

На правах рукописи



Какулия Дарья Михайловна

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

3.2.7. Иммунология

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Москва – 2025

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Ставропольский государственный медицинский университет» Минздрава России

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор

Барычева Людмила Юрьевна

Официальные оппоненты:

Маркелова Елена Владимировна – доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра нормальной и патологической физиологии, заведующий кафедрой

Петров Сергей Юрьевич – доктор медицинских наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр глазных болезней имени Гельмгольца» Министерства здравоохранения Российской Федерации, отдел глаукомы, руководитель отдела

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт имени И. И. Мечникова»

Защита диссертации состоится «21» октября 2025 г. в 14.00 часов на заседании диссертационного совета ДСУ 208.001.34 при ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет) по адресу: 119991 г. Москва, ул. Трубецкая, д.8, стр. 2.

С диссертацией можно ознакомиться в Фундаментальной учебной библиотеке ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет) по адресу: 119034, г. Москва, Зубовский бульвар, д. 37/1 и на сайте организации: <http://www.sechenov.ru>

Автореферат разослан " ____ " _____ 2025 г.

Ученый секретарь диссертационного совета

доктор медицинских наук, профессор

Калужин Олег Витальевич

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Глаукома – прогрессирующее заболевание, в основе которого лежит дегенерация зрительного нерва, приводящая к потере зрения и необратимой слепоте (Нероев В.В., 2018, Fernández-Vega Cueto A. et al., 2021, Baudouin C. et al., 2021). Глобальная распространенность глаукомы в мире оценивается в 80 миллионов человек с прогнозируемым увеличением числа больных до 112 миллионов к 2040 году (Нероев В.В., 2018, Starikova D., 2020, Baudouin C. et al., 2021).

Клинический диагноз первичной открытоугольной глаукомы, как правило, является отсроченным и устанавливается, когда утрачено до 30-40% нейросенсорных клеток (Krzyżanowska-Berkowska P. et al., 2018, Fernández-Vega Cueto A. et al., 2021, Котелин В. И. и др., 2022). Существует огромная потребность в ранней диагностике и прогнозировании ПОУГ с использованием неинвазивных биомаркеров глаукомы (Beykin G., Goldberg J. L., 2019, Fernández-Vega Cueto A. et al., 2021, Свитич О.А., 2024).

В современных исследованиях показано, что нейровоспаление является ключевым процессом при глаукоме и краеугольным камнем для ее развития (Wei X. et al., 2019, Nakazawa T., Fukuchi T. et al., 2020, Шевченко А.В. и др., 2021, Chen D. et al., 2022, Lambuk L. et al., 2022, Свитич О.А. и др., 2024). Реализация воспалительного ответа, обусловленного увеличением внутриглазного давления, сопровождается значительной активацией клеток микроглии, астроцитов и олигодендроцитов, а также гиперпродукцией провоспалительных интерлейкинов, способствующих повреждению зрительного нерва (Adornetto A. et al., 2019, Oikawa K. et al., 2020, Шевченко А.В. и др., 2021, Lambuk L. et al., 2022).

Установлено, что одним из ведущих факторов хронического дегенеративно-дистрофического воспаления при ПОУГ является нарушение баланса про- и противовоспалительных интерлейкинов (Рахманов В. В. и др., 2020, Balatskaya N.V. et al., 2021, Yang X. et al., 2021, Vidal-Villegas B. et al., 2022). Вместе с тем, представленные в литературе данные, касающиеся цитокинового профиля слезы, нередко противоречивы, отсутствует сопоставление уровней интерлейкинов и инструментальных показателей (Kokubun T. et al., 2018).

В последние годы инициированы исследования, посвященные взаимосвязи развития глаукомы и полиморфизма генов цитокинов (Burgos-Blasco B. et al., 2020). Показано, что генетически детерминированные различия продукции интерлейкинов могут влиять на предрасположенность к развитию нейровоспаления и способствовать прогрессированию ПОУГ (Шевченко А. В. и др., 2021, Velkovska M. A. et al., 2021, Aboobakar, I. F., Wiggs L. et al., 2022).

Поиск полиморфных маркеров генов интерлейкинов позволит расширить представление о течении патологического процесса при первичной открытоугольной глаукоме и возможностях патогенетического лечения заболевания (Шевченко А. В. и др., 2021), что и определило цель и задачи нашего исследования.

Степень разработанности темы исследования

Высокая реактивность глиальных клеток при глаукоме характеризуется повышенной продукцией провоспалительных интерлейкинов, таких как ФНО- α , ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-12, ИЛ-2 и хемокинов, действующих в качестве эффекторов воспалительной нейротоксичности (Рахманов В. В. и др., 2020, Balatskaya N.V. et al., 2021, Yang X. et al., 2021, Vidal-Villegas B. et al., 2022).

ФНО- α относится к основным провоспалительным интерлейкинам в глаукомной сетчатке и зрительном нерве, способным напрямую инициировать цитокин-опосредованный апоптоз ганглиозных клеток, гибель олигодендроцитов и дегенерацию аксонов (Adornetto A. et al., 2019, Ko K. W. et al., 2020, Tezel G. et al., 2022).

Интерлейкин-1 β является ключевым микроглиальным фактором, стимулирующим продукцию матриксной металлопротеиназы-9, оксида азота и активных радикалов кислорода (Adornetto A. et al., 2019, Tezel G. et al., 2022). В то время как ИЛ-10 относится к противовоспалительным цитокинам, способным уменьшать секрецию провоспалительных медиаторов и увеличить экспрессию противовоспалительных генов посредством сигнального преобразователя и активатора транскрипции STAT3 (Fakhraie G. et al., 2020, Tezel G. et al., 2022).

Ранее было показано, что провоспалительные интерлейкины вовлечены в патологию и патофизиологию первичной открытоугольной глаукомы. Установлено увеличение уровня ФНО- α (Агарков Н. М. и др., 2019, Csósz E. et al., 2019, Benitez-Del-Castillo J. et al., 2019), ИЛ-1 β (Benitez-Del-Castillo J. et al., 2017, Агарков Н. М. др., 2020) и ИЛ-10 в слезной жидкости у пациентов с ПОУГ (Micera A., 2016, Csósz É., 2019), что не всегда подтверждалось в альтернативных исследованиях (Gupta D. et al., 2017, Kondkar A. A. et al., 2018, Агарков Н. М. и др., 2019, Черных В. В. и др., 2019, Benitez-Del-Castillo J. et al., 2019, Burgos-Blasco B. et al., 2020).

В рамках генной диагностики выявлено, что полиморфизмы генов ФНО- α (Xin X. et al., 2013), ИЛ-1 β (Oliveira M. B. et al., 2018, Behzadi P. et al., 2022), ИЛ-10 (Zhang H. et al., 2019, Fakhraie G. et al., 2020) были ассоциированы с развитием ПОУГ, в то время как другие авторы не подтвердили значимой связи (Mossböck G. et al., 2009, Yu Q. Q. et al., 2012).

Таким образом, полиморфные маркеры отдельных генов цитокинов были идентифицированы в качестве потенциальных биомаркеров-кандидатов при глаукоме, однако их

роль для прогноза заболевания и мониторинга терапии в различных этнических группах до конца не установлена.

Цель и задачи исследования

Прогнозирование первичной открытоугольной глаукомы на основании полиморфизма генов интерлейкинов и содержания ФНО- α , ИЛ-1 β , ИЛ-10 в слезной жидкости.

Для реализации цели исследования поставлены следующие задачи:

1. Определить содержание интерлейкинов в слезной жидкости (ФНО- α ИЛ-1 β , ИЛ-10) у пациентов с развитой, далекозашедшей и терминальной стадиями глаукомы.
2. Установить зависимость течения заболевания и показателей оптической когерентной томографии от уровня интерлейкинов в слезной жидкости (ФНО- α ИЛ-1 β , ИЛ-10).
3. Оценить наличие взаимосвязи генов интерлейкинов *ФНО- α G308A*, *ИЛ-1 β T31C*, *ИЛ-10 C592A* с развитием глаукомы у пациентов русской национальности, проживающих на Юге России.
4. Выявить молекулярно-генетические маркеры высокого риска развития первичной открытоугольной глаукомы при изучении полиморфных маркеров *ФНО- α G308A*, *ИЛ-1 β T31C*, *ИЛ-10 C592A* у пациентов русской национальности Юга России.
5. Изучить характер влияния генного полиморфизма *ФНО- α G308A*, *ИЛ-1 β T31C*, *ИЛ-10 C592A* на уровень интерлейкинов (ФНО- α ИЛ-1 β , ИЛ-10) в слезной жидкости и показатели оптической когерентной томографии у больных первичной открытоугольной глаукомой.
6. Построить прогностическую модель, позволяющую определить вероятность диагноза первичной открытоугольной глаукомы на основании молекулярно-генетических факторов риска.

Научная новизна

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

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

Впервые выявлено, что носительство аллелей *ФНО-α 308G*, *ИЛ-10 592С* *ИЛ-1β -31С* и генотипов *ФНО-α 308 G/G*, *ИЛ-10 592 C/C* обладает протективным потенциалом и уменьшает риск развития первичной открытоугольной глаукомы.

Впервые на кагорте пациентов Ставропольского края показано увеличение уровней *ФНО-α*, *ИЛ-1β* в слезной жидкости при развитой, далекозашедшей и терминальной ПОУГ, коррелирующее с уменьшением толщины слоя нервных волокон сетчатки.

Впервые определено, что высокая продукция *ФНО-α* в слезной жидкости у больных с первичной открытоугольной глаукоме выявляется у резидентов аллеля *ФНО-α 308А*, *ИЛ-10 – ИЛ-10 592А*, *ИЛ-1β – генотипа ИЛ-1β (-31) T/T*.

Впервые установлены взаимосвязи между полиморфизмом генов интерлейкинов и морфометрическими показателями диска зрительного нерва у больных с первичной открытоугольной глаукомой. Показано, что наименьшая толщина слоя нервных волокон сетчатки определяется у обладателей аллелей *ФНО-α 308А*, *ИЛ-10 592А* и генотипа *ИЛ-1β -31T/T*, минимальные объем и площадь нейроретинального пояса – резидентов аллеля *ФНО-α 308А*.

Впервые предложена прогностическая модель, позволяющую диагностировать первичную открытоугольную глаукому с учетом молекулярно-генетических факторов риска.

Теоретическая и практическая значимость работы

Изучение полиморфизма генов интерлейкинов *ФНО-α G308А*, *ИЛ-1β T31С*, *ИЛ-10 C592А* имеет существенное значение для развития современных знаний о патоморфологических особенностях нейровоспаления при развитии первичной открытоугольной глаукомы.

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

Установленные ассоциации между носительством аллелей *ФНО-α 308А*, *ИЛ-10 592А*, *ИЛ-1β -31T*, а также генотипов *308 G/A*, *308 A/A*, *-31T/T* и риском развития глаукомы свидетельствуют о необходимости дальнейших исследований в других этнических группах и обширных когортах, что позволит формировать группы высокого риска развития глаукомы с применением тактики превентивного профилактического лечения.

Предложенная прогностическая модель позволит улучшить выявление первичной открытоугольной глаукомы на ранних этапах диагностического поиска.

Методология и методы исследования

Дизайн исследования: продольное когортное одноцентровое исследование с использованием клинико-офтальмологических, инструментальных, иммуноферментных, молекулярно-генетических и статистических методов.

В качестве объекта исследования были выбраны пациенты с развитой, далекозашедшей и терминальной глаукомой, госпитализированные в офтальмологическое отделение ГБУЗ СК «Ставропольская краевая клиническая больница».

Предмет исследования: интерлейкины слезной жидкости (ФНО- α ИЛ-1 β , ИЛ-10) и генные полиморфизмы про- и противовоспалительных интерлейкинов *ФНО- α G308A*, *ИЛ-1 β T31C*, *ИЛ-10 C592A* у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой.

Дизайн диссертационного исследования одобрен Локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО СТГМУ Минздрава России (протокол №81 от 27.03.2019 г.). Клинико-офтальмологическое и инструментальное обследование пациентов с глаукомой осуществлялось на базе офтальмологического отделения ГБУЗ СК «Ставропольская краевая клиническая больница». Определение интерлейкинов ФНО- α ИЛ-1 β , ИЛ-10 методом иммуноферментного анализа и молекулярно-генетические исследования выполнялись в лабораториях Федерального казенного учреждения здравоохранения «Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора».

Личный вклад автора

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

Положения, выносимые на защиту

1. Молекулярно-генетическими предикторами развития первичной открытоугольной глаукомы у пациентов русской национальности Юга России являются мутантные аллели *ФНО- α*

308A, ИЛ-10 592A, дикий аллель – ИЛ-1 β -31T, а также генотипы ФНО- α 308 G/A, 308 A/A, ИЛ-1 β -31T/T.

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

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

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Полученные в работе научные данные соответствуют специальности 3.2.7 – Иммунология, поскольку характеризуют иммуногенетические аспекты нейровоспаления при первичной открытоугольной глаукоме, а также имеют значение для диагностики заболевания и совершенствования методов лечения ПОУГ с помощью таргетной иммунобиологической терапии. В соответствии с полученными результатами диссертационное исследование соответствует разделу специальности «Диагностика, лечение и профилактика иммунозависимых заболеваний».

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность результатов настоящего исследования аргументирована убедительным объемом и репрезентативностью выборки пациентов, страдающих первичной открытоугольной глаукомой, использованием актуальных клиничко-офтальмологических и молекулярно-генетических методов. Для оценки статистической значимости полученных данных применялись современные статистические методы. Выводы и практические рекомендации полностью аргументированы полученными результатами.

Диссертация апробирована на заседании кафедр иммунологии с курсом ДПО, офтальмологии с курсом ДПО, неврологии, нейрохирургии и медицинской генетики, гигиены им. Г.А. Гудзовского, патологической физиологии, клинической фармакологии с курсом ДПО Ставропольского государственного медицинского университета (протокол №12 от 26.09.2024 г.). Основные положения диссертации доложены и обсуждены на межвузовском международном конгрессе «Высшая школа: научные исследования» (Москва, 9 июня 2023 г., 23 июня 2023 г.),

XXXII международной научно-практической конференции «Академическая наука – проблемы и достижения» (Bengaluru, Karnataka India, 13-14 июня 2023 г.). Результаты исследования внедрены в практику работы офтальмологического отделения ГБУЗ СК «Ставропольская краевая клиническая больница», образовательные программы подготовки кадров циклов повышения квалификации и профессиональной переподготовки на кафедрах иммунологии и офтальмологии с курсом ДПО Ставропольского государственного медицинского университета.

Публикации по теме диссертации

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

Структура и объем диссертации

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

ОБЩЕЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

В работу включены 56 пациентов (32 женщины, 24 мужчины) русской национальности, проживающие в Ставропольском крае, в возрасте от 50 до 75 лет с установленным диагнозом Первичная открытоугольная глаукома, имеющие уровень ВГД >21 мм рт. ст., степень открытия угла передней камеры – 3-4, толщину СНВС более 60, но менее 85 μm , подписавшие добровольное информированное согласие на включение в исследование. Диагноз устанавливали с помощью стандартных методов исследования, включая визометрию, авторефрактометрию, биомикроскопию, гониоскопию, аппланационную тонометрию, пахиметрию, оптическую когерентную томографию (ОСТ). Из исследования исключали пациентов с воспалительными или аллергическими заболеваниями переднего отрезка глаза, помутнением оптических сред, травмами глаза, наличием диабетической ретинопатии, макулярной дегенерации, а также

больных, получающих иммуносупрессивные, цитостатические или генно-инженерные биологические препараты.

В группу сравнения вошли 30 пациентов (18 женщин, 12 мужчин) в возрасте от 50 до 75 лет русской национальности с миопией слабой степени, уровнем ВГД <21 мм рт. ст., степенью открытия угла передней камеры – 3-4, толщиной слоя нервных волокон >90 μm , отсутствием системных аутоиммунных, опухолевых заболеваний, сахарного диабета, подписавших добровольное информированное согласие на включение в исследование.

Средний возраст пациентов составил $71,3 \pm 1,98$ лет. В 28 случаях верифицирована развитая, в 16 – далекозашедшая, 12 – терминальная стадии первичной открытоугольной глаукомы. Возрастная и гендерная структура, а также распространенность сопутствующих заболеваний у пациентов с ПОУГ, не отличалась от группы сравнения. У больных с глаукомой установлено увеличение средних показателей внутриглазного давления, уменьшение толщины слоя нервных волокон сетчатки, объема и площади нейроретинального пояса (таблица 1).

Таблица 1 – Демографическая и клиническая характеристика субъектов исследования

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

Для определения полиморфизма генов интерлейкинов использовалась венозная кровь, полученная путем пункции периферических вен (1-2 мл), собранная в одноразовую пластиковую пробирку с раствором 0,5% ЭДТА. Три гена-кандидата были отобраны для исследования на основании их прямого участия в сигнальных каскадах воспаления при ПОУГ. Тестировались функциональные полиморфизмы с частотой минорного аллеля более 5% в популяции – *ФНО- α 308 G>A* (rs1800629), *ИЛ-1 β (-31 T>C)* (rs1143627), *ИЛ-10 592 C>A* (rs1800872).

Выделение ДНК из лейкоцитов цельной крови проводили с применением набора реагентов «ДНК-ЭКСПРЕСС-КРОВЬ» («Литех», Россия). Супернатанты нуклеиновых кислот

хранили при температуре -20°C . Генотипирование *ФНО- α G308A*, *ИЛ-1 β -31 T>C* и *ИЛ-10 592 C/A* осуществляли методом Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP analysis) с помощью многоканального амплификатора «Терцик» (ООО «ДНК-Технология», Россия) и диагностических тест-систем «SNP-экспресс» ООО НПФ «Литех» (Москва).

На втором этапе исследования изучен характер влияния генного полиморфизма *ФНО- α G308A*, *ИЛ-1 β T31C*, *ИЛ-10 C592A* на содержание ФНО- α , ИЛ-1 β , ИЛ-10 в образцах слезной жидкости пациентов с ПОУГ. Проведен анализ морфометрических показателей диска зрительного нерва у больных с первичной открытоугольной глаукомой в зависимости от генотипов *ФНО- α 308G>A* и *ИЛ-1 β -31 T>C*, *ИЛ-10 592 C>A*.

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

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

Результаты исследования и их обсуждение

ФНО- α обнаружен в 95,4% образцах слезной жидкости пациентов с ПОУГ, в группе сравнения – в 85,7%, $p=0,01$. Средние показатели ФНО- α у больных с ПОУГ составляли 94 [45; 165] пкг/л, определялись статистически значимые различия по отношению к группе сравнения –

2 [14; 66] пкг/л, $p=0,001$. Содержание ФНО- α увеличивалось при развитой и далекозашедшей глаукоме, однако статистически значимых межгрупповых различий получено не было. Уменьшение толщины слоя нервных волокон умеренно коррелировало с увеличением показателей ФНО- α в слезной жидкости ($r=-0,48$, $p=0,0001$), не выявлено корреляционной взаимосвязи с уровнем внутриглазного давления, объемом и площадью нейроретинального пояса. Увеличение риска развития глаукомы установлено только у больных с высокими показателями ФНО- α , превышающими 165 пкг/мл (OR=7,09, CI=1,61-3,27), $p=0,004$.

ИЛ-1 β был выше неопределяемых значений в 94,4% образцов слезной жидкости пациентов с ПОУГ и в 73,8% – в группе сравнения ($p<0,001$) с увеличением показателей в группе ПОУГ (4,30 [1,85; 6,70] пкг/л и 2,15 [0; 3,70] пкг/л, соответственно), $p=0,001$. Уровень ИЛ-1 β был выше у пациентов с терминальной глаукомой, однако статистически значимых межгрупповых различий установлено не было. Показатели СНВС имели отрицательную корреляционную зависимость от содержания ИЛ-1 β ($r=-0,36$, $p=0,0001$). Не выявлено взаимосвязи между уровнем ИЛ-1 β и показателями ВГД, объемом и площадью нейроретинального пояса.

Увеличение риска развития ПОУГ отмечалось у пациентов со средними (1,85-6,70 пкг/мл) и высокими значениями ИЛ-1 β (более 6,70 пкг/мл). Однако различия были статистически не значимы.

ИЛ-10 обнаружен в 87,8% образцов слезной жидкости, что было сопоставимо с группой сравнения (76,2%). Не получено статистически значимых различий при анализе показателей ИЛ-10 в группах ПОУГ – 7,60 [2,00; 11,30] и сравнения – 5,60 [0,70; 11,40] пкг/л. Экспрессия ИЛ-10 не была взаимосвязана с уровнем ВГД, СНВС, объемом и площадью нейроретинального пояса.

Не установлено увеличения риска развития ПОУГ у индивидуумов с низким (менее 3,25 пкг/мл), средним (3,25-12,40 пкг/мл) и высоким (более 12,40 пкг/мл) уровнем ИЛ-10.

У пациентов с первичной открытоугольной глаукомой чаще, чем в группе сравнения выявлялся мутантный аллель *308A* (32,1% и 8,3%, $p=0,001$), вероятность развития заболевания у обладателей которого возрастала более, чем в 5 раз, показатель отношения шансов составил 5,21 (95% CI: 1,92-14,1, $p=0,001$) (таблица 2).

Распространенный в популяции гомозиготный по доминантному аллелю генотип *G308G* у пациентов с ПОУГ встречался реже, чем в группе сравнения (53,5% и 86,7% соответственно, $p=0,003$).

При изучении генного полиморфизма *ИЛ-1 β (-31 T>C)* у больных с ПОУГ чаще, чем в группе сравнения найден распространенный в популяции аллель *-31 T* (72,3% и 56,7%, $p=0,04$) с увеличением показателей отношения шансов до 1,99 (1,04-3,86). Носительство редкого аллеля *-31 C* имело протективный эффект (ОШ 0,50; 95% ДИ 0,26–0,97; $p=0,04$).

Таблица 2 – Распределение частот аллелей и генотипов *ФНО-α (308) G>A*, *ИЛ-1β (-31) T>C* и *ИЛ-10 (592) C>A* у больных с первичной открытоугольной глаукомой

| Аллели /генотип | ПОУГ (n=56) | Группа сравнения (n=30) | χ^2 | OR (95% CI) |
|---|----------------|-------------------------|----------|------------------|
| <i>ФНО-α (308) G>A</i> | | | | |
| <i>G</i> | 76/112 (67,9%) | 55/60 (91,7%) | p=0,001 | 0,19 (0,07-0,52) |
| <i>A</i> | 36/112 (32,1%) | 5/60 (8,3%) | p=0,001 | 5,21 (1,92-14,1) |
| <i>GG</i> | 30/56 (53,5%) | 26/30 (86,7%) | p=0,003 | 0,13 (0,04-0,41) |
| <i>GA</i> | 16/56 (28,6%) | 3/30 (10%) | p=0,049 | 3,60 (0,96-13,6) |
| <i>AA</i> | 10/56 (17,8%) | 1/30 (3,3%) | p=0,049 | 6,30 (0,77-51,9) |
| <i>AA+ GA</i> | 26/56 (46,4%) | 4/30 (13,3%) | p=0,003 | 5,85 (1,81-18,9) |
| <i>ИЛ-1β (-31) T>C</i> | | | | |
| <i>T</i> | 81/112 (72,3%) | 34/60 (56,7%) | p=0,04 | 1,99 (1,04-3,86) |
| <i>C</i> | 31/112 (27,7%) | 26/60 (43,3%) | p=0,04 | 0,50 (0,26-0,97) |
| <i>TT</i> | 32/56 (57,1%) | 10/30 (33,3%) | p=0,04 | 2,67 (1,06-6,72) |
| <i>TC</i> | 17/56 (30,4%) | 14/30 (46,7%) | p=0,13 | 0,50 (0,19-1,25) |
| <i>CC</i> | 7/56 (12,5%) | 6/30 (20,0%) | p=0,36 | 0,61 (0,17-1,89) |
| <i>TT+TC</i> | 49/56 (87,5%) | 24/30 (80,0%) | p=0,36 | 1,75 (0,53-5,78) |
| <i>ИЛ-10 (592) C>A</i> | | | | |
| <i>C</i> | 82/112 (73,2%) | 52/60 (86,7%) | p=0,04 | 0,42 (0,18-0,99) |
| <i>A</i> | 30/112 (26,8%) | 8/60 (13,3%) | p=0,04 | 2,38 (1,01-5,59) |
| <i>CC</i> | 30/56 (53,6%) | 23/30 (76,7%) | p=0,04 | 0,35 (0,13-0,95) |
| <i>CA</i> | 22/56 (39,3%) | 6/30 (20,0%) | p=0,09 | 2,44 (0,86-6,92) |
| <i>AA</i> | 4/56 (7,1%) | 1/30 (3,3%) | p=0,47 | 2,23 (0,24-20,9) |
| <i>CA+AA</i> | 28/56 (50,0%) | 7/30 (23,3%) | p=0,02 | 3,29 (1,22-8,89) |
| Примечание: p – статистическая значимость различий по сравнению с группой сравнения (критерий χ^2 Пирсона) OR-отношение шансов, CI - 95% доверительный интервал | | | | |

При анализе гаплотипов *ИЛ-1β (-31) T>C* у пациентов с ПОУГ преобладающим был гомозиготный по распространенному аллелю генотип *-31) T/T* (57,1% и 33,3%, p=0,04) с увеличением риска заболевания (OR=2,67 (1,06-6,72)). Распространенность гомозиготного по редкому аллелю (*31C/C*) и гетерозиготного (*-31T/C*) генотипов была ниже, чем в группе сравнения, однако различия не были статистически значимы.

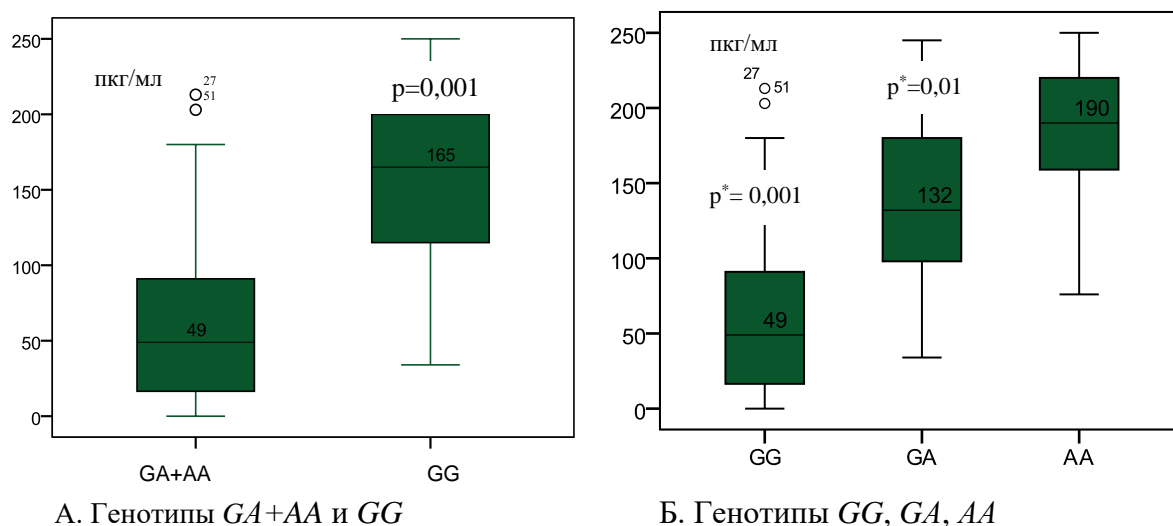
Интерлейкин-10 определялся в 87,8% образцов слезной жидкости, что не отличалось от группы сравнения (76,2%). Не получено статистически значимых различий при анализе средних показателей ИЛ-10 в группах ПОУГ – 7,60 [2,00; 11,30] и сравнения – 5,60 [0,70; 11,40] пкг/л. Не установлено увеличения риска развития заболевания у пациентов с низким (менее 3,25 пкг/мл), средним (3,25-12,40 пкг/мл) и высоким (более 12,40 пкг/мл) уровнем ИЛ-10. Показатели ИЛ-10 не коррелировали с возрастом пациентов, уровнем внутриглазного давления, толщиной нервных волокон сетчатки, объемом и площадью нейроретинального пояса.

Установлено преимущественное распространение мажорного аллеля *ИЛ-10 592/C* как у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой (73,2%), так и в группе сравнения (86,7%)

(табл. 2). Вместе с тем, его частота в группе ПОУГ была статистически значимо меньше ($p=0,04$), в отличие от мутантного аллеля 592/A (26,8% и 13,3%, $p=0,04$), присутствие которого двукратно увеличивало риск диагноза ПОУГ – ОШ= 2,38 (95% CI: 1,01-5,59, $p=0,04$).

Установлено влияние полиморфизма гена *ФНО- α* (308) $G>A$ на его содержание в слезной жидкости при первичной открытоугольной глаукоме. У респондентов редкого аллеля 308A и обладателей генотипов 308 G/A + 308 A/A отмечено увеличение содержания ФНО- α в слезной жидкости – 49 [14,0 – 90,0] пкг/мл по сравнению с пациентами, имеющими генотип 308 G/G (165 [112,5 – 193,5] пкг/мл), $p=0,001$) (рис. 1 А).

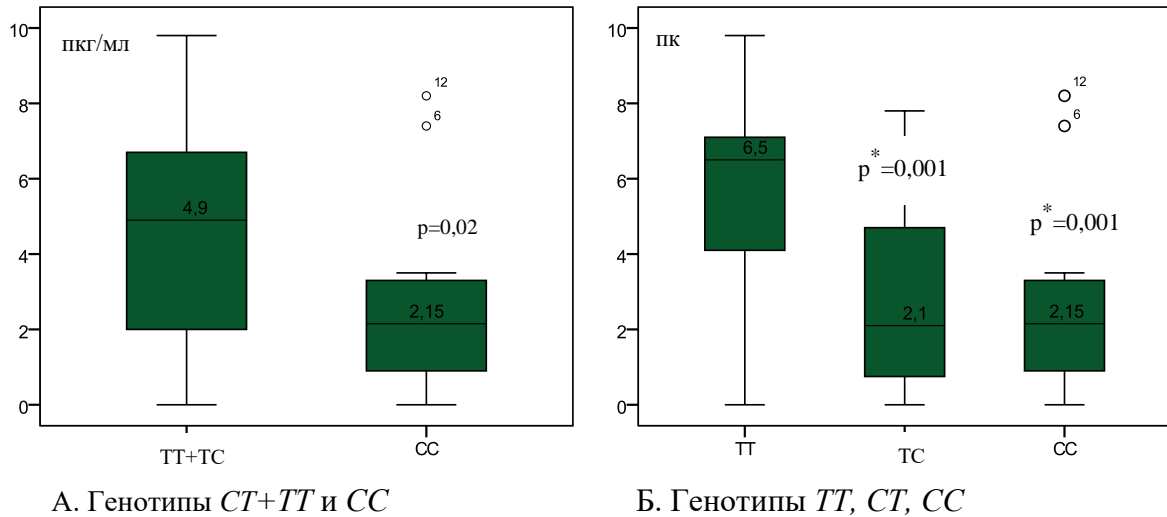
Показатели ФНО- α были значительно выше в группе 308A/A (190 [153,0 – 220,0] пкг/мл), статистически значимые различия определялись по сравнению с генотипами 308 G/A (132 [98,0 – 180,0] пкг/мл), $p=0,01$ и 308G/G (49 [14,0 – 90,0] пкг/мл), $p=0,001$ (рис. 1 Б).



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

Рис. 1 – Влияние полиморфизма гена *ФНО- α* (308) $G>A$ на уровень ФНО- α у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой

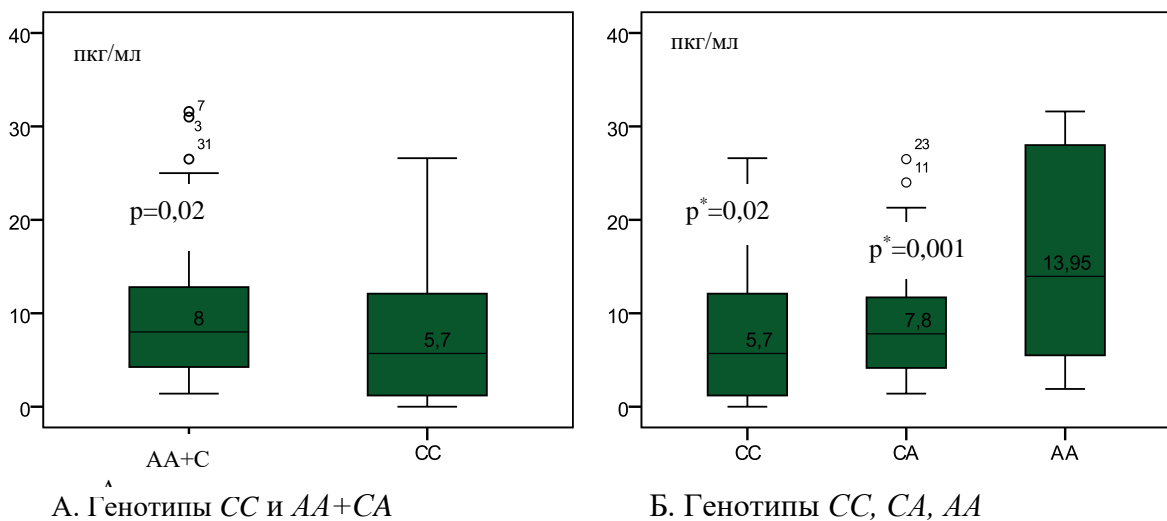
Выявлена взаимосвязь носительства аллеля -31 T и содержания ИЛ-1 β в слезной жидкости при ПОУГ (рис. 2). У обладателей генотипов T/T+C/T показатели ИЛ-1 β составили 4,90 [2,00 – 6,70] пкг/мл, что было существенно выше, чем у респондентов рецессивного генотипа -31 C/C – 2,15 [0,90 – 3,30] пкг/мл, $p=0,02$ (рис. 2 А).



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

Рис. 2 – Влияние полиморфизма гена *ИЛ-1β (-31) T>C* на уровень ИЛ-1β у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой

Максимальные значения определялись у гомозигот по распространенному аллелю (-31) T/T – 6,50 [4,10 – 7,00] пкг/мл. Статистически значимые различия получены при сравнении с генотипом T/C 2,10 [0,70 – 4,20] пкг/мл, $p=0,001$ и C/C 2,15 [0,90 – 3,30] пкг/мл, $p=0,001$ (рис. 2 Б). У пациентов с ПОУГ, обладателей редкого аллеля *ИЛ-10 592A (AA+CA)*, выявлено увеличение уровня ИЛ-10 (8,0 [4,2 – 12,1] пкг/л), по сравнению с носителями гомозиготного по доминантному аллелю генотипа $592C/C$ (5,7 [1,05 – 10,85]) пкг/л, $p=0,02$ (рис. 3 А).

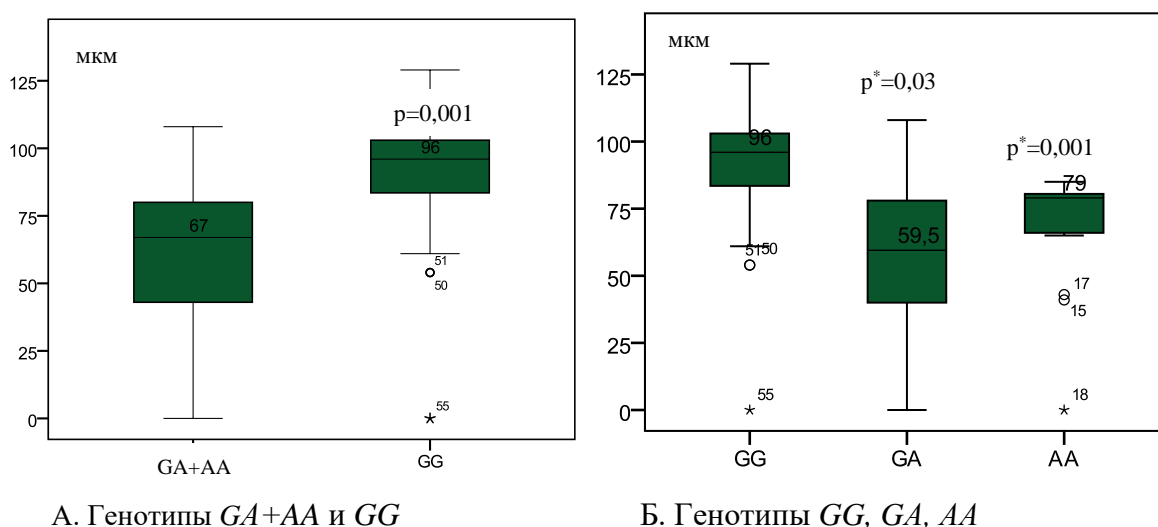


Примечание. Рис. А: p – различия между группами с генотипами CC и $CA+AA$ (критерий Манна – Уитни), рис. Б: p^* – различия между группами с генотипами AA , CA , CC (критерии Краскала-Уоллиса, Данетта, Данна)

Рис. 3 – Влияние полиморфизма гена *ИЛ-10 (592) C>A* на уровень ИЛ-10 у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой

Максимальные показатели определялись у носителей генотипа $592A/A$ – 13,95 [5,5 – 28,0] пкг/л, статистически значимые различия установлены по отношению к группе $592C/A$ – 7,8 [4,1 – 10,4] пкг/л, $p=0,02$ и $592C/C$ – 5,7 [1,05 – 10,85] пкг/л, $p=0,001$ (рис. 3 Б).

Определено влияние полиморфизма генов про- и противовоспалительных цитокинов на морфометрические показатели диска зрительного нерва у больных с ПОУГ. У респондентов аллеля $\PhiНО-\alpha 308A$ и обладателей генотипов $GA + AA$ показатели СНВС составили 67 [43,0 – 80,0] мкм и были существенно ниже, чем у носителей генотипа GG – 96 [81,0 – 101,0] мкм, $p=0,001$ (рис. 4).



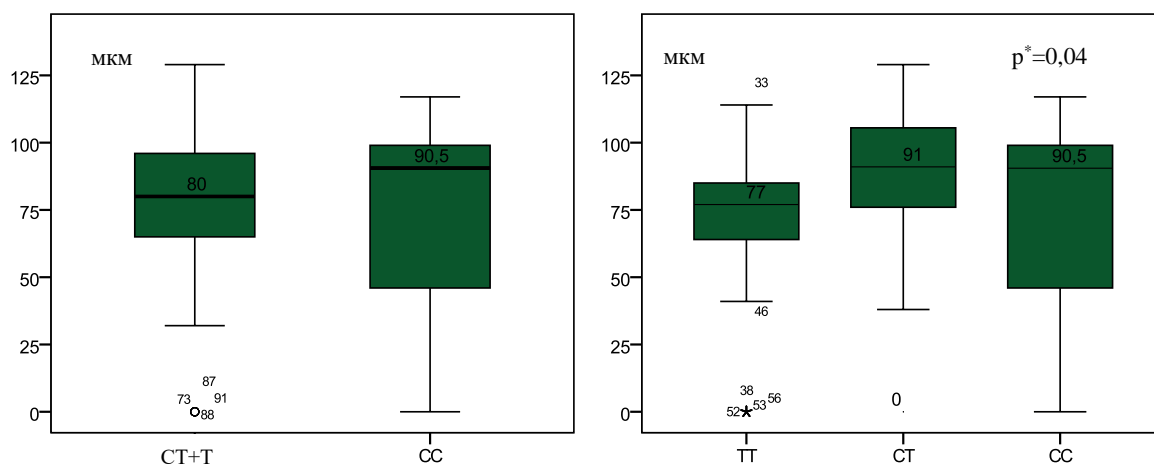
Примечание: p – различия между группами с генотипами GG и $GA+GA$ (критерий Манна – Уитни), p^* – различия по сравнению с группой AA (критерий Крускала-Уоллиса, Дана, Дункана)

Рис. 4 – Влияние полиморфизма гена $\PhiНО-\alpha$ (308) $G>A$ на показатели толщины слоя нервных волокон у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой

Статистически значимые различия по сравнению с генотипом GG установлены для генотипа $G308A$ – 59,5 [40,0 – 78,0], $p=0,03$ и $A308A$ – 79,0 [65,0 – 80,0] мкм, $p=0,001$.

У резидентов мутантного аллеля $308A$ и генотипов $GA+AA$ определялось уменьшение объема НРП – 0,27 [0,02 – 0,50] $мм^3$ по сравнению с гомозиготами по доминантному аллелю $308G$ – 0,51 [0,31 – 0,66] $мм^3$, $p=0,01$. Установлено также уменьшение площади НРП у носителей генотипов $GA+AA$ – 1,22 [0,33 – 1,61] $мм^2$ по отношению к обладателям распространенного генотипа GG – 1,59 [1,36 – 1,82] $мм^2$ $p=0,01$.

Толщина слоя нервных волокон сетчатки у обладателей аллеля $ИЛ-1\beta -31 T$ ($TT+TC$) составила 80 [65,0 – 96,0] мкм, у носителей CC – 90,5 [46,0 – 99,0] мкм, однако различия не были статистически значимы (рис. 5).



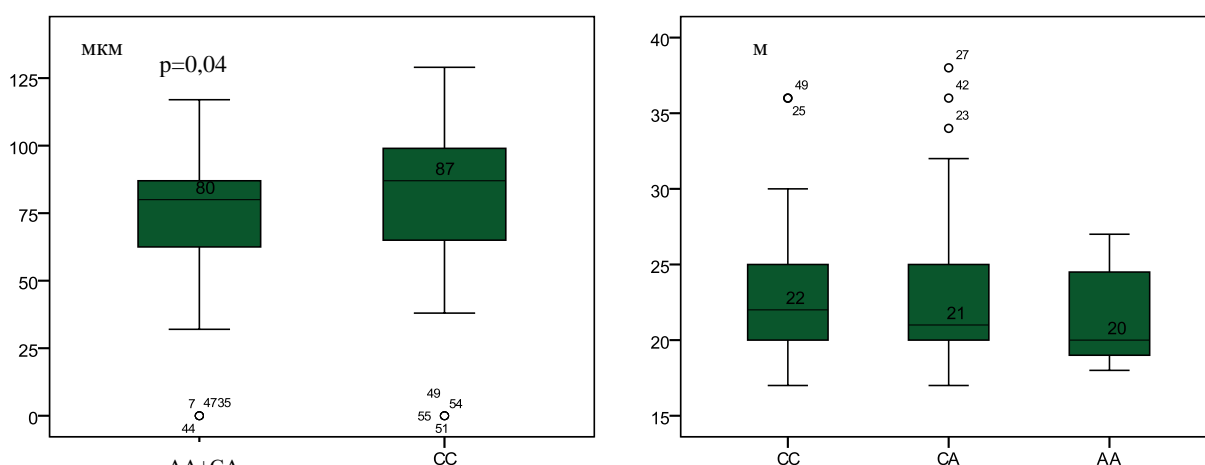
А. Генотипы *CT+TT* и *CC*

Б. Генотипы *TT*, *CT*, *CC*

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

Рис. 5 – Влияние полиморфизма гена *IL-1β* (-31) T>C на показатели толщины слоя нервных волокон у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой

Минимальные значения СНВС выявлены у резидентов *TT* (77 [64,0 – 83,0] мкм), статистически значимые различия определялись по сравнению с гомозиготным *CC* (90,5 [46,0 – 99,0] мкм), p=0,04, но не с гетерозиготным генотипом *CT* (87 [65,0 – 100,0] мкм), p=0,62. Не выявлено статистически значимых корреляций между полиморфизмом *IL-1β* (-31) T>C, объемом и площадью нейроретинального пояска. Средняя толщина нервных волокон сетчатки уменьшалась у респондентов аллеля *IL-10* 592A (генотипы AA+CA) по сравнению с носителями гомозиготного по распространенному аллелю генотипа *C592C* 80 [61 – 85] и 87 [65 – 98], p=0,04 (рис. 6).



А. Генотипы *CC* и *AA+CA*

Б. Генотипы *CC*, *CA*, *AA*

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

Рис. 6 – Влияние полиморфизма гена *IL-10* (592) C>A на показатели СНВС у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой

Показатели объема и площади нейроретинального пояска были сопоставимы у пациентов с различными аллелями и генотипами.

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

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

По данным многофакторного анализа статистически значимыми для развития глаукомы оказались: уровень ВГД, содержание ФНО- α и ИЛ-1 β в слезной жидкости, наличие генотипа *ИЛ-1 β T-31T/T*.

При построении прогностической модели первичной открытоугольной глаукомы методом логистической регрессии наличие глаукомы обозначалось значением 1, отсутствие глаукомы – значением 0.

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

e – основание натурального логорифма, равное 2,72;

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

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

Чувствительность полученной прогностической модели – 90,7%, специфичность – 88,1%, положительная предсказательная значимость – 95%, отрицательная предсказательная значимость – 78%. Получено значение AUC=0,93, свидетельствующее об отличном качестве модели. Оптимальный порог 0,69. ОШ=71,78 [2,57; 7,76]. Прогноз ПОУГ совпал с реальным диагнозом глаукомы в 89,7% случаев.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В слезной жидкости пациентов с первичной открытоугольной глаукомой определяются высокие концентрации провоспалительных интерлейкинов ФНО- α и ИЛ-1 β . Статистически значимое увеличение риска развития ПОУГ наблюдается у больных с уровнем ФНО- α , более 165

пкг/мл. Выявлена отрицательная корреляционная взаимосвязь средней силы между показателями ФНО- α , ИЛ-1 β и толщиной нервных волокон сетчатки.

У пациентов с первичной открытоугольной глаукомой русской национальности показано преобладание распространенного аллеля *ИЛ-1 β -31T* и мутантных аллелей *ФНО- α 308A (GA+AA)* и *ИЛ-10 592A*. Установлены высокая продукция ФНО- α , а также низкие показатели толщины слоя нервных волокон, объем и площадь нейроретинального пояска у респондентов аллеля *ФНО- α 308A A (GA+AA)*. Наиболее высокие показатели ФНО- α и уровня внутриглазного давления определяются у пациентов с гомозиготным генотипом по редкому аллелю *A308A*, наиболее низкие показатели средней толщины нервных волокон – в группах с гомозиготным *A308A* и гетерозиготным *A308G* по редкому аллелю генотипом.

Выявлено увеличение ИЛ-1 β в слезной жидкости больных ПОУГ, являющихся носителями аллеля *ИЛ-1 β -31T* и генотипа *-31T/T*. Наименьшая толщина слоя нервных волокон определялась у пациентов с генотипом *ИЛ-1 β (-31) T/T*.

Установлено увеличение ИЛ-10 у резидентов аллеля *ИЛ-10 592A* и обладателей генотипов *A592A* и *C592A*. Наиболее низкие показатели средней толщины нервных волокон сетчатки определяются у респондентов генотипов *A592A* и *C592A*. Предложена прогностическая модель, позволяющая диагностировать первичную открытоугольную глаукому с учетом молекулярно-генетических факторов риска.

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

ВЫВОДЫ

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

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

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

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

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

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

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

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Использовать показатели *ФНО-α*, *ИЛ-1β*, а также носительство аллелей *ФНО-α 308A*, *ИЛ-10 592A*, *ИЛ-1β -31T* и генотипов *ФНО-α 308 G/A*, *308 A/A*, *ИЛ-1β -31T/T* для ранней диагностики первичной открытоугольной глаукомы.

2. Для прогнозирования развития глаукомы применять математическую модель, включающую показатели внутриглазного давления, уровни *ФНО-α*, *ИЛ-1β* и носительство генотипа *ИЛ-1β -31T/T*.

3. У пациентов с индексом выше 0,69, полученном в уравнении логистической регрессии, целесообразно выполнять оптическую когерентную томографию.

4. У пациентов с подозрением на глаукому, использовать активную стратегию профилактики прогрессирующих форм заболевания.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Результаты диссертационного исследования подтверждают необходимость дальнейшего изучения генов про- и противовоспалительных цитокинов, участвующих в развитии нейровоспаления и прогрессирующей потере зрения, что позволит формировать группы высокого риска по развитию глаукомы и совершенствовать тактику протективной терапии.

СПИСОК РАБОТ ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Патогенетическая роль про- и противовоспалительных цитокинов в развитии первичной открытоугольной глаукомы / Л. Ю. Барычева, Г. Я. Хайт, М. Г. Какулия, А. М. Берновская, **Д. М. Какулия**, Л. С. Хачирова // Российский Аллергологический Журнал. - 2017. - №1. - С.179-181.
2. Клинико-патогенетическое значение про- и противовоспалительных цитокинов в развитии первичной открытоугольной глаукомы / Л. Ю. Барычева, Г. Я. Хайт, М. Г. Какулия, А. А. Берновская, **Д. М. Какулия** // Современные проблемы науки и образования. – 2017. – № 2; URL: <http://www.science-education.ru/article/view?id=26250> (дата обращения: 30.03.2017).
3. **Какулия, Д. М.** Роль TNF α в развитии первичной открытоугольной глаукомы / Д. М. Какулия Л. Ю. Барычева, В. В. Кузнецова // Флагман науки: научный журнал. Июнь 2023. – СПб., изд. ГНИИ "Нацразвитие" –2023. – №5 (5). – С.179-183.
4. **Какулия, Д. М.** Роль полиморфизма генов TNF α в развитии первичной открытоугольной глаукомы / Д. М. Какулия Л. Ю. Барычева Л.Ю., В. В. Кузнецова// Высшая школа: научные исследования. Материалы Межвузовского международного конгресса (г. Москва, 9 июня 2023 г.). – Москва: Издательство Инфинити, 2023. – С.123-127.
5. Интерлейкины слезной жидкости и морфофункциональные показатели при первичной открытоугольной глаукоме / **Д. М. Какулия**, М. М. Минасян, В. В. Кузнецова, Н. А. Козьмова // Высшая школа: научные исследования. Материалы Межвузовского международного конгресса (г. Москва, 23 июня 2023 г.).– Москва: Издательство Инфинити, 2023. – С.65-68.
6. Полиморфизм генов IL1 β у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой / Какулия Д.М., Барычева Л.Ю., Минасян М.М. и др. // Academic science - problems and achievements XXXII. – Publisher: Pothi.com Ground Floor, 46, 11th Cross Rd, Indira Nagar 1st Stage, Stage 1, Indiranagar, Bengaluru, Karnataka 560038, India, 2023. – С.22-25.
7. Expression profile and TNF- α gene polymorphism in primary open-angle glaucoma / **Д. М. Kakulia**, L. Yu. Barycheva, A. B. Khodzhayan, M. M. Minasyan // **Медицинский вестник Северного Кавказа**. 2023. – Т.18. – №2. – С.186-188. DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2023.18042>
8. Цитокины слезной жидкости как потенциальные биомаркеры первичной открытоугольной глаукомы / Л.Ю. Барычева, **Д.М. Какулия**, М.М. Минасян // **Медицинский вестник Северного Кавказа**. 2023. – Т.18, №3. – С.303-305. DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2023.18071>
9. Полиморфизм генов провоспалительных интерлейкинов при первичной открытоугольной глаукоме / Л.Ю. Барычева, **Д.М. Какулия**, М.М. Минасян, В.В. Кузнецова,

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ВГД – внутриглазное давление

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ИБС – ишемическая болезнь сердца

ИЛ-1 β , 10 – интерлейкин-1 β , 10 ...

НРП – нейро-ретикулярный пояс

ОСТ – оптическая когерентная томография

ОШ – отношение шансов

ПОУГ – первичная открытоугольная глаукома

СНВС – слой нервных волокон сетчатки

ФНО- α – фактор некроза опухолей-альфа

ЭДТА – этилендиаминтетрауксусная кислота

AUC – area under the ROC curve – площадь под кривой

SNP – single nucleotide polymorphism – одиночные единичные замены