния одного из типов инфламмосомы, как медиатора воспаления в иммунной системе глаза, и факторов, участвующих в процессе окислительного стресса и эндотелиальной дисфункции

при глаукоме; 3) взаимосвязь между полиморфными маркерами *rs 7525979* гена *NLRP3*, *rs 530537* гена *CASP1*, *rs 2070744 T786C*, *rs 1549758 C774T*, *rs 1799983 Glu 298Asp* гена *eNOS*, *rs 5351* гена *EDNRB* с тяжестью ПОУГ.

Полученные в работе данные могут использоваться в дальнейшем в качестве прогностических маркеров при ПОУГ, а также для ранней диагностики развития различных стадии заболевания. Кроме этого, результаты исследования могут быть теоретической основой в вопросах фармакотерапии глаукомы. Данные представлены в Приложении Ж.

В перспективе планируется продолжить поиск предиктивных маркеров ПОУГ для расширения диагностической панели прогнозирования данного заболевания.

## ВЫВОДЫ

1. В экспериментальной модели дегенерации сетчатки на кроликах уровень экспрессии *NLRP3* в ТК экспериментальных животных с дегенерацией сетчатки был в 2 раза выше, чем таковой в норме; ни в одном из исследуемых образцов здоровой сетчатки не обнаружено экспрессии гена *CASP1*, в отличие от материала экспериментальных животных.

2. У пациентов с ПОУГ выявлено, что аллель *T*, гетерозигота *TC* полиморфного маркера *rs7525979* гена *NLRP3* были ассоциированы с ПОУГ, увеличивая риск развития патологии в 3 и 2 раза соответственно; аллель *C* играет протективную роль для глаукомы на начальных стадиях, генотип *CC* – на всех стадиях ПОУГ. Аллель *T* полиморфного маркера *rs530537* гена *CASP1* увеличивает риск развития ПОУГ в 2 раза, усугубляя тяжесть течения заболевания, генотип *CC* играет протективную на всех стадиях патологии.

3. Обнаружена ассоциация гаплотипа *TTTTTT* и генотипа *TT* (полиморфного маркера *T786C (rs 2070744)*) гена *eNOS* с развитием ПОУГ, преимущественно на ранних стадиях заболевания. «Протективными» маркерами определены аллель *C* (чаще при I и II стадиях) и гетерозиготный генотип *TC*, а также гаплотипы *TCTC* (маркеров *T786C* и *C774T*), *TCTT* (маркеров *T786C* и *Glu298Asp*), *TTTCCC* гена *eNOS*.

4. Показано, что генотип *GG* (полиморфного маркера *rs 5351* гена *EDNRB*) ассоциирован с риском развития ПОУГ, увеличивал риск развития патологии в 2 раза, способствуя прогрессированию заболевания, «протективными» маркерами ПОУГ, при всех стадиях, являются аллель *A* и генотип *GA*.

5. Разработана прогностическая панель маркеров в генах эндогенных медиаторов врожденного иммунитета (*NLRP3*, *CASP1*, *eNOS*, *EDNRB*), ассоциированных с развитием или с отсутствием риска развития первичной открытоугольной глаукомы, в том числе в зависимости от тяжести заболевания.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для выявления риска развития ПОУГ рекомендуется проводить оценку генетических маркеров (*NLRP3*, *CASP1*, *eNOS*, *EDNRB*).
2. Важными прогностическими маркерами тяжелого течения заболевания являются определение аллеля *T* и гетерозиготного генотипа *TC* (полиморфного маркера *rs7525979* гена *NLRP3*), генотипа *GG* (полиморфного маркера *rs 5351* гена *EDNRB*).
3. Дополнительными предикторами развития ПОУГ является определение гаплотипа *TTTTTT* и генотипа *TT* (полиморфного маркера *T786C (rs 2070744)*) гена *eNOS*, ассоциированных с развитием начальных стадий заболевания.

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ**

АГ – антиген

АТФ – аденозинтрифосфат

АФК – активные формы кислорода

ВВ – водянистая влага

ВГД – внутриглазное давление

ВГЖ – внутриглазная жидкость

ВОЗ – Всемирная Организация Здравоохранения

ГАМК – гамма-аминомасляная кислота

ГЗН – головка зрительного нерва

ГЗТ – гиперчувствительность замедленного типа

ГКС – ганглиозные клетки сетчатки

ГНД – глаукома нормального давления

ГОб – гематоофтальмический барьер

ГОН – глаукомная нейрооптикопатия

ГРБ – гематоретинальный барьер

ДЗН – диск зрительного нерва

ДИ – доверительный интервал

Е2 – простагландин

ЗН – зрительный нерв

ИКК – иммунокомпетентные клетки

ИП – иммунная привилегия

НПГ – нейродегенеративная патология глаз

ПЗУГ – первичная закрытоугольная глаукома

ПК – передняя камера

ПОУГ – первичная открытоугольная глаукома

РПЭ – ретинальный пигментный эпителий

СРП – субретинальное пространство

СТ – стекловидное тело

ТК сетчатки/РПЭ – тканевой комплекс сетчатки и ретинальный пигментный эпителий

ТС – трабекулярная сеть

УПК – угол передней камеры

АСАИД – феномен «иммунного отклонения», связанного с ПК глаза

AGE – конечные продукты повышенного гликирования

AIM2 – белок, участвующий в регуляции иммунного ответа

ANP – предсердный натрийуретический пептид

АПК – антигенпредставляющие клетки

Ca<sup>2+</sup> – внеклеточный кальций

CASP1 – каспаза 1

CTLA-2 $\alpha$  – цитотоксический Т-лимфоцитарный антиген-2 $\alpha$

DAMP – молекулярные паттерны, связанные с повреждением

eNOS – эндотелиальная синтаза оксида азота

ET-1 – эндотелин-1

FasL – Fas-лиганд

Fractalkine/CX3CL1 – фракталкин

GSDM – газдермин

HIF-1 $\alpha$  – фактор, индуцируемый гипоксией 1-альфа

HMGB1 – алармин

HSP – белки теплового шока

MHC – главный комплекс гистосовместимости

MMP – матриксная металлопротеиназа

NF- $\kappa$ B – редокс-чувствительный фактор транскрипции

NGF – фактор роста нервов

NLR – нод-подобные рецепторы

NO – оксид азота

P2X7R – пуриnergический рецептор

PAMP – патоген-ассоциированные молекулярные структуры

PGI<sub>2</sub> – простаглицлин

PRR – паттерн-распознающие рецепторы

RA – ретиноевая кислота

RAGE – рецепторы конечных белков гликирования

SOM – соматостатин

TGF- $\beta$  – трансформирующий фактор роста бета TGF $\beta$ 1, TGF $\beta$ 2

TLR – толл-подобные рецепторы

TNF- $\alpha$  – фактор некроза опухоли альфа

TSP-1 – тромбоспондин-1

VEGF – фактор роста эндотелия сосудов

$\alpha$ -MSH –  $\alpha$ -меланоцитстимулирующий гормон

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Ангелов, Б. Новая система для определения стадии структурных изменений при первичной открытоугольной глаукоме на основе морфометрического анализа диска зрительного нерва при Гейдельбергской ретинальной томографии II (версия 3.1.2) / Б. Ангелов, А. Тошев // Офтальмология. – 2015. – Т. 12, № 3. – С. 63-70.
2. Ассоциация полиморфизма гена eNOS с риском развития открытоугольной глаукомы / А.Р. Кинкулькина, А.С. Авагян // Санкт-Петербургские научные чтения – 2019. Тезисы VIII международного молодежного медицинского конгресса. – Санкт-Петербург, 2019. – С. 216-217.
3. Ассоциация полиморфизма гена eNOS с риском развития первичной открытоугольной глаукомы / О.А. Свитич, Т.В. Гаврилова, А.Р. Кинкулькина, А.С. Авагян // New Approaches in the Field of Microbiology, Virology and Immunology. Сборник тезисов молодых ученых в рамках международных студенческих школ Сеченовского Университета. – Москва, 2020. – С. 18.
4. Ассоциация полиморфизма гена NLRP3 с риском развития первичной открытоугольной глаукомы / О.А. Свитич, Т.В. Гаврилова, А.Р. Кинкулькина, А.С. Авагян // Сборник тезисов молодых ученых в рамках международной конференции, посвященной 300-летию РАН / Под ред. В.В. Зверева. – Москва, 2022. – С. 28.
5. 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.
6. Балацкая, Н.В. 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.
7. Влияние биомеханических свойств корнеосклеральной капсулы глаза на гидродинамику внутриглазной жидкости / Е.Н. Иомдина, О.А. Киселева, Л.А. Назаренко [и др.] // Биомедицина. – 2012. – Т. 1, № 3. – С. 25-30.

8. Глаукома первичная открытоугольная. Клинические рекомендации / Министерство здравоохранения РФ. – Москва, 2022. – 98 с.
9. Гуманова, Н.Г. Оксид азота, его циркулирующие метаболиты NO и их роль в функционировании человеческого организма и прогнозе риска сердечно-сосудистой смерти (часть I) / Н.Г. Гуманова // Профилактическая медицина. – 2021. – Т. 24, № 9 – С. 102–109.
10. Егоров, Е.А. Нейропротекция при глаукоме: современные возможности и перспективы / Е.А. Егоров, А.Ю. Брежнев, А.Е. Егоров // Клиническая офтальмология. – 2014. – № 2. – С. 108.
11. Заболеваемость населения по основным классам болезней // Росстат : [сайт]. – URL: <https://rosstat.gov.ru/folder/13721>. – Текст : электронный.
12. Заболеваемость населения по регионам РФ // Статприват : [сайт]. – URL: <https://statprivat.ru/zdo?r=5>. – Текст : электронный.
13. Загидуллина, А.Ш. О фенотипах первичной глаукомы / А.Ш. Загидуллина // Медицинский вестник Башкортостана. – 2015. – № 2 – С. 56.
14. Зуева, М.В. Динамика гибели ганглиозных клеток сетчатки при глаукоме и ее функциональные маркеры / М.В. Зуева // Национальный журнал. Глаукома. – 2016. – Т. 15, № 1. – С. 70-85.
15. 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.
16. Исследование ассоциации аллелей и генотипов полиморфного маркера T786C гена eNOS при различных стадиях первичной открытоугольной глаукомы / Т.В. Гаврилова, А.Р. Кинкулькина, А.С. Авагян, О.А. Свитич // Российский офтальмологический журнал. – 2024. – Т. 17. – №. 1. – С. 28-31.
17. Клинические рекомендации / Министерство здравоохранения РФ. – Москва, 2024. – 84 с.
18. Корреляционный анализ морфофункциональных и иммунологических параметров у пациентов с продвинутыми стадиями первичной открытоугольной

глаукомы / В.И. Котелин, М.В. Зуева, Н.В. Балацкая [и др.] // Национальный журнал глаукома. – 2022. – Т. 21, № 4. – С. 3-12.

19. Локальная и системная продукция 47 цитокинов у пациентов с продвинутыми стадиями первичной открытоугольной глаукомы / Н.В. Балацкая, С.Ю. Петров, В.И. Котелин [и др.] // Современные проблемы науки и образования. – 2021. – № 3. – С. 159.

20. Механизмы иммунорегуляции и трансплантационный иммунитет при пересадках роговицы / В.В. Нероев, Н.В. Балацкая, Е.В. Ченцова, Х.М. Шамхалова // Медицинская иммунология. – 2020. – Т. 22, № 1. – С. 61-76.

21. Особенности локальной экспрессии мРНК, IL-1  $\beta$ , IL-18, CCL2/MCP-1 при моделировании атрофии пигментного эпителия и дегенерации сетчатки в эксперименте на кроликах / ВВ Нероев, НВ Балацкая, ЕВ Светлова [и др.] // Молекулярная медицина. – 2021. – Т. 19, № 2. – С. 54-62.

22. 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 [и др.] // Национальный журнал глаукома. – 2016. – Т. 15, № 1. – С. 3-12.

23. Первичная инвалидность взрослого населения Российской Федерации за период 2019 – 2021 гг. (информационно-аналитический материал) / М.А. Дымочка, Н.Б. Веригина, Д.А. Турченкова [и др.] // Медико-социальные проблемы инвалидности. – 2022. – № 2. – С. 8-19.

24. Региональный регистр пациентов с глаукомой. Методологические аспекты построения, возможности использования в клинической практике / Т.Н. Малишевская, С.М. Косакян, Д.Б. Егоров [и др.] // Российский офтальмологический журнал. – 2020. – Т. 13, № 4 – С. 7-35.

25. Репринцев, А.В. Сравнительный анализ распространенности глаукомы в ряде регионов России / А.В. Репринцев, В.Н. Рыжаева // Актуальные проблемы гуманитарных и естественных наук. – 2019. – № 6. – С. 189-192.

26. Роль NLRP3 в иммунопатогенезе нейродегенеративных заболеваний глаз / Н.В. Балацкая, Т.В. Гаврилова, А.Р. Кинкулькина [и др.] // Российский иммунологический журнал. – 2023. – Т. 26, № 4. – С. 485-490.
27. 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.
28. 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.
29. Роль факторов инфламмосомного комплекса (NLRP3 и CASP-1) в иммунопатогенезе первичной открытоугольной глаукомы / О.А. Свитич, Т.В. Гаврилова, А.Р. Кинкулькина, А.С. Авагян // Научно-практической конференции с международным участием «XVII Российский общенациональный офтальмологический форум» (РООФ 2024). Сборник научных трудов. – Москва, 2024. – Т. 2. – С. 541-543.
30. Своевременная диагностика и влияние приверженности лечению на прогноз и прогрессирование глаукомной оптической нейропатии / С.В. Диордийчук, А.В. Куроедов, Н.Е. Фомин [и др.] // РМЖ. Клиническая офтальмология. – 2021. – Т. 21, № 1. – С. 34-39.
31. Структурно-функциональные корреляции в препериметрической и начальной стадиях глаукомной оптической нейропатии / М.О. Кириллова, А.Н. Журавлева, М.В. Зуева [и др.] // Российский офтальмологический журнал. – 2021. – Т. 14, № 2. – С. 14-22.
32. Структурно-функциональные корреляции у пациентов с продвинутыми стадиями первичной открытоугольной глаукомы / В.И. Котелин, С.Ю. Петров, А.И. Журавлева [и др.] // Офтальмология. – 2021. – Т. 18, № 2. – С. 266-275.
33. Тикунова, Е.В. Молекулярные основы этиопатогенеза первичной открытоугольной глаукомы / Е.В. Тикунова // Научные ведомости. Серия: Медицина. Фармация. – 2013. – № 11 – С. 154.

34. Электрофизиологические маркеры развитых стадий глаукомной оптической нейропатии / В.И. Котелин, М.В. Зуева, И.В. Цапенко [и др.] // Российский офтальмологический журнал. – 2021. – Т. 14, № 3. – С. 19-24.
35. Эпидемиологический анализ заболеваемости и распространенности первичной открытоугольной глаукомы в Российской Федерации / А.Б. Мовсисян, А.В. Куроедов, М.А. Архаров [и др.] // РМЖ. Клиническая офтальмология. – 2022. – Т. 22, № 1 – С. 3-10.
36. Эпидемиология глаукомы в Российской Федерации / В.В. Нероев, Л.А. Михайлова, Т.Н. Малишевская [и др.] // Российский офтальмологический журнал. – 2024. – Т. 17, № 3. – С. 7-12.
37. Activation of the NLRP3 inflammasome by islet amyloid polypeptide provides a mechanism for enhanced IL-1beta in type 2 diabetes / S.L. Masters, A. Dunne, S.L. Subramanian [et al.] // Nat. Immunol. – 2010. – Vol. 11(10). – P. 897-904.
38. 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.
39. Advances in Biodegradable Nano-Sized Polymer-Based Ocular Drug Delivery / C. Lynch, P.P.D. Kondiah, Y.E. Choonara [et al.] // Polymers (Basel). – 2019. – Vol. 11(8). – P. 1371.
40. Analysis of the relationship between VEGF, NLRP3 inflammatory complex, EPO levels, and ocular hemodynamics in patients with primary open-angle glaucoma / Q. Zhang, L. Gu, Y. Xu [et al.] // BMC Ophthalmol. – 2024. – Vol. 24(1). – P. 331.
41. Anterograde transport blockade precedes deficits in retrograde transport in the visual projection of the DBA/2J mouse model of glaucoma / C.M. Dengler-Crish, M.A. Smith, D.M. Inman [et al.] // Front Neurosci. – 2014. – Vol. 8. – P. 290.
42. Association between glaucoma and gene polymorphism of endothelin type A receptor / K. Ishikawa, T. Funayama, Y. Ohtake [et al.] // Mol. Vis. – 2005. – Vol. 11. – P. 431-437.
43. Association of Common Variants in eNOS Gene with Primary Open Angle Glaucoma: A Meta-Analysis / Y. Xiang, Y. Dong, X. Li [et al.] // J. Ophthalmol. – 2016. – P. 1348.

44. Association of endothelial nitric oxide synthase (NOS3) gene polymorphisms with primary open-angle glaucoma in a Saudi cohort / A.A. Kondkar, T.A. Azad, T. Sultan [et al.] // *PLoS One*. – 2020. – Vol. 15(1). – P. e0227.
45. Association of eNOS and HSP70 gene polymorphisms with glaucoma in Pakistani cohorts / H. Ayub, M.I. Khan, S. Micheal [et al.] // *Mol. Vis.* – 2010. – Vol. 16. – P. 18-25.
46. Association of GNB3, ACE polymorphisms with POAG and NTG / A.N. Samoylov, P. Tumanova, S.A. Pankratova [et al.] // *Ophthalmic Genetics*. – 2023. – Vol. 45(1). – P. 23-27.
47. Association of High-Mobility Group Box-1 with Inflammation-Related Cytokines in the Aqueous Humor with Acute Primary Angle-Closure eyes / W. He, F. Xu, L. Chen [et al.] // *Curr Mol Med*. – 2020. – Vol. 20. – P. 107.
48. Association of polymorphisms of endothelial nitric oxide synthase (eNOS) gene with the risk of primary open angle glaucoma in a Brazilian population / T. Magalhães da Silva, A.V. Rocha, R. Lacchini [et al.] // *Gene*. – 2012. – Vol. 502(2). – P. 142-146.
49. Association of VEGF Gene Polymorphism (rs699947) with Glaucoma and In-Silico Study of Antiglaucoma Bioactive Compounds / N. Hussain, F. Sher, X. Lin [et al.] // *Appl. Biochem. Biotechnol.* – 2022. – Vol. 194(11). – P. 5185-5195.
50. Association of the eNOS gene polymorphism with the risk of open-angle glaucoma development / O.A. Svitich, T. Gavrilova, A. Kinkulkina [et al.] // *Allergy*. – 2020. – Vol. 75(109). – P. 342.
51. Autoimmunity and glaucoma / F.H. Grus, S.C. Joachim, D. Wuenschig [et al.] // *J. Glaucoma*. – 2008. – Vol. 17(1). – P. 79-84.
52. Bacterial RNA and small antiviral compounds activate caspase-1 through cryopyrin/Nalp3 / T.D. Kanneganti, N. Ozoren, M. Body-Malapel [et al.] // *Nature*. – 2006. – Vol. 440(7081). – P. 233-236.
53. Barile, G.R. RAGE and its ligands in retinal disease / G.R. Barile, A.M. Schmidt // *Curr. Mol. Med*. – 2007. – Vol. 7(8). – P. 758-765.

54. 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. – P. 44.
55. Biomarkers for primary open-angle glaucoma progression / M. Zhao, P. Ma, Q. Xie [et al.] // *Exp. Eye Res.* – 2022. – Vol. 219. – P. 109.
56. Caspase-8 promotes NLRP1/NLRP3 inflammasome activation and IL-1 $\beta$  production in acute glaucoma / W. Chi, F. Li, H. Chen [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* – 2014. – Vol. 111(30). – P. 11181-11186.
57. 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.
58. Chen, M. Spotlight on pyroptosis: role in pathogenesis and therapeutic potential of ocular diseases / M. Chen, R. Rong, X. Xia // *J. Neuroinflammation*. – 2022. – Vol. 19(1). – P. 183.
59. Chronic Proinflammatory Signaling Accelerates the Rate of Degeneration in a Spontaneous Polygenic Model of Inherited Retinal Dystrophy / T.J. Hollingsworth, X. Wang, W.A. White [et al.] // *Front. Pharmacol.* – 2022. – Vol. 13. – P. 839424.
60. Coca-Prados, M. The blood-aqueous barrier in health and disease / M. Coca-Prados // *J. Glaucoma*. – 2014. – Vol. 23. – P. S36-S38.
61. Cooper, M.L. Astrocyte remodeling without gliosis precedes optic nerve axonopathy / M.L. Cooper, J.W. Collyer, D.J. Calkins // *Acta Neuropathol. Commun.* – 2018. – Vol. 6. – P. 38.
62. Cordeiro, M.F. Clinical evidence for neuroprotection in glaucoma / M.F. Cordeiro, L.A. Levin // *Am. J. Ophthalmol.* – 2011. – Vol. 152(5). – P. 715-716.
63. Cunha-Vaz, J. The blood-retinal barrier in the management of retinal disease: EURETINA award lecture / J. Cunha-Vaz // *Ophthalmologica*. – 2017. – Vol. 237. – P. 1-10.
64. Current concepts in the pathophysiology of glaucoma / R. Agarwal, S.K. Gupta, P. Agarwal, R. Saxena [et al.] // *Indian J Ophthalmol.* – 2009. – Vol. 57(4). – P. 257-266.

65. Cystathionine  $\beta$ -Synthase Suppresses NLRP3 Inflammasome Activation via Redox Regulation in Microglia / Y.J. Mou, Y.T. Ma, X. Yuan [et al.] // *Antioxid. Redox Signal.* – 2023. – Vol. 5. – P. 745.
66. Cytotoxic effect of interleukin-8 in retinal ganglion cells and its possible mechanisms / J.J. Wang, W. Williams, B. Wang [et al.] // *Int. J. Ophthalmol.* – 2018. – Vol. 11(8). – P. 1277-1283.
67. Damage-Associated Molecular Patterns (DAMPs) in Retinal Disorders / B. Mahaling, S.W.Y. Low, M. Beck [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2022. – Vol. 23(5). – P. 259.
68. Danger of frustrated sensors: Role of Toll-like receptors and NOD-like receptors in aseptic and septic inflammations around total hip replacements / M. Takagi, Y. Takakubo, J. Pajarinen [et al.] // *J. Orthop. Translat.* – 2017. – Vol. 10. – P. 68-85.
69. Decreased TNF Levels and Improved Retinal Ganglion Cell Survival in MMP-2 Null Mice Suggest a Role for MMP-2 as TNF Sheddase / L. De Groef, M. Salinas-Navarro, G. Van Imschoot [et al.] // *Mediators Inflamm.* – 2015. – Vol. 2015. – P. 108617.
70. Diet, Oxidative Stress, and Blood Serum Nutrients in Various Types of Glaucoma: A Systematic Review / M. Młynarczyk, M. Falkowska, Z. Micun [et al.] // *Nutrients.* – 2022. – Vol. 14(7). – P. 1421.
71. Duarte, J.N. Neuroinflammatory Mechanisms of Mitochondrial Dysfunction and Neurodegeneration in Glaucoma / J.N. Duarte // *J. Ophthalmol.* – 2021. – Vol. 2021. – P. 4581.
72. Early astrocyte redistribution in the optic nerve precedes axonopathy in the DBA/2J mouse model of glaucoma / M.L. Cooper, S.D. Crish, D.M. Inman [et al.] // *Exp. Eye Res.* – 2016. – Vol. 150. – P. 22-33.
73. Editorial: Retinal Immunobiology and Retinopathy / D.J. Lee, H. Xu, A.W. Taylor [et al.] // *Front. Immunol.* – 2021. – Vol. 12. – P. 758375.
74. Effect of SNP polymorphisms of EDN1, EDNRA, and EDNRB gene on ischemic stroke / L. Zhang, R. Sui [et al.] // *Cell Biochem Biophys.* – 2014. – Vol. 70(1). – P. 233-239.

75. Endogenous dual stimuli-activated NO generation in the conventional outflow pathway for precision glaucoma therapy / W. Fan, M. Song, L. Li [et al.] // *Biomaterials*. – 2021. – Vol. 277. – P. 1210.
76. Endosomal disentanglement of a transducible artificial transcription factor targeting endothelin receptor A / C.C. Bippes, C. Kohler, E. Garcia-Tirado [et al.] // *Mol. Ther.* – 2022. – Vol. 30(2). – P. 855-867.
77. Endothelial nitric oxide synthase gene variants and primary open-angle glaucoma: interactions with sex and postmenopausal hormone use / J.H. Kang, J.L. Wiggs, B.A. Rosner [et al.] // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 2010. – Vol. 51(2). – P. 971-979.
78. Endothelial nitric oxide synthase polymorphisms and susceptibility to high-tension primary open-angle glaucoma in an Egyptian cohort / W.A. Emam, H.E. Zidan, B.E. Abdulhalim [et al.] // *Mol. Vis.* – 2014. – Vol. 20. – P. 804-811.
79. 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.
80. Expression of Toll-like receptors in human retinal and choroidal vascular endothelial cells / E.A. Stewart, R. Wei, M.J. Branch [et al.] // *Exp. Eye Res.* – 2015. – Vol. 138. – P. 114-123.
81. Forrester, J.V. Good news-bad news: the Yin and Yang of immune privilege in the eye / J.V. Forrester, H. Xu // *Front. Immunol.* – 2012. – Vol. 3. – P. 338.
82. From DNA damage to functional changes of the trabecular meshwork in aging and glaucoma / S.C. Saccà, S. Gandolfi, A. Bagnis [et al.] // *Ageing Res Rev.* – 2016. – Vol. 29. – P. 26-41.
83. Fuchshofer, R. The pathogenic role of transforming growth factor-beta2 in glaucomatous damage to the optic nerve head / R. Fuchshofer // *Exp. Eye Res.* – 2011. – Vol. 93(2). – P. 165-169.
84. Genetics of primary open-angle glaucoma and its endophenotypes / Y. Sakurada, F. Mabuchi, K. Kashiwagi [et al.] // *Prog. Brain Res.* – 2020. – Vol. 256(1). – P. 31-47.
85. Glaucoma as a Neurodegenerative and Inflammatory Disease / V. Prokosch, P. Li, X. Shi [et al.] // *Klin. Monbl. Augenheilkd.* – 2023. – Vol. 240(2). – P. 125-129.

86. Glial Cell Activation and Immune Responses in Glaucoma: A Systematic Review of Human Postmortem Studies of the Retina and Optic Nerve / A. Salkar, R.V. Wall, D. Basavarajappa [et al.] // *Aging Dis.* – 2024. – Vol. 15(5). – P. 2069-2083.
87. 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.
88. Gout-associated uric acid crystals activate the NALP3 inflammasome / F. Martinon, V. Petrilli, A. Mayor [et al.] // *Nature.* – 2006. – Vol. 440(7081). – P. 237-241.
89. GSDMD, an executor of pyroptosis, is involved in IL-1 $\beta$  secretion in *Aspergillus fumigatus* keratitis / W. Zhao, H. Yang, L. Lyu [et al.] // *Exp. Eye Res.* – 2021. – Vol. 202. – P. 108375.
90. Harris, H.E. HMGB1: a multifunctional alarmin driving autoimmune and inflammatory disease / H.E. Harris, U. Andersson, D.S. Pisetsky // *Nat. Rev. Rheumatol.* – 2012. – Vol. 8(4). – P. 195-202.
91. Hayashi, K.G. Placental expression and localization of endothelin-1 system and nitric oxide synthases during bovine pregnancy / K.G. Hayashi, M. Hosoe, T. Takahashi // *Anim. Reprod. Sci.* – 2012. – Vol. 134(3-4). – P. 150-157.
92. High glucose induces the loss of retinal pericytes partly via NLRP3-caspase-1-GSDMD-mediated pyroptosis / J. Gan, M. Huang, G. Lan [et al.] // *Biomed. Res. Int.* – 2020. – Vol. 2020. – P. 4510628.
93. Hsp27 phosphorylation in experimental glaucoma / W. Huang, J.B. Fileta, T. Filippopoulos [et al.] // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 2007. – Vol. 48(9). – P. 4129-4135.
94. Hypoxia, oxidative stress and inflammation / T. McGarry, M. Biniecka, D.J. Veale, U. Fearon // *Free Radic. Biol. Med.* – 2018. – Vol. 125. – P. 15-24.
95. Identification of Th2-type suppressor T cells among in vivo expanded ocular T cells in mice with experimental autoimmune uveoretinitis / H. Keino, M. Takeuchi, J. Suzuki [et al.] // *Clin. Exp. Immunol.* – 2001. – Vol. 124(1). – P. 1-8.

96. Immune privilege is extended, then withdrawn, from allogeneic tumor cell grafts placed in the subretinal space / H. Wenkel, P.W. Chen, B.R. Ksander, J.W. Streilein // *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 1999. – Vol. 40. – P. 3202-3208.
97. Role of Heat Shock Proteins in Glaucoma / T. Tsai, P. Grotegut, S. Reinehr, S.C. Joachim // *Int. J. Mol. Sci.* – 2019. – Vol. 20(20). – P. 5160.
98. Immune Responses in the Glaucomatous Retina: Regulation and Dynamics / V.I. Shestopalov, M. Spurlock, O.W. Gramlich [et al.] // *Cells.* – 2021. – Vol. 10(8). – P. 1973.
99. Inflammation in glaucoma: From the back to the front of the eye, and beyond / C. Baudouin, M. Kolko, S. Melik-Parsadaniantz [et al.] // *Prog Retin Eye Res.* – 2021. – Vol. 83. – P. 100916.
100. Innate immunity in the retina: Toll-like receptor (TLR) signaling in human retinal pigment epithelial cells / M.V. Kumar, C.N. Nagineni, M.S. Chin [et al.] // *J. Neuroimmunol.* – 2004. – Vol. 153(1-2). – P. 7-15.
101. Investigation of local expression of NLRP3 inflammasome complex genes in modeling retinal degeneration in vivo / N.V. Neroeva, O.A. Svitich, V.V. Neroev [et al.] // *Medical Immunology (Russia).* – 2023 – Vol. 25(3). – P. 631-636.
102. Janeway, C.A. Innate immune recognition / C.A. Janeway, R. Medzhitov // *Annu. Rev. Immunol.* – 2002. – Vol. 20. – P. 197-216.
103. 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.
104. Kaushik, S. Neuroprotection in glaucoma / S. Kaushik, S.S. Pandav, J. Ram // *J Postgrad Med.* – 2003. – Vol. 49(1). – P. 90-95.
105. Kumar, A. Retinal Muller glia initiate innate response to infectious stimuli via toll-like receptor signaling / A. Kumar, N. Shamsuddin // *PLoS One.* – 2012. – Vol. 7(1). – P. e29830.
106. Kumar, H. Pathogen recognition in the innate immune response / H. Kumar, T. Kawai, S. Akira // *Biochem. J.* – 2009. – Vol. 420(1). – P. 1-16.
107. Langmann, T. Microglia activation in retinal degeneration / T. Langmann // *J Leukoc Biol.* – 2007. – Vol. 81(6). – P. 1345-1351.

108. Lau, C.H. The immune privileged retina mediates an alternative activation of J774A. 1 cells / C.H. Lau, A.W. Taylor // *Ocul. Immunol. Inflamm.* – 2009. – Vol. 17. – P. 380-389.
109. LMX1B Locus Associated with Low-Risk Baseline Glaucomatous Features in the POAAGG Study / E. Meer, V.L. Qin, H.V. Gudiseva [et al.] // *Genes (Basel)*. – 2021. – Vol. 12(8). – P. 1252.
110. Mackenzie, F. Diverse roles for VEGF-A in the nervous system / F. Mackenzie, C. Ruhrberg // *Development*. – 2012. – Vol. 139(8). – P. 1371-1380.
111. Margeta, M.A. CD163+ macrophages infiltrate axon bundles of postmortem optic nerves with glaucoma / M.A. Margeta, E.M. Lad, A.D. Proia // *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* – 2018. – Vol. 256(12). – P. 449-456.
112. Markers of Endothelial Dysfunction Are Attenuated by Resveratrol in Preeclampsia / T.O. Bueno-Pereira, M. Bertozzi-Matheus, G.M. Zampieri [et al.] // *Antioxidants (Basel)*. – 2022. – Vol. 11(11). – P. 2111.
113. Microglial activation in the visual pathway in experimental glaucoma: spatiotemporal characterization and correlation with axonal injury / A. Ebner, R.J. Casson, J.P. Wood [et al.] // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 2010. – Vol. 51(12). – P. 6448-6460.
114. Microglial activation in the visual pathway in experimental glaucoma: spatiotemporal characterization and correlation with axonal injury / A. Ebner, R.J. Casson, J.P. Wood, G. Chidlow // *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 2020. – Vol. 51(12). – P. 6448-6460.
115. Microglia-Mediated Neuroinflammation: A Potential Target for the Treatment of Cardiovascular Diseases / M. Wang, W. Pan, Y. Xu [et al.] // *J. Inflamm. Res.* – 2022. – Vol. 15. – P. 3083-309.
116. Mitochondrial damage in the trabecular meshwork of patients with glaucoma / A. Izzotti, S.C. Saccà, M. Longobardi, C. Cartiglia // *Arch. Ophthalmol.* – 2010. – Vol. 128. – P. 724-730.
117. Mochizuki, M. Immunological homeostasis of the eye / M. Mochizuki, S. Sugita, K. Kamoi // *Prog. Retin. Eye Res.* – 2013. – Vol. 33. – P. 10-27.

118. Molecular biomarkers in primary open-angle glaucoma: from noninvasive to invasive / L. Agnifili, D. Pieragostino, A. Mastropasqua [et al.] // *Prog Brain Res.* – 2015. – Vol. 221. – P. 1-32.
119. Molecular characteristics of HGF-SF and its role in cell motility and invasion / K.M. Weidner, G. Hartmann, L. Naldini, P.M. Comoglio // *EXS.* – 1993. – Vol. 65. – P. 311-328.
120. Molecular Genetics of Glaucoma: Subtype and Ethnicity Considerations / R. Zukerman, A. Harris, A.V. Vercellin [et al.] // *Genes.* – 2020. – Vol. 12(1). – P. 55.
121. Neuroimmune regulation of microglial activity involved in neuroinflammation and neurodegenerative diseases / H. Gonzalez, D. Elgueta, A. Montoya [et al.] // *J. Neuroimmunol.* – 2014. – Vol. 274(1-2). – P. 1-13.
122. 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.
123. Neurotoxic reactive astrocytes are induced by activated microglia / S.A. Liddelow, K.A. Guttenplan, L.E. Clarke [et al.] // *Nature.* – 2017. – Vol. 541(7638). – P. 481-487.
124. Nishida, T. Specific aqueous humor factors induce activation of regulatory T cells / T. Nishida, A.W. Taylor // *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 1999. – Vol. 40. – P. 2268-2274.
125. Nita, M. The Role of the Reactive Oxygen Species and Oxidative Stress in the Pathomechanism of the Age-Related Ocular Diseases and Other Pathologies of the Anterior and Posterior Eye Segments in Adults / M. Nita, A. Grzybowski // *Oxid. Med. Cell Longev.* – 2016. – Vol. 2016. – P. 3164734.
126. NLRP12- and NLRC4-mediated corneal epithelial pyroptosis is driven by GSDMD cleavage accompanied by IL-33 processing in dry eye / H. Chen, X. Gan, Y. Li, J. Gu, Y. Liu, Y. Deng [et al.] // *Ocul. Surf.* – 2020. – Vol. 18(4). – P. 783-794.
127. NLRP12 collaborates with NLRP3 and NLRC4 to promote pyroptosis inducing ganglion cell death of acute glaucoma / H. Chen, Y. Deng, X. Gan [et al.] // *Mol. Neurodegener.* – 2020. – Vol. 15(1). – P. 26.

128. NLRP3 Activation and Its Relationship to Endothelial Dysfunction and Oxidative Stress: Implications for Preeclampsia and Pharmacological Interventions / P.R. Nunes, S.V. Mattioli, V.C. Sandrim [et al.] // *Cells*. – 2021. – Vol. 10(11). – P. 2828.
129. NLRP3 inflammasomes are required for atherogenesis and activated by cholesterol crystals / P. Duewell, H. Kono, K.J. Rayner [et al.] // *Nature*. – 2010. – Vol. 464(7293). – P. 1357-1361.
130. Ocular Vascular Diseases: From Retinal Immune Privilege to Inflammation / X. Wang, T. Wang, E. Lam [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2023. – Vol. 24(15). – P. 12090.
131. Organization and Function of Astrocytes in Human Retina / J.M. Ramirez, A. Trivino, A.I. Ramirez [et al.] // *Understanding Glial Cells* / B. Castellano, B. Gonzalez, M. Nieto-Sampedro (eds). – Springer, Boston, MA, 1998. – P. 45-68.
132. Overexpression of METTL3 attenuates high-glucose induced RPE cell pyroptosis by regulating miR-25-3p/PTEN/Akt signaling cascade through DGCR8 / X. Zha, X. Xi, X. Fan [et al.] // *Aging*. – 2020. – Vol. 12(9). – P. 8137-8150.
133. Oxidative Stress and Hypoxia Modify Mitochondrial Homeostasis During Glaucoma / A.H. Jassim, Y. Fan, N. Pappenhagen [et al.] // *Antioxid. Redox Signal.* – 2021. – Vol. 35(16). – P. 1341-1357.
134. Park, D.Y. Cytokine and Growth Factor Analysis in Exfoliation Syndrome and Glaucoma / D.Y. Park, M. Kim, S.C. Cha // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 2021. – Vol. 62(15). – P. 6.
135. Pathological high intraocular pressure induces glial cell reactive proliferation contributing to neuroinflammation of the blood-retinal barrier via the NOX2/ET-1 axis-controlled ERK1/2 pathway / X. Shi, P. Li, M. Herb [et al.] // *Journal of neuroinflammation*. – 2024. – Vol. 21(1). – P. 105.
136. Photoreceptor cells constitutively express functional TLR4 / Z. Tu, J.A. Portillo, S. Howell [et al.] // *J. Neuroimmunol.* – 2011. – Vol. 230(1-2). – P. 183-187.
137. Pigment Dispersion Contributes to Ocular Immune Privilege in a DBA/2J Mouse Model of Pigmentary Glaucoma / Q. Li, L. Pu, S. Cheng [et al.] // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 2024. – Vol. 65(8). – P. 51.

138. Prasanna, G. Endothelin, astrocytes and glaucoma / G. Prasanna, R. Krishnamoorthy, T. Yorio // *Experimental eye research*. – 2011. – Vol. 93(2). – P. 170-177.
139. Primary open angle glaucoma genetics: The common variants and their clinical associations (Review) / A. Trivli, M.I. Zervou, G.N. Goulielmos [et al.] // *Mol. Med. Rep.* – 2020. – Vol. 22(2). – P. 1103-1110.
140. Proinflammatory cytokine profile differences between primary open-angle and pseudoexfoliative glaucoma / B. Vidal-Villegas, B. Burgos-Blasco, J.L. Santiago Alvarez [et al.] // *Ophthalmic Res.* – 2022. – Vol. 65(1). – P. 111-120.
141. Pyroptosis and its role in central nervous system disease / Y. Hu, B. Wang, S. Li, S. Yang // *J. Mol. Biol.* – 2021. – Vol. 434. – P. 167379.
142. Rajesh, A. Macrophages in close proximity to the vitreoretinal interface are potential biomarkers of inflammation during retinal vascular disease / A. Rajesh, S. Droho, J.A. Lavine // *J. Neuroinflamm.* – 2022. – Vol. 19. – P. 203.
143. Regulation of cellular senescence by extracellular matrix during chronic fibrotic diseases / K.E.C. Blokland, S.D. Pouwels, M. Schuliga [et al.] // *Clin. Sci. (Lond.)*. – 2020. – Vol. 134(20). – P. 2681-2706.
144. Risk Factors for Normal and High-Tension Glaucoma in Poland in Connection with Polymorphisms of the Endothelial Nitric Oxide Synthase Gene / E. Kosior-Jarecka, U. Łukasik, D. Wróbel-Dudzińska [et al.] // *PLoS One*. – 2016. – Vol. 11(1). – P. e0147.
145. Risk Factors in Normal-Tension Glaucoma and High-Tension Glaucoma in relation to Polymorphisms of Endothelin-1 Gene and Endothelin-1 Receptor Type A Gene / D. Wróbel-Dudzińska, E. Kosior-Jarecka, U. Łukasik [et al.] // *J. Ophthalmol.* – 2015. – Vol. 2015. – P. 368.
146. Sacca, S.C. The dysfunction of the trabecular meshwork during glaucoma course / S.C. Saccà, A. Pulliero, A. Izzotti // *J. Cell. Physiol.* – 2015. – Vol. 230. – P. 510-525.
147. Scavenger function of resident autofluorescent perivascular macrophages and their contribution to the maintenance of the blood-retinal barrier / L. Mendes-Jorge, D. Ramos, M. Luppó [et al.] // *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 2009. – Vol. 50. – P. 5997-6005.

148. Schallenberg, M. Hmgb-1 induces apoptosis in retinal ganglion cells and intraretinal inflammation by activation of TLR4 and cytokine release / M. Schallenberg, H. Melkonyan, S. Thanos // *Invest Ophthalmol Vis Sci.* – 2012. – Vol. 53(14). – P. 6315.
149. Sharma, D. The cell biology of inflammasomes: Mechanisms of inflammasome activation and regulation / D. Sharma, T.D. Kanneganti // *J. Cell Biol.* – 2016. – Vol. 213(6). – P. 617-629.
150. Sofroniew, M.V. Astrocytes: biology and pathology / M.V. Sofroniew, H.V. Vinters // *Acta Neuropathol.* – 2010. – Vol. 119(1). – P. 7-35.
151. Streilein, J.W. Ocular immune privilege: therapeutic opportunities from an experiment of nature / J.W. Streilein // *Nat. Rev. Immunol.* – 2003. – Vol. 3(11). – P. 879-889.
152. Substances of interest that support glaucoma therapy / S.C. Saccà, P. Corazza, S. Gandolfi [et al.] // *Nutrients.* – 2019. – Vol. 11, no. 2. – P. 239.
153. Sugita, S. Role of ocular pigment epithelial cells in immune privilege / S. Sugita // *Arch. Immunol. Ther. Exp.* – 2009. – Vol. 57. – P. 263-268.
154. T cell subsets and sIL-2R/IL-2 levels in patients with glaucoma / J. Yang, R.V. Patil, H. Yu [et al.] // *Am. J. Ophthalmol.* – 2001. – Vol. 131(4). – P. 421-426.
155. Takeuchi, O. Pattern recognition receptors and inflammation / O. Takeuchi, S. Akira // *Cell.* – 2010. – Vol. 140(6). – P. 805-820.
156. Tang, Y. Differential Roles of M1 and M2 Microglia in Neurodegenerative Diseases / Y. Tang, W. Le // *Mol Neurobiol.* – 2016. – Vol. 53(2). – P. 1181-1194.
157. Targeting inflammasomes and pyroptosis in retinal diseases-molecular mechanisms and future perspectives / Y. Sun, F. Li, Y. Liu [et al.] // *Prog. Retin. Eye Res.* – 2024. – Vol. 101. – P. 101263.
158. Targeting the NLRP3 Inflammasome in Glaucoma / S. Coyle, M.N. Khan, M. Chemaly [et al.] // *Biomolecules.* – 2021. – Vol. 11(8). – P. 1239.
159. Taylor, A.W. Negative regulators that mediate ocular immune privilege / A.W. Taylor, T.F. Ng // *J. Leukoc. Biol.* – 2018. – Vol. 103. – P. 1179-1187.

160. 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.
161. Terminology and guidelines for glaucoma. European Glaucoma Society. 3rd ed. – Editrice Dogma Srl., Savona, Italy, 2008. – 183 p.
162. Tezel, G. Accelerated aging in glaucoma: immunohistochemical assessment of advanced glycation end products in the human retina and optic nerve head / G. Tezel, C. Luo, X. Yang // *Invest Ophthalmol Vis Sci.* – 2007. – Vol. 48(3). – P. 1201-1211.
163. 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.
164. Tezel, G. The immune response in glaucoma: a perspective on the roles of oxidative stress / G. Tezel // *Exp Eye Res.* – 2011. – Vol. 93(2). – P. 178-186.
165. The C/A functional polymorphism of TGF- $\beta$ 2 gene (rs991967) in primary open angle glaucoma patients / V.M. Saleh, I.G. Auda, E.N. Ali [et al.] // *Mol. Biol. Rep.* – 2023. – Vol. 50(9). – P. 7197-7203.
166. The causal effect of oxidative stress on the risk of glaucoma / R. Shi, Y. Wu, H. Chen [et al.] // *Heliyon.* – 2024. – Vol. 10(3). – P. e24852.
167. The central role of the NLRP3 inflammasome pathway in the pathogenesis of age-related diseases in the eye and the brain / J.J. Maran, M.M. Adesina, C.R. Green [et al.] // *Ageing Res. Rev.* – 2023. – Vol. 88. – P. 101954.
168. The effect of ET1-CTGF mediated pathway on the accumulation of extracellular matrix in the trabecular meshwork and its contribution to the increase in IOP / J. Wang, Y. Rong, Y. Liu [et al.] // *Int. Ophthalmol.* – 2023. – Vol. 43(9). – P. 3297-3307.
169. The effects of glaucoma filtering surgery on anterior chamber-associated immune deviation and contribution of lymphatic drainage in rats / H. Lu, Q.J. Lu, T. Fu [et al.] // *Eye (Lond).* – 2009. – Vol. 23(1). – P. 215-221.

170. The expression of heat shock protein 27 in retinal ganglion and glial cells in a rat glaucoma model / G. Kalesnykas, M. Niittykoski, J. Rantala [et al.] // *Neuroscience*. – 2007. – Vol. 150(3). – P. 692-704.
171. The high-mobility group box-1 nuclear factor mediates retinal injury after ischemia reperfusion / G. Dvorianchikova, E. Hernandez, J. Grant [et al.] // *Invest Ophthalmol Vis Sci*. – 2011. – Vol. 52(10). – P. 7187-7194.
172. The Intertwined Roles of Oxidative Stress and Endoplasmic Reticulum Stress in Glaucoma / D.J. Hurley, C. Normile, M. Irnaten, C. O'Brien [et al.] // *Antioxidants (Basel)*. – 2022. – Vol. 11(5). – P. 886.
173. The outflow pathway: a tissue with morphological and functional unity / S.C. Sacca, S. Gandolfi, A. Bagnis [et al.] // *J. Cell. Physiol*. – 2016. – Vol. 231. – P. 1876-1893.
174. The P2X7 Receptor in Infection and Inflammation / F. Di Virgilio, D. Dal Ben, A.C. Sarti [et al.] // *Immunity*. – 2017. – Vol. 47(1). – P. 15-31.
175. The pro-inflammatory role of high-mobility group box 1 protein (HMGB-1) in photoreceptors and retinal explants exposed to elevated pressure / M.R. Bohm, M. Schallenberg, K. Brockhaus [et al.] // *Lab. Invest*. – 2016. – Vol. 96(4). – P. 409-427.
176. The Relation Between Endothelial Nitric Oxide Synthase Polymorphisms and Normal Tension Glaucoma / J.W. Jeoung, D.M. Kim, S. Oh [et al.] // *J. Glaucoma*. – 2017. – Vol. 26(11). – P. 1030-1035.
177. The Role of Microglia in Retinal Neurodegeneration: Alzheimer's Disease, Parkinson, and Glaucoma / A.I. Ramirez, R. de Hoz, E. Salobarra-Garcia [et al.] // *Front. Aging Neurosci*. – 2017. – Vol. 9. – P. 214.
178. The role of polymorphisms rs2070744 and rs1799983 eNOS gene in patients with POAG: a systematic review and meta-analysis / N. Salari, S. Bokaei, N. Farshchian [et al.] // *Int. Ophthalmol*. – 2021. – Vol. 41(8). – P. 2747-2763.
179. The role of TLR4 activation in photoreceptor mitochondrial oxidative stress / M.K. Ko, S. Saraswathy, J.G. Parikh [et al.] // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci*. – 2011. – Vol. 52(8). – P. 5824-5835.

180. The role of transforming growth factor beta in glaucoma and the therapeutic implications / M.A. Prendes, A. Harris, B.M. Wirostko [et al.] // *Br. J. Ophthalmol.* – 2013. – Vol. 97(6). – P. 680-686.
181. The vital role for nitric oxide in intraocular pressure homeostasis / E. Reina-Torres, M.L. De Ieso, L.R. Pasquale [et al.] // *Prog. Retin. Eye Res.* – 2021. – Vol. 83. – P. 100922.
182. Thrombospondin plays a vital role in the immune privilege of the eye / P. Zamiri, S. Masli, N. Kitaichi [et al.] // *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 2005. – Vol. 46. – P. 908-919.
183. T-Lymphocyte Subset Distribution and Activity in Patients With Glaucoma / X. Yang, Q. Zeng, E. Goktas [et al.] // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 2019. – Vol. 60(4). – P. 877-888.
184. Toll-like receptor expression and induction of type I and type III interferons in primary airway epithelial cells / I. Ioannidis, F. Ye, B. McNally [et al.] // *J. Virol.* – 2013. – Vol. 87(6). – P. 3261-3270.
185. Vascular derived endothelin receptor A controls endothelin-induced retinal ganglion cell death / O.J. Marola, G.R. Howell, R.T. Libby [et al.] // *Cell Death Discov.* – 2022. – Vol. 8(1). – P. 207.
186. Vascular endothelial growth factor-A is a survival factor for retinal neurons and a critical neuroprotectant during the adaptive response to ischemic injury / K. Nishijima, Y.S. Ng, L. Zhong, J. Bradley [et al.] // *Am. J. Pathol.* – 2007. – Vol. 171(1). – P. 53-67.
187. Vascular tone pathway polymorphisms in relation to primary open-angle glaucoma / J.H. Kang, S.J. Loomis, B.L. Yaspan [et al.] // *Eye (London, England).* – 2014. – Vol. 28(6). – P. 662-671.
188. VEGF-A is necessary and sufficient for retinal neuroprotection in models of experimental glaucoma / R.H. Foxton, A. Finkelstein, S. Vijay [et al.] // *Am. J. Pathol.* – 2013. – Vol. 182(4). – P. 1379-1390.
189. Vendomèle, J. Cellular and molecular mechanisms of Anterior Chamber-Associated Immune Deviation (ACAID): What we have learned from knockout mice / J. Vendomèle, Q. Khebizi, S. Fisson // *Front. Immunol.* – 2017. – Vol. 8. – P. 1686.

190. Waardenburg syndrome type 4 coexisting with open-angle glaucoma: a case report / L. Zhang, Y. Wan, N. Wang [et al.] // *J. Med. Case Rep.* – 2022. – Vol. 16(1). – P. 264.
191. Wang, G.H. Evaluation of heat shock protein (HSP-72) expression in retinal ganglion cells of rats with glaucoma / G.H. Wang, Y.Q. Xing // *Exp Ther Med.* – 2017. – Vol. 14(2). – P. 1577-1581.
192. Wiggs, J.L. Genetics of glaucoma / J.L. Wiggs, L.R. Pasquale // *Hum. Mol. Genet.* – 2017. – Vol. 26(R1). – P. R21-R27.
193. Williams, A. The role of NOD-like Receptors in shaping adaptive immunity / A. Williams, R.A. Flavell, S.C. Eisenbarth // *Curr. Opin. Immunol.* – 2010. – Vol. 22(1). – P. 34-40.
194. Wogonin prevents TLR4-NF- $\kappa$ B-mediated neuroinflammation and improves retinal ganglion cells survival in retina after optic nerve crush / Y. Xu, B. Yang, Y. Hu [et al.] // *Oncotarget.* – 2016. – Vol. 7(45). – P. 72503-72517.
195. Xu, J. The NLRP3 inflammasome: activation and regulation / J. Xu, G. Núñez // *Trends Biochem Sci.* – 2023. – Vol. 48(4). – P. 331-344.

## ПРИЛОЖЕНИЕ А

Таблица А.1 – Распределение частот аллелей по полиморфным маркерам *rs7525979* гена *NLRP3*, *rs530537* гена *CASP1*, *rs2070744 T786C* гена *eNOS*, *rs1549758 C774T* гена *eNOS*, *rs1799983 Glu 298Asp* гена *eNOS*

Генотип / Аллель	Группы		P-value	Отношение шансов (OR)	Доверительный интервал (CI)
	Группа сравнения	Основная группа			
Распределение генотипов/аллелей полиморфного маркера <i>rs7525979</i> гена <i>NLRP3</i>					
T	0,2	0,4*	p = 0,001	3,16	1,62-6,13
C	0,8	0,6	p = 0,56	0,8	0,45-1,43
TC	0,17	0,42*	p = 0,003	2,835	1,429-5,627
TT	0,01	0,06	p = 0,24	4,27	0,505 -36,015
CC	0,82	0,52*	p = 0,001	0,41	0,246-0,708
TC	0,44	0,34	p = 0,42	1,44	0,63-3,27
Распределение генотипов/ аллелей полиморфного маркера <i>rs530537</i> гена <i>CASP1</i>					
TC	0,44	0,34	p = 0,42	1,44	0,63-3,27
TT	0,33	0,21	p = 0,18	1,95	0,77 -4,92
CC	0,45	0,23*	p = 0,028	0,36	0,157-0,855
T	0,42	0,53*	p = 0,017	2,738	1,16-6,38
C	0,58	0,47	p = 0,266	0,54	0,21-1,37
Распределение генотипов/ аллелей полиморфного маркера <i>rs 2070744 T786C</i> гена <i>eNOS</i>					
TC	0,62	0,36*	p = 0,027	0,436	0,14 -0,853
TT	0,35	0,54*	p = 0,039	2,5	0,88 -5,257
CC	0,03	0,1	p = 0,359	4,216	0,45 -39,4
T	0,68	0,58	0,301	0,237	0,025-2,225
C	0,32	0,42*	p = 0,013	0,465	0,19-1,137
Распределение генотипов/ аллелей полиморфного маркера <i>rs 1549758 C774T</i> гена <i>eNOS</i>					
TC	0,42	0,38	p = 0,456	0,786	0,436-1,417
TT	0,49	0,53	p = 0,383	1,299	0,730-2,312
CC	0,08	0,09	p = 0,565	0,954	0,351-2,590
T	0,64	0,66	p = 0,54	0,921	0,331- 2,568
C	0,36	0,34	p = 0,35	0,857	0,483 - 1,522
Распределение генотипов/ аллелей полиморфного маркера <i>rs 1799983 Glu 298Asp</i> гена <i>eNOS</i>					
TC	0,39	0,40	0,552	0,995	0,560-1,770
TT	0,46	0,48	0,552	0,995	0,560-1,770
CC	0,14	0,12	0,544	0,951	0,397-2,279
T	0,62	0,63	p=0,9	1,051	0,439-2,520
C	0,38	0,37	p=0,883	0,920	0,517-1,636
Примечание: * p≤0,05.					

## ПРИЛОЖЕНИЕ Б

Таблица Б.1 – Распределение частот аллелей по полиморфным маркерам rs7525979 гена NLRP3, rs 530537 гена CASP1, rs 2070744 T786C гена eNOS, rs 1549758 C774T гена eNOS, rs 1799983 Glu 298Asp гена eNOS в зависимости от стадии ПОУГ

Генотип / Аллель	Основная группа, стадии ПОУГ				Группа сравнения	P-value	OR	CI
	I	II	III	IV				
Распределение генотипов / аллелей полиморфного маркера <i>rs7525979</i> гена <i>NLRP3</i>								
ТС	0,42*	0,32*	0,40*	0,73*	0,17	p(I/гр.сп.)<0,05	3,253	1,58-6,66
						p(II/гр.сп.)<0,05	2,182	1,013-4,69
						p(III/гр.сп.)<0,001	2,982	1,34-6,62
						p(IV/гр.сп.)<0,001	12,319	4,29-35,35
						p(I/IV)<0,05	0,264	0,10-0,67
ТТ	0,06	0,06	0,03	0,01	0,01	p(I/гр.сп., II/гр.сп., III/гр.сп., IV/гр.сп.)>0,05		
СС	0,52	0,61	0,57	0,26	0,82	p(I/гр.сп.)<0,0001	0,266	0,132-0,536
						p(II/гр.сп.)<0,05	0,378	0,180-0,794
						p(III/гр.сп.)<0,05	0,319	0,146-0,696
						p(IV/гр.сп.)<0,001	0,089	0,031-0,253
						p(I/IV)<0,05	2,991	1,168 – 7,507
						p(II/IV)<0,05	4,252	1,551 – 10,61
С	0,66*	0,71	0,69	0,58	0,84	p(I/гр.сп.)<0,0001	0,031	0,004-0,231
						p(II/гр.сп.)<0,0001	0,027	0,004-0,200
						p(III/гр.сп.)<0,001	0,038	0,005-0,288
						p(II/III)<0,0001	2,974	1,819-4,900
						p(III/IV)<0,05	0,1026	0,009531 - 0,6656

Продолжение Таблицы Б.1

						p(I/IV)<0,05	0,0847	0,008049 – 0,4896
Т	0,34	0,29	0,31	0,42	0,16	p(I/гр.ср.)<0,05	2,207	1,11-4,35
						p(I/IV)<0,0001	9,839	3,57- 27,05
						p(I/IV)<0,001	0,2243	0,09507- 0,5287
						p(II/IV)<0,001	0,1579	0,06366 – 0,3962
						p(III/IV)<0,001	0,2024	0,07773- 0,5376
Распределение генотипов / аллелей полиморфного маркера <i>rs530537</i> гена <i>CASPI</i>								
ТС	0,45	0,43	0,50	0,53	0,57	p(I/гр.ср., II/гр.ср., III/гр.ср., IV/гр.ср.)>0,05		
ТТ	0,21	0,34	0,28	0,28	0,29	p(I/гр.ср., II/гр.ср., III/гр.ср., IV/гр.ср.)>0,05		
						p(I/III)<0,05	3,955	1,499- 9,514
						p(I/IV)<0,05	3,906	1,330- 13,07
СС	0,34	0,23	0,22	0,20	0,14	p(I/гр.ср.)<0,05	0,366	0,157- 0,855
						p(II/гр.ср.)<0,05	0,353	0,143- 0,873
						p(III/гр.ср.)<0,05	0,309	0,113- 0,843
						p(IV/гр.ср.)<0,05	0,206	0,052- 0,818
С	0,59	0,47	0,49	0,48	0,47	p(I/гр.ср., II/гр.ср., III/гр.ср., IV/гр.ср.)>0,05		
Т	0,41	0,53	0,51	0,52	0,53	p(I/гр.ср.)<0,05	2,732	1,169- 6,383
						p(II/гр.ср.)<0,05	2,833	1,145- 7,009
						p(III/гр.ср.)<0,05	3,238	1,186- 8,842
						p(IV/гр.ср.)<0,05	4,857	1,223- 19,295
Распределение генотипов / аллелей полиморфного маркера <i>T786C (rs2070744)</i> гена <i>eNOS</i>								
ТС	0,31	0,33	0,37	0,29	0,44	p(I/гр.ср., II/гр.ср., III/гр.ср., IV/гр.ср.)>0,05		
ТТ	0,58	0,55	0,45	0,57	0,39	p(I/гр.ср.)<0,05	2,125	1,185- 3,810
						p(II/гр.ср.)<0,05	1,888	1,040- 3,428
						p(I/III)<0,05	3,955	1,499- 9,514
						p(I/IV)<0,05	3,906	1,330- 13,07

Продолжение Таблицы Б.1

CC	0,11	0,12	0,18	0,14	0,16	p(I/гр.ср., II/гр.ср., III/гр.ср., IV/гр.ср.)>0,05		
C	0,47	0,49	0,48	0,47	0,42	p(I/гр.ср.)<0,05	0,471	0,262-0,844
						p(II/гр.ср.)<0,05	0,530	0,292-0,961
T	0,53	0,51	0,52	0,53	0,58	p(I/гр.ср., II/гр.ср., III/гр.ср., IV/гр.ср.)>0,05		
Распределение генотипов / аллелей полиморфного маркера <b>C774T (rs1549758)</b> гена <b>eNOS</b>								
TC	0,37	0,38	0,47	0,38	0,42	p(I/гр.ср., II/гр.ср., III/гр.ср., IV/гр.ср.)>0,05		
TT	0,54	0,52	0,41	0,50	0,49			
CC	0,09	0,10	0,12	0,12	0,08			
C	0,34	0,35	0,40	0,30	0,36			
T	0,66	0,65	0,60	0,70	0,64			
Распределение генотипов/ аллелей полиморфного маркера <b>Glu 298Asp (rs1799983)</b> гена <b>eNOS</b>								
TC	0,40	0,40	0,45	0,38	0,39	p(I/гр.ср., II/гр.ср., III/гр.ср., IV/гр.ср.)>0,05		
TT	0,48	0,48	0,45	0,50	0,46			
CC	0,12	0,12	0,10	0,12	0,14			
C	0,37	0,36	0,39	0,30	0,38			
T	0,63	0,64	0,61	0,70	0,62			
Распределение генотипов/ аллелей полиморфного маркера <b>rs 5351</b> в гене <b>EDNRB</b>								
GA	0,55	0,56	0,56	0,32	0,82	p(I/гр.ср.)<0,05	0,325	0,165-0,642
						p(II/гр.ср.)<0,05	0,345	0,169-0,706
						p(III/гр.ср.)<0,05	0,339	0,157-0,732
						p(IV/гр.ср.)<0,05	0,128	0,047-0,349
						p(II/IV)<0,05	0,14	0,047-0,46
						p(II/III)<0,05	0,05	0,02-0,15
AA	0,15	0,12	0,11	0,01	0,07	p(I/гр.ср., II/гр.ср., III/гр.ср., IV/гр.ср.)>0,05		

Продолжение Таблицы Б.1

GG	0,30	0,32	0,33	0,67	0,11	p(I/гр.ср.)<0,05	2,530	1,171-5,464
						p(II/гр.ср.)<0,05	2,738	1,227-6,111
						p(III/гр.ср.)<0,05	2,909	1,238-6,834
						p(IV/гр.ср.)<0,05	7,405	2,680-20,459
						p(I/IV)<0,05	0,3416	0,1395-0,8791
G	0,55	0,56	0,57	0,67	0,52	p(I/гр.ср., II/гр.ср., III/гр.ср., IV/гр.ср.)>0,05		
A	0,45	0,44	0,43	0,33	0,48	p(I/гр.ср.)<0,05	0,395	0,183-0,854
						p(II/гр.ср.)<0,05	0,365	0,164-0,815
						p(III/гр.ср.)<0,05	0,344	0,146-0,808
						p(IV/гр.ср.)<0,05	0,135	0,049-0,373
						p(I/IV)<0,05	2,927	1,137-7,168

## ПРИЛОЖЕНИЕ В

Таблица В.1 – Распределение частот гаплотипов по полиморфным локусам *T786C* и *C774T* гена *eNOS* среди пациентов с ПОУГ

<i>rs 2070744 T786C / rs 1549758 C774T</i>	Группы		P-value
	Группа сравнения	Пациенты с ПОУГ	
ТТ/ТТ	0,2	0,29	p = 0,25
ТТ/СС	0,17	0,08	p = 0,35
ТТ/ТС	0,15	0,24	p = 0,21
СС/ТТ	0,02	0,01	p = 0,23
СС/СС	0,02	0,05	p = 0,1
СС/ТС	0,02	0,05	p = 0,1
ТС/ТТ	0,22	0,15	p = 0,28
ТС/СС	0,05	0,04	p = 0,38
ТС/ТС	0,35	0,17	<b>p = 0,03*</b> ОШ= 0,382, ДИ= 0,135-1,083

Примечание: \* p≤0,05.

## ПРИЛОЖЕНИЕ Г

Таблица Г.1 – Распределение частот гаплотипов по полиморфным локусам *T786C* и *Glu 298Asp* гена *eNOS* среди пациентов с ПОУГ

<i>rs 2070744 T786C / rs 1799983 Glu 298Asp</i>	Группы		P-value
	Группа сравнения	Пациенты с ПОУГ	
ТТ/ТТ	0,17	0,24	p = 0,39
ТТ/СС	0,01	0,01	p = 0,35
ТТ/ТС	0,17	0,27	p = 0,2
СС/ТТ	0,01	0,02	p = 0,24
СС/СС	0,01	0,05	p = 0,1
СС/ТС	0,01	0,01	p = 0,5
ТС/ТТ	0,27	0,09	<b>p = 0,02*</b> ОШ= 0,285, ДИ= 0,082-0,988
ТС/СС	0,05	0,07	p = 0,8
ТС/ТС	0,3	0,2	p = 0,22

Примечание: \* p≤0,05.

## ПРИЛОЖЕНИЕ Д

Таблица Д.1 – Распределение частот гаплотипов по полиморфным локусам *C774T* и *Glu298Asp* гена *eNOS* среди пациентов с ПОУГ

<i>rs 1549758 C774T / rs 1799983 Glu 298Asp</i>	Группы		P-value
	Группа сравнения	Пациенты с ПОУГ	
ТТ/ТТ	0,3	0,3	p = 0,18
ТТ/СС	0,01	0,01	p = 0,35
ТТ/ТС	0,12	0,1	p = 0,25
СС/ТТ	0,01	0,01	p = 0,24
СС/СС	0,02	0,09	p = 1
СС/ТС	0,01	0,01	p = 0,5
ТС/ТТ	0,12	0,04	p = 0,15
ТС/СС	0,01	0,02	p = 0,5
ТС/ТС	0,35	0,39	p = 0,16

## ПРИЛОЖЕНИЕ Е

Таблица Е.1 – Распределение частот гаплотипов по полиморфным локусам *T786C*, *T786C*, *C774T*, *Glu 298Asp* гена *eNOS* среди пациентов с ПОУГ

<i>rs 2070744 T786C / rs 1549758 C774T / rs 1799983 Glu 298Asp</i>	Группы		P-value
	Группа сравнения	Пациенты с ПОУГ	
TT/TT/TT	0,16	0,31	<b>p = 0,025*</b> ОШ= 2,286, ДИ= 1,138-4,593
CC/CC/CC	0,02	0,03	0,6
TC/TC/TC	0,15	0,1	0,28
TT/TT/CC	0,05	0,01	0,21
TT/TT/TC	0,02	0,05	0,26
TT/CC/CC	0,01	0,01	0,96
TT/TC/TC	0,08	0,14	0,24
TT/CC/TC	0,01	0,01	0,33
TT/CC/TT	Не обнаружен		
TT/TC/CC	0,01	0,02	p=0,23
TT/TC/TT	0,03	0,01	0,62
CC/CC/TC	0,01	0,01	0,33
CC/TC/TC	0,05	0,05	0,91
CC/CC/TT	0,02	0,01	0,17
CC/TT/TT	0,02	0,01	0,6
CC/TT/TC	0,01	0,01	0,33
CC/TC/TT	0,02	0,01	0,6
CC/TT/CC	Не обнаружен		
CC/TC/CC	0,01	0,01	0,3
TC/TC/CC	0,02	0,02	0,9
TC/CC/TC	0,01	0,01	0,9
TC/CC/CC	0,01	0,02	0,5
TC/TT/TT	0,16	0,11	0,28
TC/TT/CC	Не обнаружен		
TC/CC/TT	0,01	0,01	0,48
TC/TT/TC	0,04	0,03	0,7
TC/TC/TT	0,04	0,01	0,051

## ПРИЛОЖЕНИЕ Ж

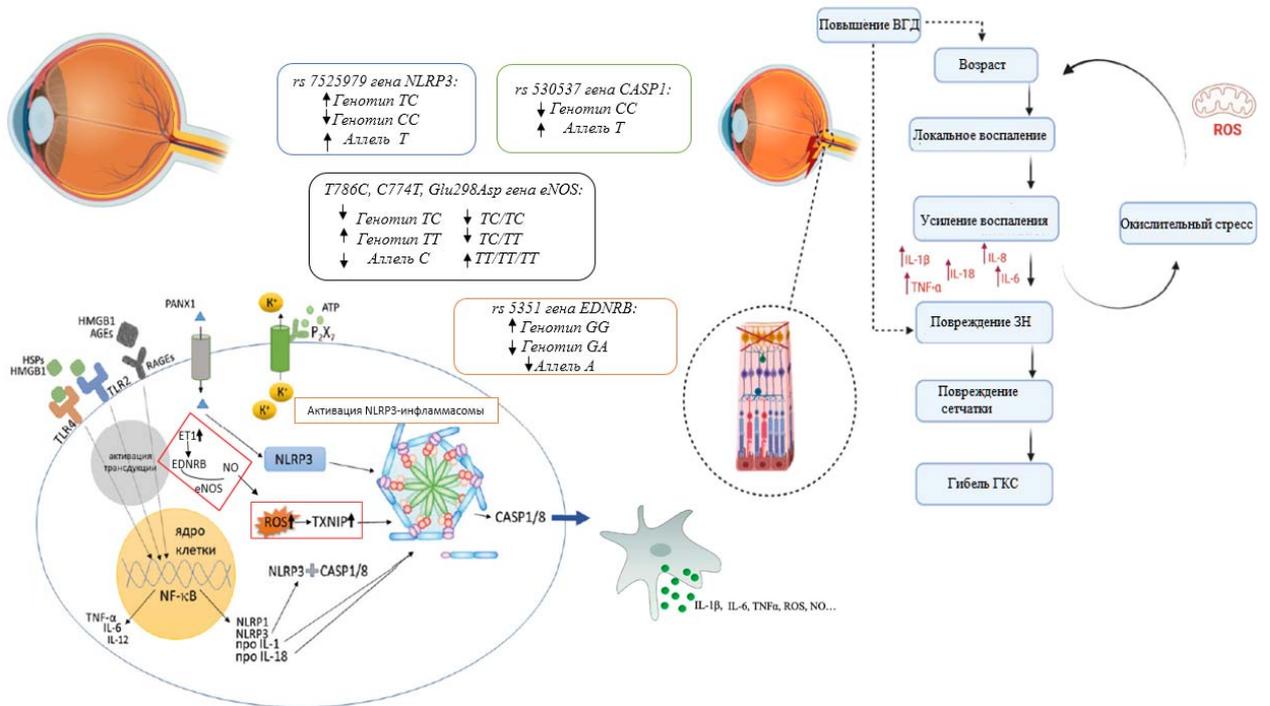
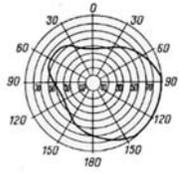
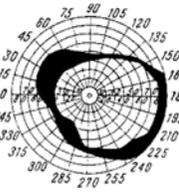
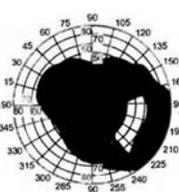


Рисунок Ж.1 – Влияние генотипов и аллелей полиморфных маркеров *rs 7525979* в гене *NLRP3* и *rs 530537* в гене *CASP1*, *rs 2070744 T786C*, *rs 1549758 C774T*, *rs 1799983 Glu 298Asp* в гене *eNOS*, *rs 5351* гена *EDNBR* при у пациентов с ПОУГ и в группе сравнения

Таблица Ж.1 – Ассоциация генотипов и аллелей полиморфных маркеров *rs 7525979* в гене *NLRP3* и *rs 530537* в гене *CASP1*, *rs 2070744 T786C*, *rs 1549758 C774T*, *rs 1799983 Glu 298Asp* в гене *eNOS*, *rs 5351* гена *EDNRB* в зависимости от тяжести ПОУГ [1]

Стадии ПОУГ	Поля зрения	Диск зрительного нерва (схема)	<i>NLRP3</i> ( <i>rs 7525979</i> )	<i>CASP1</i> ( <i>rs 530537</i> )	<i>eNOS</i>	<i>EDNRB</i> ( <i>rs 5351</i> )
I стадия			Генотип CC	Генотип CC	<i>rs 2070744</i> : Аллель C	Аллель A Генотип GA
			Генотип TC (в 3 раза)	Аллель T (в 2 раза)	<i>rs 2070744</i> : Генотип TT (в 2 раза)	Генотип GG (в 2 раза)
II стадия			Генотип CC	Генотип CC	TT/TC/CC <i>rs 2070744</i> : Аллель C	Аллель A Генотип GA
			Генотип TC (в 2 раза)	Аллель T (в 2 раза)	TT/TT/TT (в 4 раза) <i>rs 2070744</i> : Генотип TT (в 1,8 раза)	Генотип GG (в 2 раза)
III стадия			Генотип CC	Генотип CC		Аллель A Генотип GA
			Генотип TC (в 2 раза)	Аллель T (в 3 раза)		Генотип GG (в 2 раза)
IV стадия	Отсутствие полей зрения		Генотип CC	Генотип CC		Аллель A Генотип GA
			Генотип TC (в 12 раз)	Аллель T (в 4 раза)		Генотип GG (в 7 раз)
Примечание: <span style="background-color: #d9ead3; border: 1px solid black; display: inline-block; width: 15px; height: 15px; vertical-align: middle;"></span> – маркеры, снижающие риск развития ПОУГ, <span style="background-color: #f2dede; border: 1px solid black; display: inline-block; width: 15px; height: 15px; vertical-align: middle;"></span> – маркеры, увеличивающие риск развития ПОУГ.						